

# **ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO (AIDA)**

## **42 JORNADAS DE ESTUDIO**

### **XV JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL**

14 y 15 de mayo de 2013

Zaragoza

**TOMO I**

COLABORAN:

Gobierno de Aragón

Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Regional

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA)

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria (INIA)

Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (IAMZ)

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)



[www.aida-itea.org](http://www.aida-itea.org)

**Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario**

**Título:** XV Jornadas sobre Producción Animal

**Edita:** Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

**Textos:** Autores

**Colección:** Congresos y Jornadas

**Serie:** Producción Animal

**Editores:**

Jorge Hugo Calvo Lacosta

Isabel Casasús Pueyo

Margalida Joy Torrens

Javier Álvarez Rodríguez

Luis Varona Aguado

Begoña Panea Doblao

Carlos Calvete Margolles

Joaquim Balcells Teres

**Secretario administrativo:** Joaquín Moreno Miguel

**Foto portada:** Isabel Casasús Pueyo

XV Jornadas sobre Producción Animal Tomo I	<b>DIRECCIÓN Y REDACCIÓN</b> Montañana, 930 - Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)	ISBN Tomo I: 978-84-695-7684-7 Depósito legal: Z-865-2013 Imprime: INO Reproducciones, S.A.
--	--	---

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

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

COLABORADORES:



Fondo Europeo  
Agrícola de  
Desarrollo Rural



PATROCINADORES:





## PRÓLOGO

Una vez más, sed bienvenidos a las Jornadas sobre Producción animal organizadas bianualmente por AIDA. Esperamos y deseamos que vuestra estancia en Zaragoza sea fructífera y provechosa.

Este año, tendremos la oportunidad de presentar los últimos resultados de la investigación en producción animal, así como discutir proyectos actuales, y encontrar sinergias para poder colaborar en proyectos futuros. Se promueve en la actualidad la colaboración entre empresas, centros de investigación, parques científicos, universidades, fundaciones en el campo de la I+D, etc., para conseguir investigar e innovar más y mejor, contribuyendo así al desarrollo económico y social. En este sentido, la Unión Europea, dentro del programa Horizonte 2020, otorga un papel central a las Pequeñas y Medianas Empresas (PYME), las cuáles forman la mayor parte del tejido empresarial agroalimentario, siendo necesario un mayor esfuerzo por parte de las empresas en la I+D+i, así como de los científicos en acomodar sus investigaciones a las necesidades del sector agroalimentario.

A pesar de la coyuntura económica y el recorte de los fondos destinados a la investigación, se han presentado 287 comunicaciones en esta edición, suponiendo un ligero incremento con respecto a las ediciones anteriores. Además, este año se ha integrado en el programa de las Jornadas una nueva sección: Microbiología digestiva. Muchos de los trabajos presentados en esta edición son multidisciplinares, abordando diversos aspectos de la producción animal, de forma que ha resultado difícil encajarlos en una sección. La resolución de los problemas actuales de la producción animal exigen enfoques multidisciplinares e integrales que abarquen desde el animal hasta el producto.

Queremos agradecer la contribución de todos los participantes de las presentes Jornadas, así como de ediciones anteriores, responsables sin duda del éxito de las mismas. Agradecemos también la colaboración de cuantas personas han hecho posible que estas XV Jornadas se celebren, en especial a los coordinadores de sección, evaluadores, moderadores, Junta de AIDA y demás compañeros que han realizado un trabajo magnífico durante los últimos meses; a Luis Silió, por su amabilidad al aceptar nuestra invitación para impartir la conferencia inaugural; a Joaquín Uriarte por su dedicación a AIDA durante tantos años, y a todas aquellas instituciones y organismos que han colaborado en la organización y financiación.

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

JORGE HUGO CALVO LACOSTA  
Secretario de las XV Jornadas sobre Producción Animal

## XV JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL, AIDA 2013

**Martes, 14 de mayo de 2013**

**Mañana:**

	Sistemas - Economía	Nutrición - Alimentación	Reproducción	Genética	Calidad Productos	Patología	Microbiología Digestiva
Lugar	Seminario A1	Aula D	Aula A	Salón de actos	Aula C	Sala de reuniones	Sala de reuniones
8:30 - 9:00	<b>ENTREGA DE DOCUMENTACIÓN</b>						
9:00 - 10:30	Vacuno de Leche (5c) Mod. D. Villalba	Porcino I (5c) Mod. J. F. Pérez		Mejora Genética de Ruminantes (4c) Mod. J. Piedraflita	Vacuno. Efecto de la dieta (6c) Mod. T. Juan		
10:30 - 11:00	<b>Café</b>						
11:00 - 12:15	<b>CONFERENCIA INAUGURAL</b> "Una experiencia irrepetible: la perra de cerdos ibéricos de 'El Dehesón del Encinar' (1944-2012)". Ponente: Luis Silió (Salón de Actos)						
12:15 - 14:30	Bienestar (7c) Mod. G. María	Porcino II (9c) Mod. L. Rosil	Fisiología y resultados reproductivos I y II (14 c) Mod. J. A. Abecia y E. de Mercado	Mejora Genética de Conejos (9c) Mod. M. Piles	Técnicas analíticas (8c) Mod. J.L. Olleta		Microbiología Digestiva I y II (10 c) Mod. M. Fondevila y J. Balcells
14:30 - 15:30	<b>Comida</b>						

## Martes, 14 de mayo de 2013

Tarde:

	Sistemas - Economía	Nutrición - Alimentación	Reproducción	Genética	Calidad Productos	Patología	Microbiología Digestiva
Lugar	Seminario A1	Aula D	Aula A	Salón de actos	Aula C	Sala de reuniones	Sala de reuniones
15:30 - 16:30	Vacuno de Carne (3c) Mod. R. Revilla	Póster (8c)	Gametos, fecundación y embriones I(6c) Mod. F. Martínez-Pastor	Selección Genómica (4c) Mod. A. Legarra	Miscelánea (4c) Mod. G. Ripoll		Microbiología Digestiva III (4c) Mod. L. Abecia
16:30 - 17:00	<b>Pausa</b>						
17:00 - 18:00	Miscelánea (6c) Mod. R. Ripoll	Conejos (4c) Mod. P. García-Rebollar	Gametos, fecundación y embriones II (5c) Mod. F. Martínez-Pastor	Metodología y Póster (11c) Mod. M. A. Toro	Ovino. Efecto de la dieta (8c) Mod. E. Serrano		Microbiología Digestiva IV (3 c) Mod. A. Belenguer
18:00 - 19:00		Ovino (5c) Mod. M. Joy	Reunión preparatoria Foro de reproducción animal. Mod. J. Folch				
19:00	<b>Vino AIDA</b>						

## Miércoles, 15 de mayo de 2013

### Mañana:

	Sistemas - Economía	Nutrición - Alimentación	Reproducción	Genética	Calidad Productos	Patología	Microbiología Digestiva
Lugar	Seminario A1	Aula D	Aula A	Salón de actos	Aula C	Sala de reuniones	Sala de reuniones
9:00 - 10:30	Identificación animal (6c) Mod. P. Lavín	Aves (6c) Mod. B. Villa	Semen Ruminantes I (6c) Mod. A. Sanz	Estudios de Asociación (4c) Mod. J.J. Arranz	Tecnología (6c) Mod. M. Devant	Enfermedades víricas y priónicas (4c) Mod. C. Calvete	
10:30 -11:00	<b>Café</b>						
11:00 -12:00	Ganadería y Medio (4c) Mod. N. Mandaluniz	Valoración Nutritiva I (4c) Mod. L. Abecia	Semen Ruminantes II (6c) Mod. P. Coy	Estudios de Asociación (4c) Mod. J.J. Arranz	Productos (10c) Mod. N. Aldai	Enfermedades parasitarias (11c) Mod. J. Uriarte	
12:00 -14:30	Socioeconomía (5c) Mod. A. Olaizola	Valoración Nutritiva II (9c) Mod. F. Vicente	Semen otras especies (6c) Mod. B. Serrano	Expresión Génica (8c) Mod. A. Fernández	Vacuno de carne: propuestas de colaboración entre grupos de investigación (13:30-14:30)		
14:30 -15:30	<b>Comida</b>						



## Miércoles, 15 de mayo de 2013

Tarde:

	Sistemas - Economía	Nutrición - Alimentación	Reproducción	Genética	Calidad Productos	Patología	Microbiología Digestiva
Lugar	Seminario A1	Aula D	Aula A	Salón de actos	Aula C	Sala de reuniones	Sala de reuniones
15:30 - 16:30		Producción de Gas (4c) Mod. M. Fondevila		Mejore Genética en Porcino (3c) Mod. J. Estany	Vacuno. Efecto del manejo/raza (4c) Mod. P. Alberti	Enfermedades bacterianas y otras patologías I (3c) Mod. P. Muñoz	
16:30 - 17:00	<b>Pausa</b>						
17:00 - 18:00		Vacuno (8c) Mod. J. Balcells		Diversidad Genética y Conservación (8c) Mod. J. P. Gutierrez	Ovino/caprino. Efecto del manejo/raza (5c) Mod. O. Estrada	Enfermedades bacterianas y otras patologías II (6c) Mod. P. Muñoz	
18:00 - 19:00							
19:00	<b>Asamblea AIDA</b>						

## Acceso al IAMZ y al Campus de Aula Dei desde:

### LOGROÑO

- Desde la A-68 tomar la A-2 dirección Lérida (Lleida)-Barcelona
- En la A-2 tomar la Salida 326 y al llegar a la bifurcación tomar la A-123 Montañana

### MADRID

- Tomar la A-2 dirección Barcelona
- En la A-2 tomar la Salida 326 y al llegar a la bifurcación tomar la A-123 Montañana

### VALENCIA

- En la A-23 tomar la Salida 276 A2 dirección Barcelona
- Seguir por la Z-40 hasta llegar a la Salida 15 Movera-Santa Isabel
- En Santa Isabel tomar la A-123 Montañana

### CASTELLÓN

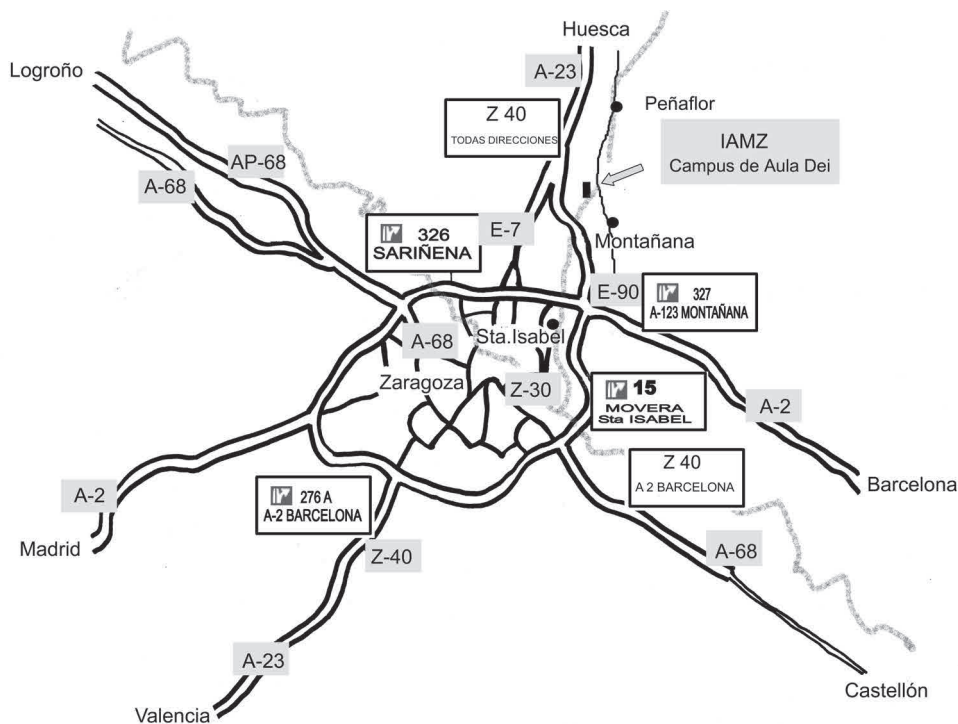
- En la A-68, tomar la dirección A-2 dirección Barcelona
- Seguir por la Z-40 hasta llegar a la Salida 15 Movera-Santa Isabel
- En Santa Isabel tomar la A-123 Montañana

### BARCELONA

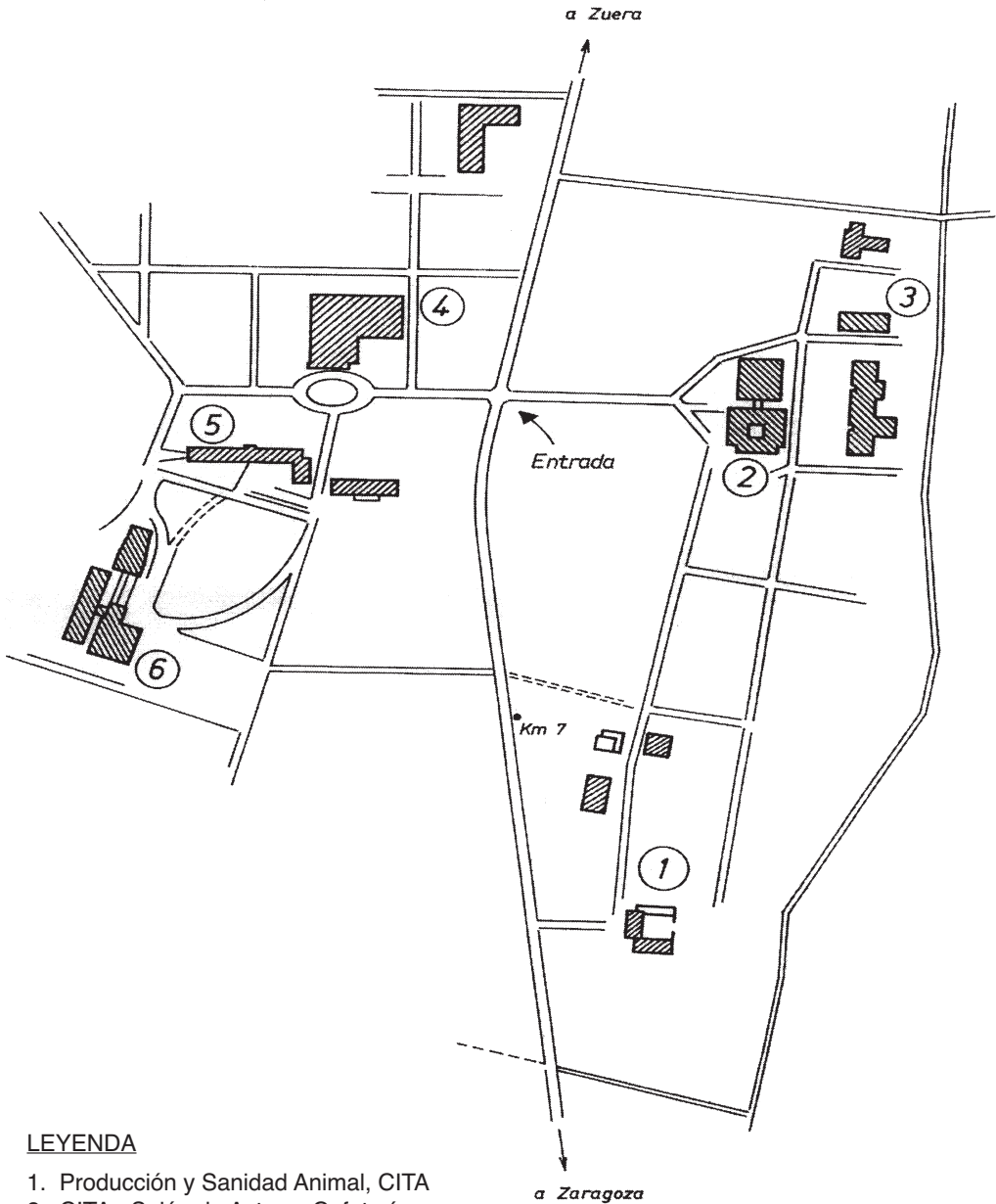
- En la A-2 tomar la Salida 327 y seguir la indicación de la A-123 Montañana

### HUESCA

- Desde la A-23 seguir dirección Z-40 todas direcciones.
- Al llegar al túnel tomar la Salida 15 Movera-Santa Isabel
- En Santa Isabel tomar la A-123 Montañana



## 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.



## ÍNDICE

### TOMO I

#### PONENCIA INAUGURAL

- “Una experiencia irreplicable: la piara de cerdos Ibéricos de ‘El Dehesón del Encinar’ (1944-2012)”**. Ponente: Luis Silió (Coautor: J. Rodríguez). . . . . 3

#### SISTEMAS GANADEROS-ECONOMÍA Y GESTIÓN

##### **Sistemas:** Vacuno de leche

- FRECUENCIA DIARIA DE ORDEÑO EN VACAS PRIMÍPARAS CON DIFERENTES NIVELES DE PRODUCCIÓN EN UN SISTEMA DE ORDEÑO VOLUNTARIO. Almeida, J.C., Cerqueira, J.O.L., Lopes, S., Silvestre, M., Araújo, J.P., Silva, S.R. . . . . 19
- RELACIÓN ENTRE MEDIDAS BIOMÉTRICAS Y PESO VIVO EN VACAS LECHE-  
RAS DE RAZA FRISONA. Araújo, J.P., Cerqueira, J.O.L., Mendes, C., Penedo, I.,  
Iglesias, A., Cadavez, V. . . . . 22
- ANÁLISIS DE IMAGEN A DISTANCIA PARA LA DETERMINACIÓN DE MEDIDAS  
BIOMÉTRICAS EN VACUNO. Silva, S.R., Cerqueira, J.O.L., Silvestre, M., Guedes,  
C., Santos, V., Silva, A., Almeida, J.C., Araújo, J.P. . . . . 25
- MEJORA EN LA RENTABILIDAD DE LA PRODUCCIÓN LECHE-  
RA A PARTIR DEL USO DE ENSILADO DE MAÍZ CULTIVADO CON FERTILIZACIÓN ORGÁNICA.  
Próspero, F., Martínez-Fernández, A., Pérez, J. A., Arriaga-Jordán, C. M., Vicente, F. 28
- DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO DE UNA EXPLOTACIÓN LECHE-  
RA PARA LA DOCENCIA DE PRODUCCIÓN DE BOVINO LECHE-  
RO. Calsamiglia, S., Espinosa, G., Castillejos, L., Vera, G., Ferret, A. . . . . 31

##### **Sistemas:** Bienestar

- ¿LA CALOSTRACIÓN MANUAL Y LA REALIZACIÓN DE ADOPCIONES PUEDEN  
AYUDAR A MEJORAR LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE LOS LECHO-  
NES EN LA MATERNIDAD?. Muns, R., Silva, C., Manteca, X., Gasa, J. . . . . 34
- DETERMINACIÓN DE LA DOCILIDAD EN GANADO PIRENAICO EN EXPLO-  
TACIONES COMERCIALES. Blasco, I. Ferrer, J., Palacio, J. . . . . 37
- ESTUDIO DE INDICADORES FISIOLÓGICOS COMO PREDICTORES DE ESTRÉS  
TÉRMICO DE VACAS LECHE-  
RAS EN NORTE DE PORTUGAL. Cerqueira, J.O.L.,  
Araújo, J.P., Blanco-Penedo, I., Cantalapiedra, J., Silvestre, M., Silva, S.R. . . . . 40
- ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS EQUIPAMIENTOS CON  
INFLUENCIA EN EL BIENESTAR ANIMAL EN GRANJAS DE VACAS LECHE-  
RAS. Cerqueira, J.O.L., Paço, S.M., Blanco-Penedo, I., Cantalapiedra J., Cadavez, V.,  
Araújo, J.P. . . . . 43
- EFECTO DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL SOBRE EL BIENESTAR, LA PRO-  
DUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDEROS DE CEBADEROS:  
RAMPAS DE ALIMENTACIÓN. Aguayo-Ulloa, L.A., Miranda-de la Lama, G.C., Pas-  
cual-Alonso, M., Olleta, J.L., Villarroel, M., María, G.A. . . . . 46

- EFECTO DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL SOBRE EL BIENESTAR, LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDEROS DE CEBADEROS: EL DOBLE PISO. Aguayo-Ulloa, L.A., Miranda-de la Lama, G.C., Pascual-Alonso, M., Olleta, J.L., Villarroel, M., María, G.A. ....	49
- EFECTO DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL SOBRE EL BIENESTAR, LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDEROS DE CEBADEROS: DIVISIÓN VIRTUAL CON ALEROS. Aguayo-Ulloa, L.A., Miranda-de la Lama, G.C., Pascual-Alonso, M., Olleta, J.L., Villarroel, M., María, G.A. ....	52
<b>Sistemas: Vacuno de carne</b>	
- GENERACIÓN AUTOMÁTICA DE ESTADÍSTICAS ZOOTÉCNICAS BOVINAS A ESCALA MUNICIPAL A PARTIR DE BASES DE DATOS OFICIALES. Moros, R., Busqué, J. ....	55
- CARACTERIZACIÓN DE LA ALIMENTACIÓN INVERNAL EN SISTEMAS DE VACUNO EXTENSIVO EN LOS PICOS DE EUROPA. Busqué, J., Serrano, E., Rodríguez, J.R. ....	58
- COMPARACIÓN DE DOS DIETAS EN TERNEROS DE ENGORDE: DIETA CONVENCIONAL (PIENSO Y PAJA) VS. <i>UNIFEED</i> . Cortés, X., Mora, J., Oliva, P., Morazán, H., Seradj, A.R, Balcells, J., Villalba, D. ....	61
<b>Sistemas: Miscelánea</b>	
- MODELIZACIÓN DEL BENEFICIO DE PRODUCCIÓN EN CUNICULTURA. Cartuche, L., Pascual, M., Gómez, E.A., Blasco, A. ....	64
- CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CALIDAD DEL POLLO. Cerqueira, J.O.L., Barbosa, S.F., Blanco-Penedo, I., Cantalapie-dra, J., Araújo, J.P. ....	67
- COMPORTAMIENTO DEL GANADO EN MANEJO SILVOPASTORAL. Mangado, J.M., Vergara, I., Asiain, J., Villanueva, M. ....	70
- CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE EXPLOTACIONES CAPRINAS APURIMEÑAS PERUANAS. Gómez, N.C., Bustinza, R.H., Ferrando, A., Jordana, J., Milán M.J. ....	73
- INFLUENCIA DE DIVERSOS FACTORES SOBRE EL CRECIMIENTO DE CORDE-ROS DE RAZA ALCARREÑA. Palacios, C., Álvarez, S, Colmenar, L., Abecia, J.A. .	76
- CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO DE CABRITOS MURCIANO GRANADI-NOS PUROS Y PROCEDENTES DEL CRUCE CON SEMENTALES ESPECIALIZA-DOS CÁRNICOS DE LA RAZA BOER. PRIMEROS RESULTADOS. Pérez-Baena, I., Dorantes, J.A., Sánchez-Quinche, A., Gutiérrez, A., Fernández, N., Rodríguez, M., Gómez, E.A., Peris, C. ....	79
<b>Sistemas: Identificación animal</b>	
- IDENTIFICACIÓN DE DROMEDARIOS MEDIANTE MARCAS AL FUEGO, CROTA-LES PLÁSTICOS Y BOLOS ELECTRÓNICOS. Caja, G., Díaz-Medina, E., Cabrera, S., Amann, O., Salama, O.H., El-Shafei, M.H., El-Sayed, H., Salama, A.A.K., Aljuma-ah, R.S., Ayadi, M., Alshaiikh, M.A. ....	82
- IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE TRAZABILIDAD PARA LA CADENA PORCINA BASADO EN CROTALES ELECTRÓNICOS Y MARCADORES MOLE-CULARES. Grassi, P., Caja, G., Mocket, J.H., Costa, A., Soler, J., Gispert, M., Tibau, J., Rojas-Olivares, M.A., Sánchez, A. ....	85
- CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS Y RESULTADOS DE LECTURA DE DISTINTOS TIPOS DE CROTALES ELECTRÓNICOS UTILIZADOS EN IDENTIFICACIÓN	

ANIMAL. Grassi, P., Caja, G., Mocket, J.H., Xuriguera, H., González-Martín, S., Soler, J., Gispert, M., Tibau, J. . . . .	88
- EFICACIA DE LECTURA DINÁMICA DE TRANSPONEDORES DE DISTINTAS TECNOLOGÍAS EN GANADO OVINO EN CONDICIONES DE GRANJA. Ait-Saidi, A., Caja, G., Mocket, J.H. . . . .	91
- EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA UTILIZACIÓN DE LA IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA PARA EL CONTROL DE PRODUCCIONES EN GANADO OVINO. Ait-Saidi, A., Caja, G., Milán, M.J., Flores, C., Salama, A.A.K. . . . .	94
- COSTOS Y RENTABILIDAD DE LA INVERSIÓN EN TRAZABILIDAD BOVINA EN UN SISTEMA DE CICLO COMPLETO DE PRODUCCIÓN EN EL ESTADO DEL RIO GRANDE DO SUL, BRASIL. Nicoloso, C.S, Silveira, V.C.P., Rosa, J.S., Ferraz, C.M., Vargas, A.F.C. . . . .	97

**Sistemas: Ganadería y Medio**

- NIVELES DE AMONIACO Y CARACTERÍSTICAS DEL PURÍN EN UN CEBADERO PORCINO EN EL VALLE DEL EBRO. INFLUENCIA DE LA ORIENTACIÓN Y DE LA EXPOSICIÓN A LOS VIENTOS DOMINANTES. Alvarez-Rodríguez, J., Guillén, R., Babot, D., Forcada, F. . . . .	100
- INFLUENCIA DE LA ÉPOCA DEL AÑO Y DE LA FASE PRODUCTIVA SOBRE EL VOLUMEN Y COMPOSICIÓN DE LOS PURINES DE CERDOS DE ENGORDE. Babot, D., Flores, J., Coma, J., Balcells, J., Soldevila, C., Alvarez-Rodríguez, J. . . .	103
- EFECTOS DEL NIVEL DE PROTEÍNA Y FIBRA DE LA RACIÓN SOBRE LA EMISIÓN DE GASES (NH <sub>3</sub> , N <sub>2</sub> O Y CH <sub>4</sub> ) EN CERDAS LACTANTES. Medina, I., Álvarez-Rodríguez, J., Seradj, A.R., Morazán, H., Balcells J., Babot, D. . . . .	106
- CUANTIFICACIÓN DE LA EMISIÓN DE CH <sub>4</sub> , N <sub>2</sub> O Y NH <sub>3</sub> EN GANADO PORCINO DE CEBO: EFECTO DEL NIVEL DE DE PROTEÍNA Y FIBRA DE LA RACIÓN. Morazán, H., Seradj, A.R., Contreras, D., Medina, I., Álvarez-Rodríguez, J., Babot, D., Balcells, J. . . . .	109

**Sistemas: Socioeconomía**

- LA GANADERÍA EN EL ENTORNO DE UNA ESTACIÓN DE ESQUÍ DEL PIRINEO. 1. DIAGNÓSTICO DE SITUACIÓN. Casasús, I., Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A. . . . .	112
- LA GANADERÍA EN EL ENTORNO DE UNA ESTACIÓN DE ESQUÍ DEL PIRINEO. 2. DINÁMICA DE LA EXPLOTACIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO ANTE DISTINTOS ESCENARIOS SOCIOECONÓMICOS. Casasús, I., Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A. . . . .	115
- LA GANADERÍA EN EL ENTORNO DE UNA ESTACIÓN DE ESQUÍ DEL PIRINEO. 3. OBJETIVOS Y OPINIONES DE LOS GANADEROS. Casasús, I., Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A. . . . .	118
- PERCEPCIONES DE GANADEROS Y CIUDADANOS SOBRE LAS RELACIONES ENTRE LA GANADERÍA DE MONTAÑA Y EL MEDIO AMBIENTE: UN ESTUDIO CUALITATIVO. Rodríguez-Ortega, T., Ripoll-Bosch, R., Casasús, I., Bernués, A. . . .	121
- OPINIONES SOBRE LA PROFESIÓN Y LAS ACTIVIDADES OVINAS DE GANADEROS QUE UTILIZAN UN PARQUE NATURAL. Zamudio, A., Manrique, E., Olaizola, A.M. . . . .	124

## NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN

### Nutrición y alimentación: Porcino I

- NECESIDADES DE LISINA EN LA FASE DE CRECIMIENTO DE CERDOS BLANCOS GRASOS. Suárez-Belloch, J., Latorre, M.A., Ferrando, J., Martínez, D., Guada, J.A. . . . . . 129
- EFECTO DE LA RESTRICCIÓN DE VITAMINA A SOBRE EL METABOLISMO DE ÁCIDOS GRASOS EN MÚSCULO Y GRASA DE CERDOS IBÉRICOS. Ayuso, M., Isabel, B., Rey, A.I., Fernández, A., Segura, J., Daza, A., Óvilo, C., López-Bote, C.J. 132
- EMPLEO DE GUISANTE (*Pisum sativum*) Y ALBERJÓN (*Vicia narbonensis*) COMO FUENTES PROTEICAS EN DIETAS PARA CERDOS GRASOS. RENDIMIENTO PRODUCTIVO. Gómez-Fernández, J., De Mercado, E., Muzquiz, M., Guillamón, E., Varela, A., Tomás, C., López-Nuez, P., Gómez-Izquierdo, E. . . . . . 135
- LA "MAYONESA" UN NUEVO INGREDIENTE EN ALIMENTACION LÍQUIDA DE PORCINO DE ENGORDE. Sol, C., Castillejos, L., Gasa, J. . . . . . 138
- UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS DE CEREALES EN LA DIETA DE CERDOS DE CEBO: RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y DIGESTIBILIDAD. Moset, V., Ferrer, P., Torres-Pitarch, A., Bonet, J., Coma, J., Martínez, M., Villagrà, A., Gómez, E., Cerisuelo, A. . . . . . 141

### Nutrición y alimentación: Porcino II

- EFECTOS DE LA BETAÍNA Y EL CLA SOBRE EL FLUJO SANGUÍNEO PORTAL DE CERDOS IBÉRICOS EN CRECIMIENTO. Rojas-Cano, M.L., Lachica, M., Lara, L., Haro, A., Fernández-Fígares, I. . . . . . 144
- NIVELES DE ZINC EN LA LECHE DE LA CERDA SEGÚN EL NÚMERO DE PARTO. Davin, R., Manzanilla, E.G., Pérez, J.F. . . . . . 147
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE UN AROMA COMERCIAL EN LA DIETA DE LAS CERDAS Y DE SUS LECHONES. Blavi, L., Franco, R., Mesas, L., Mallo, J.J., Solà-Oriol, D., Pérez, J.F. . . . . . 150
- ESTIMACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA ENERGÍA DEL ALPERUJO PARCIALMENTE DESHUESADO PARA CERDOS EN CRECIMIENTO. Joven, M., Pintos, M.E., Suarez, J., Latorre, M.A., Guada, J.A., Fondevila, M. . . . . . 153
- INFLUENCIA DEL EXTRUSIONADO DE CEREALES SOBRE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL DE NUTRIENTES EN LECHONES. Rodrigues, E.A., Lizardo, R., Francesch, M., Torrallardona, D. . . . . . 156
- INFLUENCIA DE LA INCLUSIÓN DE DIFERENTES FUENTES Y NIVELES DE FIBRA BAJO CONDICIONES SANITARIAS DIFERENTES SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS EN LECHONES RECIÉN DESTETADOS. Berrocoso, J. D., Guzmán, P., Saldaña, B., Cámara, L., Mateos, G. G. . . . . . 159
- GLP-2 ENDÓGENO COMO DIANA PARA PREVENIR LOS DESÓRDENES ASOCIADOS AL DESTETE TEMPRANO EN LECHONES. de Diego, N., Menoyo D., Ipharraguerre, I. R. . . . . . 162
- ¿TIENEN LOS LECHONES ALIMENTADOS CON UNA RACIÓN BAJA EN PROTEÍNA HABILIDAD PARA SELECCIONAR Y PREFERIR FUENTES PROTEICAS?. Guzmán-Pino, S. A., Solà-Oriol, D., Figueroa, J., Pérez, J. F. . . . . . 165
- INCLUSIÓN DE UN PREBIÓTICO (*Saccharomyces cerevisiae*) Y UN PROBIÓTICO (*Pediococcus acidilactici*) EN DIETAS PARA LECHONES DESTETADOS PRECOZMENTE. EFECTO ZOOTÉCNICO. De Mercado, E., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E., Gómez-Fernández, J. . . . . . 168



### **Nutrición y alimentación: Pósters**

- EVOLUCIÓN DEL CRECIMIENTO, CALIDAD DE LA CANAL Y DE PIEZAS NOBLES EN CERDOS GRASOS ALIMENTADOS CON GUISANTE (*Pisum sativum*) Y ALBERJÓN (*Vicia narbonensis*) COMO FUENTE PROTEICA. De Mercado, E., Gómez-Fernández, J., Muzquiz, M., Guillamón, E., Varela, A., Tomás, C., López-Nuez, P., Gómez-Izquierdo, E. . . . . 171
- EFECTOS DE LA BETAÍNA Y EL CLA SOBRE EL METABOLISMO HEPÁTICO EN CULTIVOS PRIMARIOS DE HEPATOCITOS PORCINOS. Rojas Cano, M.L., Lachica, M., Fernández-Figares, I. . . . . 174
- INFLUENCIA DE LA FUENTE Y EL NIVEL DE GLICERINA CRUDA EN EL PIENSO SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN POLLOS DE 1 A 21 DÍAS DE EDAD. Mandalawi, H. A., Kimiaetalab, M. V., Obregon, V., Menoyo, D., Mateos, G. G. . . . . 177
- EFECTO DEL CRUCE Y DE LA DOSIS DE ACABADO EN EL CRECIMIENTO DE POTROS SACRIFICADOS A 18 MESES. Crecente, S., Franco, D., Lorenzo, J.M. . . . . 180
- EFECTO DE LA INCORPORACION DE ACEITES ESENCIALES DE ROMERO SOBRE LA PRODUCCION DE LECHE DE CABRA Y EL CRECIMIENTO DE LOS CABRITOS. Smeti, S., Hajji, H., Atti, N., Muñoz, F., Mahouachi, M. . . . . 183
- UTILIZACIÓN DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS PARA MEJORAR LA DIGESTIÓN DE FORRAJES TROPICALES. II. EFECTOS EN LA FERMENTACIÓN RUMINAL IN VITRO Y LA DEGRADABILIDAD. Díaz, A., Ranilla, M.J., Saro, C., Giraldo, L.A., Carro, M.D. . . . . 186
- COMPOSICIÓN DE LAS HECES Y RENDIMIENTO DE METANO EN CERDOS DE ACABADO ALIMENTADOS CON SUBPRODUCTOS DE CEREALES. Moset, V., Ferrer, P., Cambra-López, M., Adell, E., Borrás, M., Cerisuelo, A. . . . . 189
- CONTROL DE CALIDAD “*IN-SITU*” EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN EN PLANTAS DE RECICLADO DE SUBPRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL, MEDIANTE EL USO DE UN EQUIPO NIRS PORTÁTIL. Vega, S., Pérez-Marín, D., Guerrero Ginel, J. E., Burón, T., Garrido-Varo, A. . . . . 192

### **Nutrición y alimentación: Conejos**

- DIGESTIBILIDAD Y RESPUESTA OVÁRICA DE CONEJAS REPRODUCTORAS ALIMENTADAS CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS n-3. Pascual, J.I., Rebollar, P.G., Aguado, E., Ausín, L., Millán, P., de la Riba, S., García-García, R.M., Arias-Álvarez, M., Lorenzo, P.L., García-Rebollar, P. . . . . 195
- INTERFERENCIA DE LAS MUCINAS INTESTINALES EN LA DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL DE LA DIGESTA EN CONEJOS. Abad-Guamán, R., Romero, C., Carabaño, R., García, J. . . . . 198
- EFECTO DEL TIPO DE MUESTRA ILEAL UTILIZADA (INDIVIDUAL vs MEZCLA ÚNICA) Y DEL TIPO DE FIBRA SOBRE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL EN CONEJOS. Abad-Guamán, R., Carabaño, R., Gomez-Conde, M.S., García, J. . . . . 201
- EFECTO DEL NIVEL DE SUPLEMENTACIÓN DE ENZIMAS SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE CONEJOS EN CRECIMIENTO. Crespo, R., Alfonso, C., Marco, M., Nicodemus, N. . . . . 204

### **Nutrición y alimentación: Ovino**

- VARIACIÓN DE LA RESPUESTA A LA AVERSIÓN CONDICIONADA EN GANADO OVINO SEGÚN LA RAZA. Manuelian, C.L., Albanell, E., Rovai, M., Salama, A.A.K., Caja, G. . . . . 207

- REGULACIÓN NUTRICIONAL DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES IMPLICADOS EN LA LIPOGÉNESIS EN OVEJAS ALIMENTADAS CON ACEITE DE GIRASOL. 1. TEJIDO SECRETOR MAMARIO. Toral, P. G., Castro-Carrera, T., Bernard, L., Hervás, G., Leroux, C., Chilliard, Y., Fernández, M., Belenguer, A., Frutos, P. . . . . 210
- REGULACIÓN NUTRICIONAL DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES IMPLICADOS EN LA LIPOGÉNESIS EN OVEJAS ALIMENTADAS CON ACEITE DE GIRASOL. 2. TEJIDOS ADIPOSOS SUBCUTÁNEO Y PERIRRENAL. Toral, P. G., Castro-Carrera, T., Leroux, C., Hervás, G., Bernard, L., Chilliard, Y., Fernández, M., Belenguer, A., Frutos, P. . . . . 213
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE OLEÍNA DE GIRASOL EN LA DIETA DE EN CORDEROS EN FASE DE CRECIMIENTO-CEBO SOBRE LA INGESTIÓN, LA DIGESTIBILIDAD Y EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO. Blanco, C., Bodas, R., Morán, L., Prieto, N., Andrés, S., López, S., Giráldez, F.J. . . . . 216
- EFECTO DEL TIEMPO DE SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA E O PASTOREO CON ALFALFA EN EL CONTENIDO DE ALPHA-TOCOFEROL EN PLASMA Y CARNE Y EN LA OXIDACIÓN LIPÍDICA EN CORDEROS LIGEROS. González-Calvo, L., Ripoll, G., Molino, F., Calvo, J. H., Blanco, M., Joy, M. . . . . 219

**Nutrición y alimentación: Aves**

- EFECTO DE LA FUENTE Y EL NIVEL DE FIBRA EN PIENSO DE POLLITAS DURANTE LA FASE DE RECRÍA SOBRE LA PRODUCTIVIDAD EN PUESTA. Bouali, O., Pérez Bonilla, A., Guzmán, P., Mandalawi, H. A., Mateos, G. G. . . . . 222
- INFLUENCIA DE LA INCLUSIÓN DE FIBRA EN EL PIENSO SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE POLLITAS RUBIAS DE 1 A 35 DÍAS DE EDAD. Guzmán, P., Saldaña, B., Sidrach, S., Kimiaetailab, M. V., Pérez-Bonilla, A., García, J., Mateos G. G. . . . . 225
- INFLUENCIA DE LA PRESENTACIÓN Y DEL NIVEL DE ENERGÍA DEL PIENSO SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS EN POLLITAS DE 1 A 35 DÍAS DE EDAD. Saldaña, B., Guzmán, P., Pérez-Bonilla, A., Mandalawi, H. A., Harzalli, R., Mateos, G. G. . . . . 228
- EFECTO DEL CEREAL BASE Y DEL PROGRAMA DE ALIMENTACIÓN SOBRE LOS PARAMETROS PRODUCTIVOS EN POLLITAS DE 1 A 17 SEMANAS DE EDAD. Harzalli, R., Saldaña, B., Guzmán, P., Pérez-Bonilla, A., García, J., Mateos, G. G. . . . . 231
- INFLUENCIA DEL CEREAL Y EL NIVEL DE INCLUSIÓN DE FIBRA EN EL PIENSO SOBRE LA PRODUCTIVIDAD EN POLLITAS DE 0 A 17 SEMANAS DE EDAD. Sidrach de Cardona, S., Guzmán, P., Saldaña, B., Kimiaetailab, M. V., Pérez-Bonilla, A., García, J., Mateos, G. G. . . . . 234
- EFECTO DE LA EDAD Y EL NIVEL DE VITAMINA E EN DIETAS DE POLLOS BROILER SOBRE LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE. Menoyo, D., Naranjo, N., Rey, A., Frikha, M., López-Bote, C.J., Mateos, G.G. . . . . 237

**Nutrición y alimentación: Valoración Nutritiva I**

- ESTUDIO DEL VALOR NUTRITIVO DE LA HOJA DE PAULOWNIA COMO RECURSO FORRAJERO. Descals, P., Seradj, A. R., Villorbina, G., Balcells, J. . . . . 240
- DIFERENCIAS EN COMPOSICION QUÍMICA Y RELACIONES CON LA CALIDAD DE LA PROTEINA DE LAS HARINAS DE SOJA SEGÚN ORIGEN. García-Rebollar, P., Rodríguez, M., Berrocoso, J.D., Cámara, L., Lázaro, R., Mateos, G.G. . . . . 243

- CARACTERÍSTICAS DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL IN VITRO DE SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES CON POTENCIAL USO EN LA ALIMENTACIÓN DE CAPRINO. Arco-Pérez, A., Ramos-Morales, E., Abecia, L., Yañez-Ruiz, D., Martín-García, A. I. . . . . 246
- EL ORUJO DE UVA EN LA ALIMENTACIÓN DEL GANADO OVINO: COMPOSICIÓN QUÍMICA, DEGRADACIÓN DE LA MATERIA SECA, PH Y N-NH3 RUMINAL. Guerra-Rivas, C., Gallardo, B., Lavín, P., Mantecón A.R., Manso, T. . . . . 249

**Nutrición y alimentación:** Valoración Nutritiva II

- ESTRATEGIAS PARA MODIFICAR LA BIOHIDROGENACIÓN RUMINAL DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN DIETAS RICAS EN OMEGA-3. Siurana, A., Ferret, A., Bravo, D., Calsamiglia, S. . . . . 252
- EFECTO DE LA INCLUSION DE COMPUESTOS ORGANOSULFURADOS EN LA DIETA SOBRE LA BIOHIDROGENACION RUMINAL DE ACIDOS GRASOS EN FERMENTADORES DE FLUJO CONTINUO. Ramos-Morales, E., Martínez, G., Abecia, L., Martín-García, A.I., Yañez-Ruiz, D.R., Molina-Alcaide, E. . . . . 255
- EFECTO DEL TIPO Y FORMA DE PRESENTACIÓN DEL CEREAL DEL CONCENTRADO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL EN TERNEROS EN CEBO INTENSIVO. Gimeno, A., Al-Alami, A., Fondevila, M., de Vega, A., Castrillo, C. . . . . 258
- CEBO DE TERNEROS CON UNIFEED O PIENSO Y PAJA: EFECTO SOBRE EL RENDIMIENTO Y EL AMBIENTE RUMINAL. Posado, R., Bodas, R., Tabernero de Paz, M.J., Bartolomé, D.J., Herraiz, P., García, J.J. . . . . 261
- EFECTO DEL TIPO DE RACIÓN SOBRE LOS NIVELES DE INGESTION, DIGESTIBILIDAD Y SINTESIS DE PROTEINA MICROBIANA EN TERNERAS SUJETAS A UN SISTEMA DE CEBO INTENSIVO. Mora, J., Oliva, P., Cortés, X., Morazán, H., Seradj, A.R, Villalba, D., Balcells, J. . . . . 264
- CARACTERIZACIÓN DE RACIONES PREPARTO DE OVINO LECHERO MANEJADO BAJO DISTINTOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN: RESULTADOS PRELIMINARES. Pineda-Quiroga, C., Mandaluniz, N., García-Rodríguez, A., Marijuán, S., Ruiz, R. . . . . 267
- UTILIZACIÓN DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS PARA MEJORAR LA DIGESTIÓN DE FORRAJES TROPICALES. I. INFLUENCIA DEL MÉTODO DE APLICACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE GAS IN VITRO Y LA COMPOSICIÓN QUÍMICA. Díaz, A., Raniella, M.J., Saro, C., Giraldo, L.A., Carro, M.D. . . . . 270
- EFECTO DEL AGUA ELECTROLIZADA SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL IN VITRO UTILIZANDO INÓCULO DE ANIMALES RECIBIENDO FORRAJE. Bodas, R., Bartolomé, D.J., Tabernero de Paz, M.J., Posado, R., Tejido, M.L., Martín-Diana, A.B., Rodríguez, L.A., Olmedo, S., García, J.J. . . . . 273
- ESTUDIO IN VITRO DEL POTENCIAL DE DESTRIOS DE INVERNADERO PARA REEMPLAZAR A LOS CEREALES EN LA DIETA DE CAPRINO Y PARA REDUCIR LA PRODUCCIÓN DE METANO. Romero-Huelva, M., Martín-García, A. I., Nogales, R., Molina-Alcaide, E. . . . . 276

**Nutrición y alimentación:** Producción de Gas

- UTILIZACIÓN DE TORTA DE COLZA OBTENIDA MEDIANTE Prensado EN FRÍO SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE LA DIETA DE TERNEROS DE CEBO INTENSIVO Y LA EMISIÓN DE METANO EN FERMENTADORES RUSITEC. Benhissi, H., García-Rodríguez, A., Beltrán de Heredia, I. . . . . 279
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACEITES Y OLEÍNAS VEGETALES SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO Y LA FERMENTACION RUMINAL IN VITRO. Tejido, M.L., Bodas, R., Blanco, C., Llorente, P., Giráldez, F.J. . . . . 282

- EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON TIOSULFINATO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE METANO EN CAPRINO. Martínez-Fernández, G., Abecia, L., Ramos-Morales, E., Martín-García, A.I., Molina-Alcaide, E., Yáñez-Ruiz, D. R. . . . . . 285
- PROYECTO EUROPEO FP7 SMethane: PLATAFORMA TECNOLÓGICA PARA EL DESARROLLO DE ADITIVOS NUTRICIONALES PARA REDUCIR LA PRODUCCIÓN DE METANO: ESFUERZO CONJUNTO ENTRE EMPRESA E INVESTIGACIÓN. Yáñez-Ruiz, D. R., Losa, R., Núñez, C., Tessier, N., Media, B., Shearer, A. de Campanere, S., Morgavi, D., Fievez, F., Newbold, C.J. . . . . . 288

**Nutrición y alimentación: Vacuno**

- EFECTO DE LA ASOCIACIÓN FORRAJERA HABA-COLZA COMO ALTERNATIVA AL RAIGRÁS ITALIANO EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS FRISONAS DURANTE EL PERÍODO DE TRANSICIÓN. Benaouda, M., Martínez Fernández, A., Soldado, A., Vicente, F. . . . . . 291
- EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON GRASA SOBREPASANTE SOBRE LA CONDICIÓN CORPORAL Y LA FERTILIDAD DE VACAS BRAHMAN. Jiménez, F., García, A., Quintero, A., Rojas, N. . . . . . 294
- EFECTO DEL ENSILADO DE MAÍZ CULTIVADO CON FERTILIZACIÓN ORGÁNICA EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE DE VACA. Próspero, F., Martínez-Fernández, A., Soldado, A., Arriaga Jordán, C. M., Vicente, F. . . . . . 297
- EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE TRIBUTIRINA EN EL LACTO-REEMPLAZANTE SOBRE EL METABOLISMO DE TERNEROS FRISONES. Araujo, G., Bach, A., Mereu, A., Ipharraguerre, I. . . . . . 300
- EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE PARTE DE LA PROTEÍNA DE LA DIETA POR UREA, Y DE PARTE DE LA DIETA POR ORUJO DE OLIVA, SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE TERNEROS EN CEBO INTENSIVO. Estaún, J., Dosil, J., Sánchez, W., Gimeno, A., de Vega, A. . . . . . 303
- EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE PARTE DE LA PROTEÍNA DE LA DIETA POR UREA, Y DE PARTE DE LA DIETA POR ORUJO DE OLIVA, SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL DE TERNEROS EN CEBO INTENSIVO. Estaún, J., Al Alami, A., Gimeno, A., Castrillo, C., de Vega, A. . . . . . 306
- EFECTO DEL CRIBADO EN SECO O EN HÚMEDO SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DE PIENSOS CONCENTRADOS PARA TERNEROS EN CEBO INTENSIVO. Al Alami, A., Gimeno, A., Castrillo, C., de Vega, A. . . . . . 309
- EFECTO DEL DISEÑO DE COMEDERO DE PIENSO SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS, LA CONDUCTA ANIMAL, EL BIENESTAR Y LA SALUD RUMINAL EN TERNEROS FRISONES CON DIETAS RICAS EN CONCENTRADO. Verdú, M., Bach, A., Devant, M. . . . . . 312

## REPRODUCCIÓN

**Reproducción: Fisiología y resultados reproductivos I**

- EVOLUCIÓN DEL PESO VIVO, EL ESPESOR DE GRASA PERIRRENAL Y LOS ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS DE LA CONEJA DURANTE SU VIDA REPRODUCTIVA. Peiró, R., García, M.L., Muelas, R., Argente, M.J. . . . . . 317

- EFECTO DE LA SUPEROVULACIÓN SOBRE LA SUPERVIVENCIA EMBRIONARIA Y FETAL EN CONEJAS MULTÍPARAS. Badawy, A.Y., Peiró, R., Santacreu, M.A. 320
- LA PRODUCCIÓN DE INTERFERÓN GAMMA (IFN- ) SE ASOCIA A UNA MENOR CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROTEÍNA ASOCIADA A LA GESTACIÓN-1 Y -2 (PAG-1 Y PAG-2) EN VACAS LECHERAS GESTANTES CRÓNICAMENTE INFECTADAS POR *NEOSPORA CANINUM*. Serrano-Pérez, B., García-Ispuerto, I., Nogareda, C., Almería, S., López-Gatius, F. . . . . 323
- EFECTO DE DIVERSOS FACTORES DE EXPLOTACIÓN SOBRE EL INTERVALO ENTRE PARTOS DE VACAS MORUCHAS Y MORUCHA x CHAROLÉS. Álvarez, S., Palacios, C . . . . . 326
- EFECTOS DEL NIVEL DE ALIMENTACIÓN DURANTE LA LACTACIÓN Y LA RECRÍA SOBRE EL CRECIMIENTO DE NOVILLAS DE RAZA PARDA DE MONTAÑA. Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A., Casasús, I. . . . . 329
- REPERCUSIÓN DEL RITMO DE CRECIMIENTO EN LACTACIÓN Y RECRÍA DE NOVILLAS SOBRE LA ENTRADA EN PUBERTAD Y LA FERTILIDAD. Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A., Casasús, I. . . . . 332
- RENDIMIENTOS DE VACAS PRIMÍPARAS CON PARTO A DOS AÑOS EN FUNCIÓN DE SU RITMO DE CRECIMIENTO EN LACTACIÓN Y RECRÍA. Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A., Casasús, I. . . . . 335

**Reproducción:** Fisiología y resultados reproductivos II

- EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE CUBRICIÓN DE LOS MORUECOS. Mozo, R., Rivas, E., Alabart, J.L., Folch, J. . . . . 338
- EFECTO DE LA DIETA Y DE LA MELATONINA EXOGENA SOBRE LA RESPUESTA HIPOFISARIA A LA GnRH DURANTE EL ANESTRO Y LA ESTACION REPRODUCTIVA EN OVEJAS RASA ARAGONESA. Abecia, J.A., Forcada, F., Vázquez, M.I., Palacín, I. . . . . 341
- EFECTO DE LA SUBNUTRICIÓN MATERNA PERICONCEPCIONAL SOBRE LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE OVEJAS Y LA CALIDAD OOCITARIA DE SUS CORDERAS. Abecia, J.A., Forcada, F., Contreras, I., Meikle, A., Sosa, C., Casao, A. . . . . 344
- ANTICIPACIÓN DE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA EN CABRAS SERRANAS. Correia, T., Cortez, F., Azevedo, J., Valentim, R. . . . . 347
- REP-FRP12. CONTROL DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN OVEJAS DE RAZA CHURRA GALEGA BRAGANÇANA - EFECTO DEL MOMENTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ECG. Correia, T., Venâncio, D., Azevedo, J., Maurício, R., Valentim, R. . . . . 350
- REP-FRP13. EFECTO DEL TIPO DE CUBRICIÓN Y DEL MÉTODO DE CONTROL DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN CABRAS SERRANAS EN LA ESTACIÓN DE ANESTRO. Valentim, R., Cortez, F., Azevedo, J., Maurício, R., Correia, T. . . . . 353
- REP-FRP14. ANTICIPACIÓN DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN OVEJAS DE RAZA CHURRA GALEGA BRAGANÇANA - EFECTO DE LAS GONADOTROPINAS CORIÓNICAS. Valentim, R., Azevedo, J., Maurício, R., Correia, T. . . . . 356

**Reproducción:** Gametos, fecundación y embriones

- EFECTO DE LA ADICIÓN DE ACTIVINA-A EN EL MEDIO DE MADURACIÓN Y DEL CULTIVO IN VITRO SOBRE EL RENDIMIENTO DE LA PIVE EN OVOCITOS DE CABRAS PREPÚBERES. Hammami, S., Morató, R., Catalá, M.G., Paramio, M.T., Izquierdo, D. . . . . 359

- SELECCIÓN DE OOCITOS DE CORDERA MEDIANTE LA TINCIÓN DEL BRILLIANT CRESYL BLUE PARA LA PRODUCCIÓN DE BLASTOCISTOS MEDIANTE FIV E ICSI. Catalá, M.G., Hammami, S., Roura, M., Romaguera, R., Morató, R., Izquierdo, D., Paramio M.T. ....	362
- EFECTOS DEL ACIDO HIALURONICO, EN DISTINTAS CONCENTRACIONES Y PESOS MOLECULARES, SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE LOS EMBRIONES OVINOS PRODUCIDOS IN VITRO. Ghaffarilaleh, V., Ghafari, F., Paramio, M.T., Fouladi-Nashta, A.A. ....	365
- SECRECIÓN DE MELATONINA POR LAS CÉLULAS DEL CÚMULUS OVINAS Y POSIBLE ACCIÓN DE ESTA HORMONA SOBRE LOS DAÑOS EN EL DNA DURANTE LA MADURACIÓN IN VITRO. Casao, A., Pérez-Pe, R., Forcada, F., Abecia, J.A., Cebrian-Perez, J.A., Muiño-Blanco, T. ....	368
- LA BIOPSIA EMBRIONARIA CON LÁSER PERMITE EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL OVINO SIN REDUCIR LA SUPERVIVENCIA A TÉRMINO. Cocero, M.J., Sánchez, P., Folch, J., Lahoz, B., Calvo, J.H., Quintín, F., Sevilla, E., Alabart, J.L. ....	371
- SITUACIÓN ACTUAL DEL BANCO DE RECURSOS GENÉTICOS DE LA RAZA BOVINA SERRANA DE TERUEL. Quintín, F.J., Picot, A., Hernández, M., Sanz, A., Pastor, F., Sevilla, E., Alabart, J.L., Vijil, E. ....	374
- INMUNOLocalización MEDIANTE MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA PROTEÍNA DISULFURO ISOMERASA A1 (PDIA1) EN OVOCITOS Y ZIGOTOS PORCINOS. Romar, R., Saavedra, M.D., Coy, P., Avilés, M. ....	377
- EFECTO DEL FLUIDO OVIDUCTAL PORCINO PRE- Y POST-OVULATORIO SOBRE LA RESISTENCIA ENZIMÁTICA DE LA ZONA PELÚCIDA Y LA FECUNDACIÓN IN VITRO. Ballester, L., Martínez-Soto, J.C., Matás, C., Romar, R., Coy, P. . .	380
- LA SELECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES POR LAS CÉLULAS OVIDUCTALES MODIFICA LOS PARÁMETROS DE FECUNDACIÓN IN VITRO. López-Úbeda, R., Matás, C. ....	383
- FOSFORILACIÓN DE TIROSINA EN ESPERMATOIDES PORCINOS INCUBADOS EN EXPLANTES OVIDUCTALES: EFECTO DEL LAVADO ESPERMÁTICO. Luño, V., López-Úbeda, R., García-Vázquez, F.A., Matás, C. ....	386
- LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA EN EL ÚTERO DE LA CERDA ESTÁ INFLUENCIADA POR LA CALIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES: ANÁLISIS DEL REFLUJO. Soriano-Úbeda, C., Hernández-Caravaca, I., Izquierdo-Rico, M.J., Matás, C., García-Vázquez, F.A. ....	389
<b>Reproducción: Semen rumiantes I</b>	
- VALORACIÓN REPRODUCTIVA DE TOROS JÓVENES DE TESTAJE DE RAZA PARDA DE MONTAÑA. Quintín, F.J., Hernández, M., Sevilla, E., Pastor, F., Banzo, P., Alabart, J.L., Serraller, J.M. ....	392
- CORRELACIÓN ENTRE EL TEST DE ENDOSMOSIS (HOST) Y OTROS PARÁMETROS DE CALIDAD ESPERMÁTICA EN SEMEN CRIOPRESERVADO DE BÚFALOS MURRAH. Quintero-Moreno, A., Osorio, C., González, D., Nava-Trujillo, H., Rubio-Guillén J. ....	395
- ESTATUS MITOCONDRIAL Y PRODUCCIÓN DE RADICALES SUPERÓXIDO TRAS LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA POR ANDROCOLL DE ESPERMATOZOIDES DESCONGELADOS DE CIERVO Y DE OVINO. Mata-Campuzano, M., Álvarez-Rodríguez, M., Campillo, I., Palacios-Aguado, A., Fuertes, C., Redondo-Blanco, S., Alonso-Molero, J., Martínez-Pastor, F. ....	398

- EFECTO DEL HIDROXITOLUENO BUTILADO EN LA CRIOPRESERVACIÓN ESPERMÁTICA DE OVINOS Y CAPRINOS CON O SIN IMPLANTES DE MELATONINA. Tabarez, A., García, W., Palomo, M.J. . . . . . 401
- EFECTO DEL TIPO DE YEMA DE HUEVO, ELIMINACIÓN DEL PLASMA SEMINAL Y EDAD DEL DONANTE EN LA CRIOCONSERVACIÓN DE SEMEN OVINO DE LAS RAZAS XISQUETA, ARANESA Y CAPRINO DE LA RAZA BLANCA DE RASQUERA Garcia, W., Tabarez, A., Terre, M., Ferrando, A., Jordana, J., Palomo, M.J. . 404
- INTEGRIDAD DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES RECIÉN COLECTADOS DE OVINOS EN CONDICIONES DE TRÓPICO SECO. Rubio-Guillén, J., Portillo-Guevara, O., Montero, M., Velásquez, A., Zalahne W., González-Villalobos, D., Torres-Rodríguez, P., Quintero-Moreno, A. . . . . . 407

**Reproducción:** Semen rumiantes II

- EVIDENCIAS DE LA RUTA DE LAS PENTOSAS FOSFATO EN EL ESPERMATOZOIDE OVINO. Luna-Valiente, C., Serrano-Blesa, E., Pérez-Pé, R., Domingo-Sanz, J., Arruga, D., Casao, A., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T. . . . . . 410
- RECEPTORES DE PROGESTERONA Y ESTRÓGENO ? EN EL ESPERMATOZOIDE OVINO Y SU CORRELACIÓN CON LA CAPACITACIÓN. González-Arto, M., Casao, A., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A. . . . . . 413
- ESTUDIO COMPARATIVO DE LA MORFOMETRÍA DE LAS SUBPOBLACIONES ESPERMÁTICAS (EN LA ESPECIE) BOVINA, CAPRINA, OVINA Y PORCINA UTILIZANDO EL MÉTODO CASMA-F. Vicente-Fiel, S., Palacín, I., Santolaria, P., Yániz, J.L. . . . . . 416
- LOS ESPERMATOZOIDES BOVINOS CON CROMATINA ALTERADA ESTÁN DISTRIBUIDOS MORFOMÉTRICAMENTE EN DISTINTAS SUBPOBLACIONES. Nava-Trujillo, H., Quintero-Moreno, A. . . . . . 419
- PERFIL ELECTROFORÉTICO BIDIMENSIONAL DE PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA ESPERMÁTICA DE TOROS SANMARTINERO. Restrepo-Rubio, N., Herrera-León, R.F., Rueda-Alfonso, F.L., Velásquez-Penagos, J.G., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T., Cardozo-Cerquera, J.A. . . . . . 422

**Reproducción:** Semen otras especies

- EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE GLICEROL Y DE LA TASA DE DILUCIÓN SOBRE LA CALIDAD IN VITRO Y LA CAPACIDAD FECUNDANTE DEL SEMEN CRIOCONSERVADO DE GALLOS DE RAZA GALLINA VALENCIANA DE CHULLILLA. Tomás, C., Blanch, E., Casares, L., Gómez, E.A., Sansano, S., Giménez, I., Mocé, E. . . . . . 425
- EFECTO DE LA LINEA GENÉTICA DEL MACHO SOBRE LA ACTIVIDAD ALANINA AMINOPEPTIDASA DEL PLASMA SEMINAL DE CONEJO. Viudes de Castro, M.P., Mocé, E. . . . . . 428
- CAMBIOS ESTACIONALES EN LA CALIDAD SEMINAL DE NEOMACHOS DE TRUCHA ARCOIRIS (*Oncorhynchus mykiss*): INTEGRIDAD DE LA CROMATINA. Fernández-Díez, C., González-Rojo, S., Robles, V., Martínez-Pastor, F., Herráez, M.P. . . . . . 431
- LA SUPLEMENTACIÓN DE SEMEN PORCINO DESCONGELADO CON PLASMA SEMINAL HETERÓLOGO NO MODIFICA LA PRODUCCIÓN DE RADICALES LIBRES. Fernández-Gago, R., Mata-Campuzano, M., Besa, A., Peñacoba, M., Lorenzo, C., Domínguez, J. C., Martínez-Pastor, F. . . . . . 434

- ACTIVACIÓN DE LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA DE VERRACO POST-DES-  
 CONGELACIÓN. Gómez-Fernández, J., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E., de Mer-  
 cado, E. . . . . 437
- EVALUACIÓN DEL CHEMSENSOR COMO HERRAMIENTA DE DISCRIMINACIÓN  
 PRECOZ DE EYACULADOS DE CERDO IBÉRICO EN FUNCIÓN DE SU CONGE-  
 LABILIDAD. Gómez-Fernández, J., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E., Carrasco, J.A.,  
 de Mercado, E. . . . . 440



<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Abad-Guamán, R. ....	198, 201	Alvarez, J. ....	869
Abecia, J.A. ....	76, 246, 255, 285, 341, 344, 368, 839, 842, 854, 857, 863, 866, 869, 885	Álvarez, S. ....	76, 326
Abo-Shady, H.M. ....	451	Alvarez-Rodríguez, J. ..	100, 103, 106, 109
Acevedo, I. ....	712, 733	Álvarez-Rodríguez, M.	398
Acín, C. ....	765	Alves, E. ....	568, 571
Acosta, N. ....	882	Amann, O. ....	82
Adell, E. ....	189	Amatria, L. ....	730
Aguado, E. ....	195	Amills, M. ....	541, 544, 604
Aguayo-Ulloa, A. ....	760	Andreoletti, O. ....	765, 768
Aguayo-Ulloa, L.A. ....	46, 49, 52	Andrés, S. ....	216, 682, 685, 825
Aguerre, X. ....	592	Andrés-Llorente, S. ....	783
Aguilar, A. ....	804, 807	Apeleo, E. ....	664, 673, 676, 706
Aguilera, J. F. ....	652	Arana, A. ....	559
Aguiló, J. ....	816	Aranguren, J.A. ....	774
Aguinaga, M.A. ....	652	Araújo, G. ....	300
Ait-Saidi, A. ....	91, 94	Araújo, J.P. ....	19, 22, 25, 40, 43, 67, 757
Al Alami, A. ....	306, 309	Arco-Pérez, A. ....	246, 845
Alabart, J.L. ....	338, 371, 374, 392	Argente, M.J. ....	317, 460, 463
Al-Alami, A. ....	258, 854	Argüello H. ....	875, 877
Alarcón-Elbal, P.M. ....	801	Arias Vázquez, M.A. ...	792
Albanell, E. ....	207, 679	Arias, M.S. ....	786, 789, 795
Albera, A. ....	538	Arias, R. ....	718
Albertí, P. ....	547, 613, 616, 643, 688, 691	Arias-Álvarez, M. ....	195, 514
Alcalde, M.J. ....	661	Ariño, A. ....	721
Aldai, N. ....	742, 745	Arranz, J. J. ....	532, 535
Alenda, R. ....	445, 448, 490	Arrese, F. ....	592
Alfonso, C. ....	204	Arriaga Jordán, C. M. ..	28, 297
Aljumaah, R.S. ....	82	Arroyo Balán, F. ....	792
Almeida, J.C. ....	19, 25	Arroyo, F. ....	789
Almeida, P.R. ....	798	Arruga, D. ....	410
Almería, S. ....	323	Asiain, J. ....	70
Alonso, V. ....	694, 700	Astruc, J.M. ....	592
Alonso-Molero, J. ....	398	Atlija, M. ....	532
Alshaikh, M.A. ....	82	Atti, N. ....	183
Altarriba, J. ....	487, 499	Ausín, L. ....	195
Álvarez, I. ....	595, 598	Avilés, M. ....	377
		Ayadi, M. ....	82
		Ayuso, M. ....	132, 553

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Azevedo, J. ....	347, 350, 353, 356
Babot, D. ....	100, 103, 106, 109, 869
Bach, A. ....	300, 312, 505
Badaoui, B. ....	604
Badawy, A.Y. ....	320, 457
Badillo, I. ....	652
Badiola, I. ....	882
Badiola, J.J. ....	765, 768
Bahchaga, K. ....	451
Balcells J. ....	61, 106, 103, 109, 240, 264, 869
Ballester, L. ....	380
Ballester, M. ....	523, 565, 568, 574
Baloche, G. ....	592
Banzo, P. ....	392
Barahona, M. ....	616
Barberán, M. ....	834
Barbosa, S.F. ....	67
Barillet, F. ....	592, 765
Barragán, C. ....	511, 601
Barrios, V. ....	875, 877
Barros, M. ....	757
Bartolomé, D.J. ....	261, 273
Baselga, M. ....	469, 475, 478, 481
Belenguer, A. ....	210, 213, 857, 860
Beltrán de Heredia, I. ....	279, 550, 592
Beltrán, J.A. ....	694, 700, 703
Ben Sassi, N. ....	502
Benaouda, M. ....	291
Benavides-Silván, J. ....	783
Benhissi, H. ....	279
Benítez, R. ....	553
Benito, A. ....	879
Beriain, M.J. ....	613, 730
Bermejo, R. ....	664, 673, 706
Bernard, L. ....	210, 213, 960
Bernués, A. ....	121

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Berrocoso, J. D. ....	159, 243
Bertolini, E. ....	888
Besa, A. ....	434
Bigi, M. ....	520
Biscarini, F. ....	538
Blanch, E. ....	425
Blanco, C. ....	216, 282, 682, 685
Blanco, M. ....	219, 547, 634
Blanco-Penedo, I. ....	40, 43, 67
Blasco, A. ....	64, 457, 460, 463, 466
Blasco, I. ....	37
Blasco, J.M. ....	831, 834
Blavi, L. ....	150
Bodas, R. ....	216, 261, 273, 282
Bolea, R. ....	765, 768
Bonet, J. ....	141
Bonilla, R. ....	786
Borobia, M. ....	810
Borrás, M. ....	189
Borrisser, F. ....	628
Bossers, A. ....	765
Bouali, O. ....	222
Bouvier, F. ....	765
Braglia, S. ....	520
Bravo, D. ....	252
Bríngola, B. ....	879
Bueso, J.P. ....	810, 822
Burón, T. ....	192
Busqué, J. ....	55, 58
Bustinza, R.H. ....	73
Butler, F. ....	646
Cabeza de Vaca, M. ....	697, 739
Cabeza-Luna, I. ....	848
Cabrera, S. ....	82
Cadavez, V. ....	22, 43, 646
Cadavez, V.A.P. ....	649
Caja, G. ....	82, 85, 88, 91, 94, 207, 679, 816
Calavia, R. ....	777

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Calsamiglia, S. ....	31, 252
Calvete, C. ....	771, 777
Calvo, A.J. ....	771
Calvo, J. H. ....	219, 371, 547, 556, 634, 771
Cámara, L. ....	159, 243
Cambra, M. ....	888
Cambra-López, M. ....	189, 888
Campillo, I. ....	398
Campo, M.M. ....	616, 619, 625, 661, 703, 748
Cánovas, A. ....	544
Cantalapiedra, J. ....	40, 43, 67
Cañeque, V. ....	664, 673, 676, 706
Capote, J. ....	604
Carabaño, M. J. ....	451, 529
Carabaño, R. ....	198, 201, 882
Cardozo-Cerquera, J.A. ....	422
Carrasco, J.A. ....	440
Carro, M.D. ....	186, 270, 848, 851
Cartuche, L. ....	64
Carvajal, A. ....	875, 877
Casao, A. ....	344, 368, 410, 413
Casares, L. ....	425
Casasús, I. ....	112, 115, 118, 121, 329, 332, 335, 547
Casellas, J. ....	496, 526, 541, 562, 565
Castelló, A. ....	523, 541, 544, 565, 568
Castillejos, L. ....	31, 138
Castillo, M. ....	872
Castillo-Hernández, J.A. ....	801
Castrillo, C. ....	258, 306, 309, 854
Castro-Carrera, T. ....	210, 213, 857
Castro-Costa, A. ....	816
Catalá, M.G. ....	359, 362

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Catalán, O. ....	619
Cauquil, L. ....	882
Cazapal-Monteiro, C. ....	786, 789, 792, 795
Cebrián-Pérez, J.A. ....	368, 410, 413, 422
Cerdà-Cuéllar, M. ....	872
Cerisuelo, A. ....	141, 189, 888
Cerqueira, J.O.L. ....	40, 19, 22, 25, 43, 67
Cervantes, I. ....	514
Chevalet, C. ....	508
Chilliard, Y. ....	210, 213, 860
Cilla, I. ....	661
Cimadevilla, C. ....	736
Cocero, M.J. ....	371
Colmenar, L. ....	76
Coma, J. ....	103, 141
Combes, S. ....	882
Conde, T. ....	813
Conesa, A. ....	748
Contreras, D. ....	109
Contreras, I. ....	344
Corbière, F. ....	768
Corominas, J. ....	523, 565, 568
Correia, T. ....	347, 350, 353, 356
Cortés, X. ....	61, 264
Cortez, F. ....	347, 353
Cortez, R.A. ....	622
Cortiñas, F.J. ....	795
Costa, A. ....	85
Coy, P. ....	377, 380
Crecente, S. ....	180
Crespo, R. ....	204
Cuervo, M. ....	595, 598
D'Andrea, M. ....	604
Davin, R. ....	147
Davoli, R. ....	520
Daza, A. ....	132, 448, 553
de Campanere, S. ....	288
de Cara, M.A.R. ....	586, 589

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
de Diego, N. ....	162	Esteve-Codina, A. ....	574
de la Fuente, J. ....	664, 673, 676, 706	Estrada, O. ....	721, 875, 877
de la Fuente, L. F. ....	532	Estrada, R. ....	801
de la Riba, S. ....	195	Ferenčaković, M. ....	538
de las Heras, M. ....	810, 822	Fernandes, E. ....	757
de Mercado, E. ....	135, 168, 171, 437, 440	Fernández, J. ....	774
de Miguel, M.J. ....	834	Fernández Novales, J. ....	637
de Paz-del Río, R. ....	448	Fernández, A. ....	132, 553, 601
de Pedro Sanz, E. ....	631, 637	Fernández, A. I. ....	511, 502, 562, 571, 574, 601
de Vega, A. ....	258, 303, 306, 309	Fernández, C. ....	879
del Corvo, M. ....	538	Fernández, I. ....	595, 598
Delacour, S. ....	801	Fernández, J. ....	586, 589, 607
Delgado, J.V. ....	604	Fernández, M. ....	210, 213, 789, 795
Descals, P. ....	240	Fernández, N. ....	79
Devant, M. ....	312	Fernández-Carballar, F. ....	652
Diago, S. ....	879	Fernández-Díez, C. ....	431
Díaz, A. ....	186, 270, 851	Fernández-Figares, I. ....	144, 174
Díaz, C. ....	451, 499, 529	Fernández-Gago, R. ....	434
Díaz, I. ....	544	Fernández-Novales, J. ....	640
Díaz, M.T. ....	664, 673, 676, 706	Fernández-Suárez, V. ....	739
Díaz-Medina, E. ....	82	Ferrando, A. ....	73, 404, 604
Dieste-Pérez, L. ....	834	Ferrando, J. ....	129
Domingo-Sanz, J. ....	410	Ferraz, C.M. ....	97
Domínguez, J. C. ....	434	Ferrer, J. ....	37
Dorantes, J.A. ....	79	Ferrer, L.M. ....	810, 813, 822
Dosil, J. ....	303	Ferrer, P. ....	141, 189
El Abed, N. ....	882	Ferret, A. ....	31, 252
El Nagar, A. G. ....	469, 475, 478	Fievez, F. ....	288
El Ouni, M. ....	604	Figueras, L. ....	813, 822
El-Sayed, H. ....	82	Figuroa, J. ....	165
El-Shafei, M.H. ....	82	Filali, H. ....	768
Esclapez, A. ....	463	Fina, M. ....	526
Espada, M. ....	813, 822	Flores, C. ....	94, 816
Espinosa, G. ....	31	Flores, J. ....	103
Estany, J. ....	517, 520, 580, 583	Folch, J. ....	338, 371
Estaún, J. ....	303, 306	Folch, J.M. ....	523, 562, 565, 568, 571, 574
Estellé, J. ....	568	Fondevila, J. ....	813
		Fondevila, M. ....	153, 258, 854, 885

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Forcada, F. ....	100, 341, 344, 368	Garrido-Novell, C. ....	640
Fortea, C. ....	658	Garrido-Varo, A. ....	192, 631, 640
Fortes, M.R.S. ....	574	Gartziandia, A. ....	810, 813
Fouladi-Nashta, A.A. ...	365	Garza, M.C. ....	765, 768
Fraile, L. ....	583	Gasa, J. ....	34, 138
Francesch, M. ....	156	Ghafari, F. ....	365
Francisco, I. ....	795	Ghaffarilaleh, V. ....	365
Francisco, R. ....	786	Giménez, I. ....	425
Franco, D. ....	180	Gimeno, A. ....	258, 303, 306, 309, 854
Franco, R. ....	150	Giráldez, F.J. ....	216, 282, 682, 685
Frikha, M. ....	237	Giraldo, L.A. ....	186, 270
Frutos, P. ....	210, 213, 845, 857, 860	Girdwood, S.E. ....	857
Fuertes, C. ....	398	Girón, W. ....	768
Fugita, C.A. ....	619, 622, 625	Gispert, M. ....	85, 88
Gallardo, B. ....	249, 667, 670	Godoy, M. ....	712
Gallardo, D. ....	544	Gol, S. ....	520
García F.J. ....	751, 754	Gómez, D. ....	789, 795
García- Rodríguez, A. .	279	Gómez, E. ....	141
García, A. ....	294	Gómez, E.A. ....	64, 79, 425
García, D. ....	598	Gómez, I. ....	613, 730
García, J. ....	198, 201, 225, 231, 234, 882	Gómez, M. ....	604
García, J.J. ....	261, 273	Gómez, N.C. ....	73
García, M. ....	875, 877	Gomez-Conde, M.S. ...	201
García, M.L. ....	317, 460, 463	Gómez-Fernández, J. .	135, 168, 171, 437, 440
García, O. ....	712, 733	Gómez-Izquierdo, E. ...	135, 168, 171, 437, 440
García, W. ....	401, 404	Gómez-Romano, F. ....	589
García-Casco, J.M. ....	577	Gonzales-Barron, U. ...	646, 649
García-Cortés, L.A. ....	508	González, A. ....	487
García-Gámez, E. ....	535	González, D. ....	395
García-García, R.M. ....	195, 514	González, J.M. ....	810, 813, 822
García-Ispierto, I. ....	323, 819	González, L. ....	643
García-Rebollar, P. ....	195, 243	González, R. ....	541
García-Rodríguez, A. ..	267	González-Arto, M. ....	413
García-Torres, S. ....	697, 739	González-Calvo, L. ....	219, 556, 634
García-Vázquez, F.A. ..	386, 389	González-Martín, S. ....	88
Garrido Novell, C. ....	637	González-Ortiz, G. ....	872
Garrido Varo, A. ....	637	González-Recio, O. ....	490, 493, 502, 505
Garrido, M.D. ....	628		
Garrido, V. ....	825, 828		

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
González-Rodríguez, A.	499
González-Rojo, S.	.....431
González-Villalobos, D.	407
Goyache, F.	.....595, 598
Gracia, A.	.....658
Grassi, P.	.....85, 88
Grilló, M.J.	.....828, 831
Guada, J.A.	.....129, 153
Guedes, C.	.....25
Guerra-Rivas, C.	.....249, 670
Guerrero Ginel, J. E.	...192
Guerrero, A.	.....622, 661
Guerrero, J. E.	.....637
Guerrero-Ginel, J. E.	...631, 640
Guillamón, E.	.....135, 171
Guillén, R.	.....100
Gutiérrez, A.	.....79
Gutiérrez, J.P.	.....514
Gutiérrez-Gil, B.	.....532, 535
Gutiérrez-Valcárcel, A.	478
Guzmán, P.	.....159, 222, 225, 228, 231, 234
Guzmán-Pino, S. A.	...165
Hajji, H.	.....183
Hammami, S.	.....359, 363, 679
Haro, A.	.....144, 652
Harzalli, R.	.....228, 231
Hedman, C.	.....765, 768
Henríquez, E.	.....517
Heras, A.	.....882
Hernández, J.	.....541
Hernández, J.A.	.....789, 795
Hernández, M.	.....374, 392
Hernández, P.	.....466
Hernández, R.	.....765, 768
Hernández-Caravaca, I.	389
Herráez, M.P.	.....431
Herraiz, P.	.....261
Herrera-León, R.F.	.....422
Hervás, G.	.....210, 213, 845, 857, 860
Horcada, A.	.....661

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Horcas, E.	.....748
Humada, M.J.	.....736, 751, 754
Ibáñez, N.	.....562, 571
Ibáñez-Escriche, N.	.....460, 484, 523, 526
Iglesias, A.	.....22
Iguácel, L.P.	.....547
Indurain, G.	.....730
Insausti, K.	.....559, 613, 730
Ipharraguerre, I.	.....300
Ipharraguerre, I. R.	.....162
Isabel, B.	.....132, 553
Izquierdo, D.	.....359, 362
Izquierdo-Rico, M.J.	...389
Jaroso, R.	.....742, 745
Jiménez, E.	.....845
Jiménez, F.	.....294
Jiménez, L.	.....718
Jiménez, M.A.	.....454
Jiménez-Montero, J. A.	445, 448, 493, 490
Jordana, J.	.....73, 404, 544, 604
Joven, M.	.....153
Joy, M.	.....219, 547, 556, 634, 721
Juan, T.	.....721
Jurado, J.J.	.....454
Kim, M.	.....640
Kimiaetalab, M. V.	.....177, 225, 234
Kirinus, J.K.	.....547
Lacasta, D.	.....810, 813, 822
Lachica, M.	.....144, 174
Lahoz, B.	.....371
Landi, V.	.....604
Langeveld, J.	.....765
Lara, L.	.....144
Lasarte, M.	.....592
Latorre, M.A.	.....129, 153
Lauzurica, S.	.....664, 673, 676, 706
Lavara, R.	.....481
Lavín, M.P.	.....670

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Lavín, P. ....	249, 742, 745
Lázaro, R. ....	243
Lecomte, T. ....	595
Legarra, A. ....	508, 592
Leite, A. ....	709, 724, 727
Leroux, C. ....	210, 213
Letosa, A. ....	879
Letosa, J. ....	879
Lewis, K. ....	866
Liébano Hernández, E. ....	792
Lizardo, R. ....	156
Llorente, P. ....	282
Lopes, S. ....	19
López Arellano, M. ....	792
López, A. ....	697, 739
López, O. ....	664, 673, 676, 706
López, S. ....	216
López-Bote, C.J. ....	132, 237, 553
López-Gatius, F. ....	323, 819
López-Luna, J. ....	655
López-Nuez, P. ....	135, 171
López-Úbeda, R. ....	383, 386
Lorenzo, C. ....	434
Lorenzo, J.M. ....	180
Lorenzo, L. ....	598
Lorenzo, P.L. ....	195, 514
Losa, R. ....	288
Loste, A. ....	810
Lucientes, J. ....	801
Luna-Valiente, C. ....	410
Luño, V. ....	386
M.A., Palacios ....	715
Mahouachi, M. ....	183
Mainar-Jaime, R.C. ....	825
Majolini, D. ....	882
Mallo, J.J. ....	150
Mandalawi, H. A. ....	177, 222, 228
Mandaluniz, N. ....	267
Mangado, J.M. ....	70
Manrique, E. ....	124
Manso, T. ....	249, 667, 670

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Manteca, X. ....	34
Mantecón, A.R. ....	249, 670, 742, 745
Manuelian, C.L. ....	207
Manunza, A. ....	541, 604
Manzanilla, E.G. ....	147
Marca, C. ....	810, 813
Marco, M. ....	204
Marco-Jimenez, F. ....	481
María, G.A. ....	46, 49, 52, 760
Marijuán, S. ....	267
Marín, B. ....	765, 768
Marín, C.M. ....	834
Martín de la Rosa, A. ....	514
Martín-Diana, A.B. ....	273
Martínez Fernández, A. ....	291
Martínez Valladares, M. ....	532
Martínez, A. ....	604
Martínez, A.M. ....	571
Martínez, B. ....	628
Martínez, D. ....	129
Martínez, G. ....	255, 866, 842
Martínez, M. ....	141
Martínez-Álvaro, M. ....	460
Martínez-Fernández, A. ....	28, 297
Martínez-Fernández, G. ....	285, 863
Martínez-Pastor, F. ....	398, 431, 434
Martínez-Pérez, J.M. ....	780, 783
Martínez-Soto, J.C. ....	380
Martínez-Valladares, M. ....	780, 783
Martínez-Vallespín, B. ....	885
Martín-García, A. I. ....	246, 255, 276, 285, 842, 845, 863, 866,
Martín-Orúe, S.M. ....	872
Mata-Campuzano, M. ....	398, 434
Matás, C. ....	380, 383, 386, 389
Mateo, J. ....	682, 685, 751, 754
Mateos, G. G. ....	159, 177, 222, 225, 228, 231, 234, 237, 243

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Mateos, I. ....	851
Maurício, R. ....	350, 353, 356
Maza, M.T. ....	658
McEwan, N.R. ....	857
Medel, I. ....	700, 703
Media, B. ....	288
Medina, I. ....	106, 109
Meikle, A. ....	344
Mejía-Silva, W. ....	774
Melo, C. ....	544
Mendes, C. ....	22
Mendizabal, J.A. ....	559, 613, 643
Mendoza de Gives, P. ..	792
Menéndez-Buxadera, A.	451
Meneses, C. ....	499, 529
Menoyo, D. ....	162, 177, 237, 882
Mercadé, A. ....	541
Mereu, A. ....	300
Mesas, L. ....	150
Miguélez, S. ....	786
Milán, M.J. ....	73, 94
Millán, P. ....	195
Mínguez, C. ....	469, 475, 478
Mintegi, L. ....	592
Miranda, M.A. ....	801
Miranda, R. ....	875, 877
Miranda-de la Lama, G.C.	46, 49, 52, 760
Mocé, E. ....	425, 428
Mocé, M.L. ....	457
Mocket, J.H. ....	85, 88, 91
Molina, A. ....	451
Molina, R. ....	801
Molina-Alcaide, E. ....	255, 276, 285, 842, 848, 863
Molino, F. ....	219, 556, 634, 721
Monge, P. ....	619, 703
Monleón, E. ....	765
Monroy, F. ....	771
Montero, M. ....	407
Monzón, M. ....	765

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Mora, J. ....	61, 264
Morán, L. ....	216, 682, 685
Morán-Lobato, L. ....	783
Morató, R. ....	359, 362
Morazán, H. ....	61, 106, 109, 264, 869
Moreno, C. ....	487, 499
Morgavi, D. ....	288
Moros, R. ....	55
Moset, V. ....	141, 189, 888
Mouresan, E.F. ....	487, 499
Mozo, R. ....	338
Muela, E. ....	619, 694, 700, 703
Muelas, R. ....	317, 463
Muño, I. ....	664, 673, 676, 706
Muiño-Blanco, T. ....	368, 410, 413, 422
Muns, R. ....	34
Muñoz, F. ....	183
Muñoz, M. ....	523, 577
Muñoz, P.M. ....	831, 834
Muñoz-Martínez, A. ....	848
Murilhas, A.M. ....	798
Muzquiz, M. ....	135, 171
Naharro, G. ....	875, 877
Naranjo, N. ....	237
Nava-Trujillo, H. ....	395, 419
Newbold, C.J. ....	288, 866
Nicodemus, N. ....	204
Nicoloso, C.S. ....	97
Nieto, R. ....	652
Nogales, R. ....	276
Nogareda, C. ....	323
Noguera, J.L. ....	562, 574
Núñez, C. ....	288
Obregon, V. ....	177
Olaizola, A.M. ....	124
Oliete, B. ....	718
Oliva, P. ....	61, 264
Oliván, M. ....	739



<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Olivares, A. ....	628	Pérez Marín, D. ....	637
Oliveira, A. F. ....	709, 724, 727	Pérez, C. ....	664, 673, 676, 706
Oliver, A. ....	789	Pérez, J. A. ....	28
Oliver, M.A. ....	628	Pérez, J. F. ....	147, 150, 165
Olleta, J.L. ....	46, 49, 52, 616, 625, 661, 703, 760	Pérez-Baena, I. ....	79
Olmedo, S. ....	273	Pérez-Bonilla, A. ....	225, 228, 231, 234
Olmos, A. ....	888	Pérez-Cabal M.A. ....	451
Ornaghi, M.G. ....	622	Pérez-Guzmán, M.D. ..	451, 718
Oropeza, V. ....	801	Pérez-Marín, D. ....	192, 631
Ortega, M. ....	810, 813, 822	Pérez-Marín, D. C. ....	640
Ortín, A. ....	810, 813	Pérez-Montarelo, D. ....	565, 571
Ortiz de Montellano, A.	792	Pérez-Pe, R. ....	368, 410, 413
Osorio, C. ....	395	Pérez-	
Óvilo, C. ....	132, 553	Santaescolastica, C. ...	664, 673, 676, 706
Paço, S.M. ....	43	Pérez-Velasco, L. ....	547, 556
Pagés, N. ....	801	Peris, C. ....	79
Palacín, I. ....	341, 416	Picot, A. ....	374
Palacio, J. ....	37	Piedrafita, J. ....	526
Palacios, C. ....	76, 326	Piles, M. ....	472
Palacios-Aguado, A. ....	398	Pilla, F. ....	604
Palomo, M.J. ....	401, 404	Pinal-Prieto, R. ....	801
Panea, B. ....	688, 691	Pineda-Quiroga, C. ....	267
Panella-Riera, N. ....	628	Pintos, M.E. ....	153
Paramio, M.T. ....	359, 362, 365	Piñeiro, P. ....	786, 789
Pascual, J.I. ....	195	Pires, P. ....	757
Pascual, M. ....	64	Pires-Sância M.A. ....	798
Pascual-Alonso, M. ....	46, 49, 52, 760	Pitarch, J.L. ....	765, 768
Pastor, F. ....	374, 392	Pollott, G. ....	538
Pau, V. ....	613	Pons, A. ....	604
Paulos, K. ....	709, 724, 727	Portillo, M.G. ....	774
Paz-Silva, A. ....	795	Portillo-Guevara, O. ....	407
Peiró, R. ....	317, 320, 457	Posado, R. ....	261, 273
Pena, R.N. ....	517, 520, 541, 544, 562, 568, 580, 583	Prado, I. N. ....	625
Penedo, I. ....	22	Prado, I.N. ....	619, 622
Peñacoba, M. ....	434	Prieto, N. ....	216
Pereira, E. ....	709, 724, 727	Prior, E. ....	697, 739
Pérez Bonilla, A. ....	222	Próspero, F. ....	28, 297
Pérez de Rozas, A. ....	882	Puig-Oliveras, A. ....	523, 565, 568
		Pumarola, M. ....	768

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Purroy, A. ....	559, 613, 643	Rodríguez, L.A. ....	273
Quintanilla, R. ....	541, 544	Rodríguez, M. ....	79, 243
Quintero, A. ....	294	Rodríguez, M.C. ....	511, 577, 601
Quintero-Arboleda, X. ....	529	Rodríguez, M.I. ....	789
Quintero-Moreno, A. ....	395, 407, 419, 774	Rodríguez-Ortega, T. ...	121
Quintín, F. ....	371	Rodríguez-Ramilo, S.T. ....	493, 607
Quintín, F.J. ....	374, 392	Rodríguez-Romero, N. ....	885
Rafel, O. ....	472	Rodríguez-Sánchez, J.A. ....	112, 115, 118, 329, 332, 335
Ragab, M. ....	475, 478	Rojas Cano, M.L. ....	144, 174
Ramayo-Caldas, Y. ....	523, 565, 568, 574	Rojas, N. ....	294
Ramon, J. ....	472	Rojas-Olivares, M.A. ...	85
Ramón, M. ....	451	Rojo-Vázquez, F.A. ....	780, 783
Ramos, J.J. ....	810, 822	Romaguera, R. ....	362
Ramos-Morales, E. ....	246, 255, 285, 863, 842, 845	Romar, R. ....	377, 380
Ranilla, M.J. ....	186, 270, 851	Romasanta, A. ....	786
Realini, C.E. ....	613, 616	Romero, A. ....	768
Rebollar, P.G. ....	195, 514	Romero, C. ....	198
Redondo-Blanco, S. ....	398	Romero-Huelva, M. ....	276
Resconi, V. ....	619	Roncalés, P. ....	694
Resconi, V.C. ....	748	Rosa, J.S. ....	97
Restrepo-Rubio, N. ....	422	Ros-Freixedes, R. ....	517, 520, 580
Reverter, A. ....	574	Roura, M. ....	362
Revilla, I. ....	715	Rovai, M. ....	207, 816
Revilla, M. ....	523	Rubio, B. ....	667
Rey, A. ....	237	Rubio, P. ....	875, 877
Rey, A.I. ....	132, 553	Rubio-Guillén J. ....	395, 407
Ripoll, G. ....	219, 547, 556, 634, 643, 688, 691	Rueda, J. ....	529
Ripoll-Bosch, R. ....	121	Rueda-Alfonso, F.L. ....	422
Rivas, E. ....	338	Ruiz de Arcaute, M. ....	810, 813, 822
Rivas-Cañedo, A. ....	673, 676, 706	Ruiz, R. ....	267
Robles, V. ....	431	Ruiz-Arrondo, I. ....	801
Robles-Pérez, D. ....	780, 783	Ruiz-Ramírez, J. ....	712, 733
Rodrigáñez, J. ....	3	Saavedra, M.D. ....	377
Rodrigues, E.A. ....	156	Salama, A.A.K. ....	82, 94, 207, 679, 816
Rodrigues, S. ....	709, 724, 727	Salama, O.H. ....	82
Rodríguez, C. ....	571	Saldaña, B. ....	159, 225, 228, 231, 234
Rodríguez, J.R. . ....	58	Salido, V. ....	801
		Samper, S. ....	825
		San Román, B. ....	828, 831

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Sánchez, A. ....	85	Sidrach de Cardona, S.	234
Sánchez, D. ....	463	Sidrach, S. ....	225
Sánchez, J. P. ....	469, 472, 475, 478, 484	Silió, L. ....	3, 511, 571, 577
Sánchez, M. ....	804, 807	Silva, A. ....	25
Sánchez, P. ....	371	Silva, C. ....	34
Sánchez, S. ....	828	Silva, S.R. ....	19, 25, 40
Sánchez, W. ....	303	Silveira, V.C.P. ....	97
Sánchez-Andrade, R. ..	786, 789	Silvestre, M. ....	19, 25, 40
Sánchez-Briñas, B. ....	742, 745	Siurana, A. ....	252
Sánchez-Murillo, J.M. .	801	Smeti, S. ....	183
Sánchez-Quinche, A. ..	79	Sol, C. ....	138
Sanchís, J. ....	786	Solà-Oriol, D. ....	150, 165, 872
Sanjuán, D. ....	715	Soldado, A. ....	291, 297
Sansano, S. ....	425	Soldevila, C. ....	103
Santacreu, M.A. ....	320, 457	Soler, J. ....	85, 88
Santolaria, P. ....	416	Soret, B. ....	559
Santos, V. ....	25	Soriano-Úbeda, C. ....	389
Sanz, A. ....	112, 115, 118, 329, 332, 335, 374	Sosa, C. ....	344
Sañudo, C. ....	661, 616, 619, 622, 625, 700, 703, 748, 760	Soto, S. ....	682, 685
Sarasa, R. ....	768	Soulas, C. ....	592
Saro, C. ....	186, 270, 851	Stella, A. ....	538
Sarriés, M.V. ....	613	Suarez, J. ....	153
Sarriés, V. ....	730	Suárez, J.L. ....	786, 795
Sarto, P. ....	547, 556, 771	Suárez-Belloch, J. ....	129
Sato, V.A. ....	622	Suarez-Vega, A. ....	535
Saura, M. ....	601	Such, X. ....	679
Segura, J. ....	132	Tabarez, A. ....	401, 404
Seradj, A.R. ....	61, 106, 109, 240, 264, 869	Tabernero de Paz, M.J.	261, 273
Serradilla, J.M. ....	451	Tamboura, H.H. ....	595
Serraller, J.M. ....	392	Tarsitano, M.A. ....	628
Serrano, E. ....	58, 754, 736, 751	Tazzoli, M. ....	882
Serrano, M. ....	451, 547, 556	Teixeira, A. ....	709, 724, 727
Serrano-Blesa, E. ....	410	Tejerina, D. ....	697, 739
Serrano-Pérez, B. ....	323	Tejido, M.L. ....	273, 82
Sevilla, E. ....	371, 374, 392	Tenas, J. ....	694
Shearer, A. ....	288	Terre, M. ....	404
		Tessier, N. ....	288
		Tibau, J. ....	85, 88
		Tomás, C. ....	135, 168, 171, 425, 437, 440
		Tor, M. ....	517, 520, 580
		Toral, P.G. ....	210, 213, 857,

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
	860	Vico, J.P. ....	825
Toro, M.A. ....	508, 586, 601,	Vidal, E. ....	768
	607	Vidal, O. ....	604
Torrallardona, D. ....	156	Vieira, C. ....	667, 670
Torrecilhas, J.A. ....	622	Vijil, E. ....	374
Torres-Pitarch, A. ....	141	Vilallonga, D. ....	804, 807
Torres-Rodríguez, P. ...	407	Vilarinho, M. ....	757
Traoré, A. ....	595	Villagrà, A. ....	141
Trocino, A. ....	882	Villalba, D. ....	61, 264
Trujillo, M. ....	774	Villanueva, B. ....	586, 589, 601
Tutusaus-Batlle, J. ....	819	Villanueva, M. ....	70
Ugarte, E. ....	505, 550, 592	Villarroel, M. ....	46, 49, 52, 655
Uriarte, J. ....	777	Villorbina, G. ....	240
Urrutia, O. ....	559	Virla, J. ....	774
Valcárcel, F. ....	804, 807	Vitezica, Z.G. ....	550
Valentim, R. ....	347, 350, 353,	Viudes de Castro, M.P.	428
	356	Vivar-Quintana, A.M. ...	715
Valério M.J. ....	798	Worgan, H.J. ....	857
Valero, M.V. ....	619, 622, 625	Xavier, C. ....	649
Varela, A. ....	135, 171	Xiccato, G. ....	882
Vargas, A.F.C. ....	97	Xuriguera, H. ....	88
Varona, L. ....	487, 499	Yániz, J.L. ....	416
Vázquez Prats, V. ....	792	Yáñez-Ruiz, D. ....	246, 866
Vázquez, F. ....	768	Yáñez-Ruiz, D.R. ....	255, 285, 288,
Vázquez, M.I. ....	341		839, 842, 845,
Vega, S. ....	192		854, 863, 869
Velásquez, A. ....	407	Zabalza, A. ....	831
Velásquez-Penagos, J.G.	422	Zabalza-Baranguá, A. .	828
Venâncio, D. ....	350	Zalahne W. ....	407
Venturini, G. ....	529	Zammerini, D. ....	628
Vera, G. ....	31	Zamora-Rojas, E. ....	631
Verdú, M. ....	312	Zamudio, A. ....	124
Vergara, I. ....	70	Zapata, D. ....	774
Vicente, F. ....	28, 291, 297	Zawadzki, F. ....	625
Vicente, J. S. ....	481	Zidi, A. ....	544
Vicente-Fiel, S. ....	416	Zomeño, C. ....	466

# *Ponencia inaugural*



## **UNA EXPERIENCIA IRREPETIBLE: LA PIARA DE CERDOS IBÉRICOS DE 'EL DEHESÓN DEL ENCINAR' (1944-2012)**

Luis Silió y Jaime Rodrigáñez  
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, 28040 Madrid  
E-mail: silio@inia.es

### **INTRODUCCIÓN**

Son varios los motivos por los que la piara experimental de cerdos Ibéricos de 'El Dehesón del Encinar' ha sido un caso singular en el panorama de la investigación ganadera realizada en España. El más obvio es que se trata de una población mantenida genéticamente aislada durante casi setenta años, con un registro ininterrumpido de genealogía y datos productivos que, en las 196 parideras habidas hasta Agosto de 2012, abarcó un total de 14.212 camadas y 92.319 animales con datos. Ha sido éste un esfuerzo infrecuente entre nuestras razas autóctonas, que ha contribuido decisivamente a la conservación del patrimonio genético del cerdo Ibérico, seriamente deteriorado a lo largo del último medio siglo, y que hizo posible disponer de reproductores de origen acreditado a decenas de ganaderos de Extremadura, Andalucía y ambas Castillas.

La creación en 1943 del Centro de Cría de Cerdos Ibéricos, por iniciativa del Instituto Nacional de Colonización (INC), tuvo como objetivo inicial el suministro de cerdos Ibéricos a los colonos del Plan Badajoz. Su dirección fue encomendada a Miguel Odriozola (1905-1974), que como becario de la Junta de Ampliación de Estudios había completado su formación académica estudiando genética y estadística en Cambridge (1929), alimentación animal en Aberdeen (1930) y Berlín (1931), y calorimetría en Breslau (1932). Cuando Odriozola inició la creación del Centro, contaba además con once años de experiencia a cargo de la fundación y control genético de la piara de cerdos *Large White* de la Misión Biológica de Galicia, tareas que había asumido por iniciativa de Don Cruz Gallástegui, insigne veterinario y pionero en la mejora genética del maíz. Odriozola, criado en la Granja Modelo de Arkaute (Alava), decidió desde muy joven dedicarse a la selección y mejora de ganado para lo que llevó a cabo un preciso plan de formación personal. En su doble titulación (Ingeniero Agrónomo y Licenciado en Derecho) y en los citados estudios de postgrado, con un evidente desequilibrio hacia la nutrición animal, se puede advertir su preocupación por adquirir una sólida formación en temas no directamente relacionados con su futura actividad como genetista. Odriozola consideraba inoperante la separación entre nutrición, reproducción y genética: los efectos de una nutrición equilibrada no son distintos a los de la heterosis, o inversamente, los de una nutrición deficiente a los de la consanguinidad. Por la misma razón, rechazaba la limitación de la Zootecnia al campo estricto de los animales domésticos y al abordar cualquier problema tenía en cuenta los resultados experimentales obtenidos en cualquier ser vivo. La personalidad de Odriozola marcó toda la trayectoria de la piara del 'Dehesón del Encinar', en la que la conservación del acervo genético del cerdo Ibérico y el servicio útil a los ganaderos fueron inseparables desde el principio de la permanente actividad investigadora. Fue asimismo una referencia para quienes, después de ser sus alumnos, tuvimos el privilegio de continuar allí su tarea (Silió y Malpica, 2003).

Referir los trabajos realizados en un período tan dilatado de tiempo es necesariamente un ejercicio de historia, que no puede disociarse de la historia del propio material. Ambos relatos han de discurrir juntos, dado que las investigaciones realizadas son en buena parte consecuencia de los cambios experimentados por la piara, y también la trayectoria de ésta ha sido en parte determinada por los resultados de aquellas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Orígenes de la piara*

Para la localización del Centro, Odriozola pudo elegir entre varias de las fincas gestionadas por el INC tras la guerra civil. La elección del 'Dehesón del Encinar', en la comarca de Oropesa (Toledo), se debió entre otras razones al aislamiento sanitario que proporcionaba su situación distante de las zonas de mayor densidad de producción porcina. El cerdo Ibérico constituía entonces un claro ejemplo de población ligada al medio natural en manos de un gran número de ganaderos, por lo que sus características eran principalmente atribuibles a su adaptación a las condiciones climáticas y ambientales de las dehesas del SO de la Península, y a los hábitos de elevado consumo de grasas animales mantenidos durante siglos en el medio rural. Los censos de la época mencionan nada menos que unas 600.000 cerdas de vientre, distribuidas en un gran número de ganaderías escasamente conectadas. Como consecuencia de ello y de abarcar un territorio variado y extenso la diversidad de tipos morfológicos era muy considerable. Se optó por efectuar una exploración de las mejores ganaderías de Portugal y España, a partir de la cual se escogieron cuatro antiguas ganaderías, con mucho tiempo de cría aislada, y representativas de las principales variedades entonces existentes: *Ervideira*, procedente de la ganadería del Conde de Ervideira (Évora), seis machos y 17 hembras representantes del dorado alentejano; *Campanario*, de la ganadería de los hermanos Donoso (Campanario), cuatro machos y 24 hembras de tipo negro lampiño de La Serena; *Caldeira*, de la ganadería del señor Picao Caldeira (Elvas), cinco machos y 14 hembras de tipo alargado retinto y *Puebla*, ganadería de don Fabián Lozano (Puebla de la Calzada), cinco machos y 27 hembras del pelón guadianés o negro lampiño de las vegas del Guadiana. Los animales de este contingente fundacional llegaron a Oropesa entre 1944 y 1945, quedando la piara cerrada desde entonces a la entrada de nuevos reproductores.

### *Primer período (1945-1963)*

Para asegurar el control genealógico, los apareamientos de cada cubrición se realizaban por monta natural en unidades de cubrición separadas entre sí y del exterior por tapias de altura doble a la que pudiera superar el brinco del cerdo más ágil. En cada unidad se encerraba un verraco con su lote de cerdas durante unos 23 días, en los que las puertas permanecían candadas y precintadas. Finalizado el plazo, rotos los precintos y abiertos candados y puertas se identificaban de nuevo todos los animales de cada unidad. Todo este procedimiento se observó en todas las cubriciones realizadas en la piara por monta natural. Los descendientes de las cuatro estirpes fundadoras se mantuvieron en riguroso aislamiento reproductivo durante este primer periodo, si bien en parideras alternadas se ensayaron los cruces recíprocos entre ellas en un diseño dialélico. Este diseño permitía el estudio del rendimiento productivo de las cuatro estirpes dejando abierto el destino que, al término del estudio, habían de seguir. Al mismo tiempo se maximizaba el censo efectivo global de la piara. El ensayo dialélico generó una importante base de datos con registros reproductivos de 2.638 camadas nacidas de 817 madres, así como registros de crecimiento obtenidos con distintos niveles de alimentación de un gran número de animales de los 16 diferentes tipos genéticos.

A finales del primer periodo, el aislamiento reproductivo y reducido censo de cada estirpe habían elevado la consanguinidad media en apenas seis generaciones a cerca de un 12 %, cifra acumulable a la desconocida consanguinidad inicial, probablemente considerable. Se decidió fusionar las cuatro estirpes en una nueva línea compuesta, fijada en capa colorada, denominada *Torbiscal*. La fusión se realizó a lo largo de varios años para emplear el mayor número posible de reproductores. Además se



conservaron otras dos líneas, ambas procedentes de la primitiva *Puebla: Guadyervas*, de capa negra (genotipo *EE* del gen *Extension*) prolongación de la originaria pero limpia del gen recesivo colorado, y *Gamito*, homocigota para el gen colorado (*ee*) procedente de una única copia presente en una cerda fundadora homocigota. Al final de este periodo, la piara sufrió un ataque de PPA, aunque sin consecuencias demasiado graves pero que obligó a estabular a los animales, que hasta entonces habían sido mantenidos en régimen de pastoreo.

### *Segundo periodo (1964-1974)*

El comienzo del segundo periodo coincidió con la primera gran crisis del sector del cerdo Ibérico debida a la extensión de la peste porcina africana, la depreciación del tocino y la irrupción incontrolada de razas extranjeras. Muchísimas ganaderías desaparecieron o realizaron cruces poco controlados con razas foráneas de capa oscura y, por lo tanto, el censo de la raza se redujo drásticamente. Esta difícil coyuntura llevó a la búsqueda de alternativas a la producción tradicional. Financiados por la Fundación Martín-Escudero se realizaron estudios sobre las posibilidades del cerdo Ibérico en régimen intensivo mediante comparaciones con cerdos *Large White* en estabulación completa bajo diversos planos nutritivos (Odriozola et al., 1969).

En la elección de reproductores se primaba la variabilidad genealógica, intentando con ello maximizar el tamaño efectivo, y se fomentaba la dispersión fenotípica que por su origen brindaba *Torbiscal*. Asimismo en esta línea se realizó en este periodo una prudente selección para crecimiento y rendimiento de piezas nobles. Las tácticas de apareamiento, con los coeficientes de parentesco entre todos los reproductores de cada cubrición a la vista, trataban de cruzar entre sí los animales menos emparentados. Pese a estas tácticas, a las que había que añadir una proporción de un verracos por 4-5 reproductoras relativamente elevada, los efectos del incremento de consanguinidad se dejaron sentir en *Guadyervas* y en *Gamito*, donde, obviamente, era mucho mayor el grado de endogamia.

Esta vidriosa cuestión de la depresión consanguínea fue la elegida por Odriozola para plantear su última propuesta experimental. No se trataba de estudiar los efectos negativos de un aumento gradual de la consanguinidad, como el registrado en los animales de la piara a lo largo de los años, sino los de su rápido incremento originado por el apareamiento entre hermanos. El estudio se planteaba en cada una de las tres líneas de diferente consanguinidad previa, lo que ofrecía la posibilidad de comprobar la posible dependencia de los efectos del nivel anterior. La jubilación y el casi inmediato fallecimiento de Odriozola en 1974 no interrumpió la realización de este trabajo, que se prolongó varios años al repetirse el diseño durante dos generaciones, aunque sí contribuyó a que se retrasara varios años el análisis de la información obtenida y aún más la publicación de sus resultados (Fernández et al., 2000a).

### *Tercer periodo (1975-1984)*

Las pérdidas de Odriozola (1974) y la posterior de su más estrecho colaborador, Jaime Zuzuárregui (1981), marcaron el inicio de esta etapa en la que investigadores del INIA -organismo que había recibido del IRYDA la finca y su ganado- que habíamos sido discípulos de Odriozola nos hicimos cargo de la gestión genética de la piara. A los aprendices de aquel taller donde se habían manejado las dos herramientas que el hombre dispone para la actividad creativa –el arte y la ciencia– no nos quedó otra opción que guardar una de ellas en el cajón, no sólo porque no supiéramos manejarla, sino porque el signo de los tiempos no lo permitía. Nuestra primera preocupación fue por ello la de conservar dignamente el legado recibido. Al comienzo de este periodo la conservación del material genético tropezaba con un serio obstáculo: muchos datos no estaban informatizados y se carecía de procedimientos y programas que resolvieran satisfactoriamente los planes de apareamientos. Hasta entonces los coeficientes de

parentesco se habían calculado manualmente, pero el volumen de datos existente hacía inevitable la producción de errores. El proceso completo de incorporar al ordenador del INIA datos y procedimientos llevó su tiempo, de modo que hasta 1982 no fue posible informatizar la gestión genética de la pira.

En este periodo se abordaron algunos trabajos experimentales compatibles con la conservación. Esto permitió estudiar la composición de la canal de *Guadyerbas*, *Gamito* y *Torbiscal*, evidenciando que esta última mostraba un crecimiento superior, menor proporción de grasa subcutánea y mayor de hueso y de magro que las otras dos. La coyuntura del cerdo Ibérico, tímidamente, parecía iniciar un cambio favorable, con una mayor atención a la calidad de los productos que los consumidores comenzaron a diferenciar. En colaboración con la Universidad de Córdoba y la empresa SRC (Jabugo), el INIA que había recibido la finca del IRYDA (antiguo INC), abordó un proyecto para estudiar los efectos de distintos factores de producción (edad, ejercicio, tipo de alimentación en el engorde final) sobre dicha calidad.

#### *Cuarto periodo (1985-2000)*

La transferencia en 1984 a la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (JCCM) de la finca e instalaciones de 'El Dehesón' hizo necesario un replanteamiento de la pira. Hasta entonces se habían simultaneado los objetivos de conservación y mejora. El excepcional banco de genes que suponían las estirpes obligaba a su conservación, pero esa misma condición le situaba como el material de partida idóneo para cualquier programa de mejora del cerdo Ibérico. Se decidió separar drásticamente las dos cuestiones. Por un lado, conservar las estirpes sin ninguna intencionalidad selectiva y, por otro, abrir a partir de ellas nuevas líneas de investigación en las que se experimentasen cuestiones relacionadas con su mejora genética.

Ante la necesidad de reducir el número de reproductores se adoptaron normas de reposición y apareamiento más rigurosas. Para ello, se intentó aproximar a cero la varianza de los tamaños familiares y en los planes de apareamientos se emplearon técnicas de programación lineal para obtener la solución de mínimo parentesco. De 1989 a 1995 se realizó un experimento de selección para crecimiento magro (*Torbiscal-S*) basado en registros tempranos (peso a 120 días y espesor de grasa a 40 kg), comparada con la línea *Torbiscal* no seleccionada como control. Los cambios genéticos atribuibles a selección se evaluaron a partir de datos registrados en 2.633 animales de ambas líneas.

La mejora de caracteres reproductivos en el cerdo Ibérico fue contemplada detenidamente tanto bajo un ángulo teórico como experimental. Un programa de evaluación del cruce entre *Torbiscal* y la raza hiperprolífica *Jiaxing* fue realizado en este periodo en colaboración con el INRA francés. Los resultados cifraron la superioridad de las hembras F1 (*Jiaxing x Torbiscal*) respecto a las *Torbiscal* en más de tres lechones por camada. Sin embargo, los resultados del crecimiento y composición de la canal no fueron alentadores. Los animales nacidos de distintos cruces con esta raza mostraron una ganancia media diaria inferior a la de los cerdos Ibéricos, especialmente acusada en el periodo de ceba, así como una menor proporción de piezas nobles en el sacrificio.

Al final de este período se iniciaron trabajos con marcadores genéticos (RAPDs, microsatélites, AFLPs) con los que se recuperó una tradición iniciada en los años 70 con estudios sobre variantes proteicas en el suero sanguíneo, en busca de marcadores de factores hereditarios relacionados con caracteres de interés productivo, y que dieron lugar a la única tesis doctoral dirigida por Odriozola sobre la pira. Veinte años después, los avances en las técnicas de análisis de ADN hicieron posible la genética molecular en especies domésticas con muy diferentes aplicaciones, que tuvieron una importancia creciente en la investigación realizada sobre los animales de la pira. Entre ellas, la búsqueda de loci relacionados con caracteres cuantitativos (QTL) requirió la realización de dos cruces experimentales entre líneas o razas

divergentes, considerados idóneos para la detección de esos factores hereditarios. Para obtener el primero de ellos, denominado IBCMAP, se cubrieron 30 cerdas de una línea magra *Landrace* con semen de tres verracos *Guadyerbas*. A partir de seis machos y 64 hembras F1 se obtuvieron los 577 animales F2 que constituyeron el material experimental inicial. Pero la realización de la investigación subsiguiente, realizada en colaboración con el IRTA y la UAB y orientada a la detección de regiones cromosómicas relacionadas con caracteres de crecimiento, composición corporal y calidad de carne y grasa, nos introduce ya al siguiente siglo.

### *El siglo XXI (2001-2012)*

Al comenzar el nuevo siglo, la situación del cerdo Ibérico - como la del país- se ha modificado sustancialmente. El censo de reproductoras –que estuvo en una situación muy precaria en los 80- ha aumentado hasta más de 300.000 cerdas si bien de forma descontrolada, borrando prácticamente la diferenciación tradicional de variedades y estirpes de ámbito territorial. Una parte mayoritaria de la producción de cerdos Ibéricos se ha intensificado y en bastantes casos se ha localizado fuera del territorio tradicional. En la función de la piara, pierden por ello importancia relativa los aspectos de conservación de recursos genéticos y especialmente de suministro de reproductores, aunque no solamente se mantuvieron los programas de conservación de animales *in vivo* sino que se estableció un programa complementario *in vitro* de semen congelado de verracos. En esta actividad –como en otras anteriores y posteriores que requirieron el empleo de técnicas de reproducción artificial- colaboraron eficazmente Pedro García-Casado y Raúl Sánchez, compañeros del Departamento de Reproducción Animal del INIA. El banco cuenta con 3.043 dosis seminales de doce verracos *Torbiscal* y 893 de seis verracos *Guadyerbas*. En este contexto, se impulsó la labor investigadora basada en los animales de ambas líneas aprovechando sus singulares características. A su realización práctica contribuyó el crecimiento del equipo de genetistas del INIA responsable de la piara, al que se incorporaron paulatinamente nuevos investigadores, técnicos y becarios. Igualmente investigadores del IRTA y de las Universidades Complutense y Politécnica de Madrid, de Zaragoza y Autónoma de Barcelona se interesaron por trabajar con los animales de la piara o con nuevo material generado desde la misma. La colaboración con investigadores de la UCM y UPM permitió estudios comparativos de la influencia del ejercicio, la cantidad de bellota ingerida o la adición en el pienso de distintos ácidos grasos o vitaminas. Asimismo se reanudaron los estudios de comportamiento de los lechones, en esta ocasión con técnicas de observación que exigieron la instalación de cámaras y ordenadores en una de las salas de partos (Rauw et al., 2013).

Al cruce IBCMAP inicial siguieron nuevos retrocruces y un nuevo cruce experimental (MEIBMAP), en este caso generado a partir de la inseminación de 21 cerdas de la raza hiperprolífica *Meishan* (INRA, Domaine du Magneraud) con dosis seminales de tres verracos *Guadyerbas*. Se obtuvieron camadas F1 de 18 cerdas *Meishan*, de las que se eligieron 124 reproductores F1 de ambos sexos que dieron lugar a 280 cerdas F2. Los registros reproductivos de estas cerdas se utilizaron en la detección de QTL para caracteres reproductivos, que presentaban notorias diferencias entre las líneas parentales. La creciente complejidad del análisis de los posibles genes candidatos subyacentes a los QTLs detectados hizo necesario trabajar con DNA copia y cuantificar la expresión génica en los principales tejidos de interés. Para ello fue necesario volver a utilizar el viejo matadero con objeto de obtener las muestras de tejidos necesarias en éstos y otros proyectos.

Más recientemente la búsqueda de QTLs relacionados con caracteres reproductivos se ha extendido a las propias líneas *Torbiscal* y *Guadyerbas* empleando técnicas de asociación genómica basadas en el genotipado de miles de mutaciones distribuidas por todos los cromosomas. Esta información genómica ha permitido disponer de nuevas medidas de diversidad genética y consanguinidad en las estirpes, algunas de

las cuales se utilizaron en nuevos estudios de depresión consanguínea (Silió et al., 2013). Finalmente, por iniciativa del grupo UAB-ICREA, al final de este periodo se iniciaron estudios de secuenciación masiva del genoma de cerdos Ibéricos.

Buena parte de las últimas actividades se mantenían a comienzos del 2012 y otras se estaban iniciando o pendientes de comenzar. Pero a finales de Febrero la Consejería de Agricultura de la JCCM comunicó mediante una simple llamada telefónica que los cerdos Ibéricos debían abandonar lo antes posible 'El Dehesón' puesto que habían decidido el cese de las actividades del Centro. La infausta noticia suscitó una gran inquietud entre los trabajadores e investigadores afectados. Para los primeros, se abría un período de incertidumbre laboral y personal. Los segundos, una vez confirmada esta decisión, iniciamos la búsqueda de una localización alternativa para los animales. El cese de actividades en 'El Dehesón' suscitó numerosas protestas de investigadores y entidades nacionales e internacionales, preocupados por la posible desaparición de las líneas de cerdo Ibérico. Finalmente la firma de un convenio del INIA con la asociación AECERIBER ha asegurado por unos años la conservación de los animales y la realización de futuros trabajos de investigación en un nuevo emplazamiento en la vega del Guadiana. Sesenta y ocho años después, los descendientes de las cuatro estirpes que llegaron a Oropesa en 1944-45 emprendieron el camino de vuelta a la tierra de sus antepasados.

## RESULTADOS

El propio Odriozola publicó dos extensas publicaciones con los resultados de sus dos principales estudios sobre nutrición y genética de cerdos Ibéricos. En el primero, la comparación de cerdos Ibéricos con *Large White*, mediante ensayos bajo diversos planos nutritivos y niveles proteicos, permitió cuantificar el superior apetito de los primeros, su inferior eficiencia de conversión y su menores necesidades proteicas (Odriozola, 1969). El segundo, un estudio genético-estadístico de los datos acumulados en la piara financiado por la Fundación March, fue finalizado poco antes de su fallecimiento y publicado a título póstumo (Odriozola, 1976). La mayor parte de las publicaciones y comunicaciones generadas por la investigación realizada en la piara corresponde a la época posterior, con otros formatos y una mayor presión por la rápida presentación de resultados. Al redactar esta ponencia, el número aproximado de artículos publicados en revistas indexadas es de 92, de los que algo más de la mitad corresponden a trabajos realizados sobre las estirpes de la piara y el resto a estudios realizados sobre los cruces experimentales generados a partir de *Guadyrbas* (IBMAP y MEIBMAP). En cuanto a las comunicaciones a congresos, al menos 52 han sido presentadas sólo en la Sección de Genética de las catorce ediciones previas de estas Jornadas, y otras siete se presentan en las actuales. Un somero repaso de los resultados nos permite señalar seguidamente algunos de los más notables.

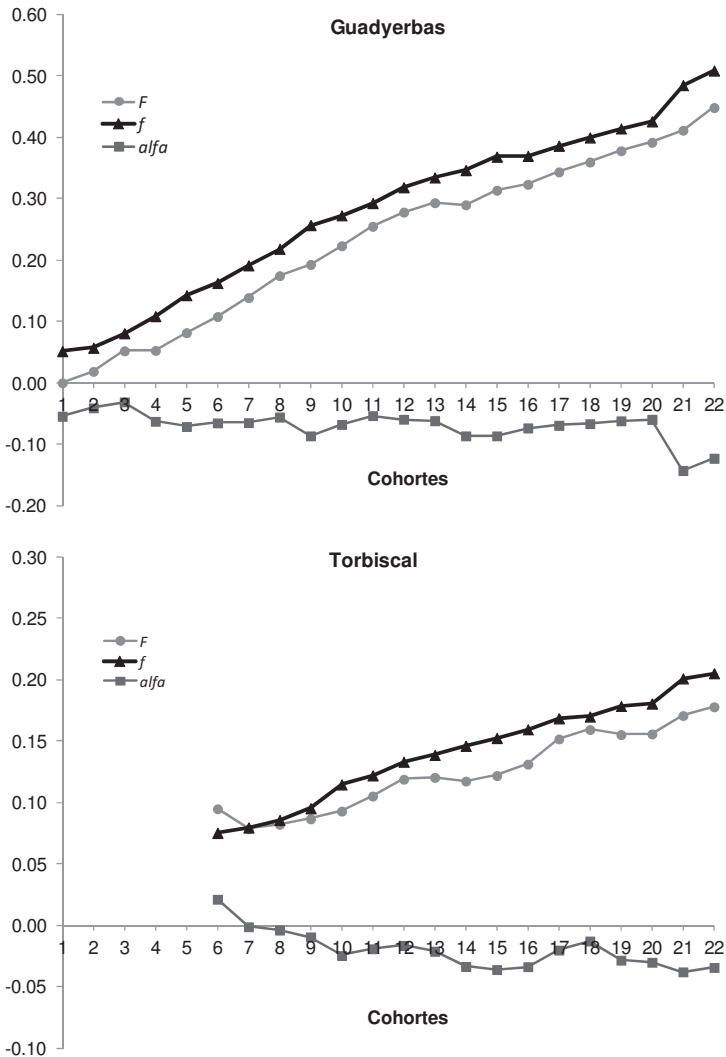
### *Diferencias y heterosis entre estirpes*

El estudio de los registros de crecimiento y tamaño de camada obtenidos en el diseño dialélico permitió evaluar el potencial productivo del cruce entre cerdos Ibéricos de diferentes orígenes. Los valores de heterosis estimados entre estirpes superan los habitualmente encontrados en los cruces entre razas, lo que pudiera atribuirse a la elevada consanguinidad de aquellas. En el crecimiento hasta 95 Kg, la heterosis media equivale al 14,6% de la ganancia media diaria con alimentación restringida y al 10,9% con alimentación *ad libitum* (Fernández et al., 2002b). Valores significativos de heterosis específica fueron asimismo estimados para el peso final de engorde a 14 meses entre los seis pares de líneas, con valores comprendidos entre +12,7 y +17,7 Kg. El crecimiento de la línea *Ervideira* fué claramente superior al resto. En cuanto al tamaño de camada, no se observaron efectos heteróticos en los dos primeros partos y

se estimaron valores significativos de heterosis para el número de nacidos vivos a partir del tercer parto en cinco de las seis combinaciones de estirpes, con valores entre +0,5 y +1,0 lechón por camada (García-Casco et al., 2012).

### Consanguinidad y sus efectos

El aislamiento de la piara ha propiciado numerosos análisis genealógicos de los cambios en el parentesco y consanguinidad (Toro et al., 2000), y de los efectos negativos de ésta sobre diferentes caracteres. La evolución del parentesco ( $f$ ), la consanguinidad ( $F$ ) y el coeficiente de aleatoriedad de los apareamientos ( $\alpha$ ) a lo largo de las sucesivas cohortes de reproductores *Guadyervas* y *Torbiscal* se representa en las siguientes figuras.



Los efectos de la consanguinidad sobre caracteres reproductivos se han estimado a partir de registros obtenidos a lo largo de un período largo de tiempo (Toro et al., 1988; Rodríguez et al, 1994). Ya hemos comentado las limitaciones de estos estudios, que

en lo que se refiere a caracteres de crecimiento se han podido complementar en experiencias basadas en animales contemporáneos en los que el diseño de apareamientos ha favorecido una amplia dispersión de la consanguinidad (Fernández et al., 2002a). La posible sustitución de los coeficientes de parentesco y consanguinidad por medidas basadas en diferentes marcadores genéticos fue asimismo objeto de otros estudios (Toro et al., 2002; Silió et al., 2013).

### *Evaluación genética y selección*

A partir de la información registrada en la piara se han obtenido estimas de heredabilidades, correlaciones y diferentes coeficientes ambientales para los principales caracteres reproductivos, de crecimiento y calidad de canal y carne. El análisis retrospectivo de los datos registrados permitió asimismo obtener estimaciones de los cambios genéticos resultantes de la selección realizada durante un período para algunos caracteres. La siguiente figura muestra las medias anuales de los valores mejorantes para el peso a 240 días estimados en animales *Torbiscal*.

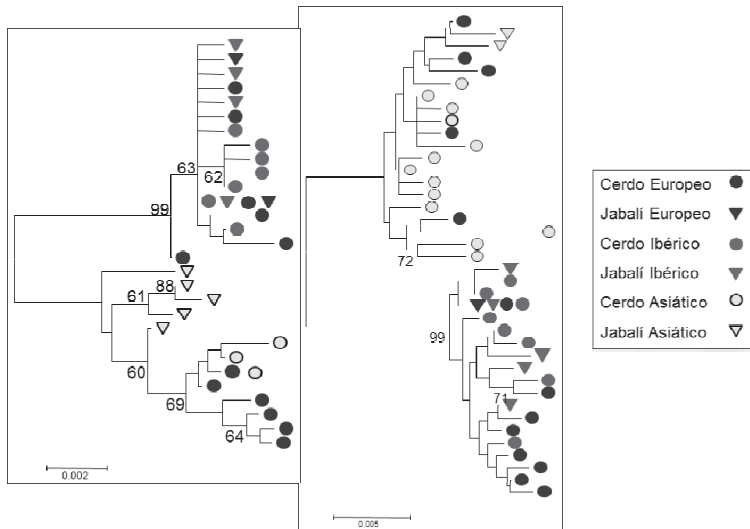


En estos estudios, basados en el modelo animal, se utilizaron en ocasiones técnicas estadísticas bayesianas. Hay que citar que una de las primeras aplicaciones en el área de la mejora genética animal de estas técnicas –que convulsionaron la genética cuantitativa durante años- implementadas mediante muestreo de Gibbs se realizó por parte de investigadores de la Universidad de Illinois sobre los datos de tamaño de camada de *Guadyerbas* (Wang et al., 1994). Estas técnicas se aplicaron asimismo a problemas complejos como la base genética del número de mamas y su asimetría fluctuante (Fernández et al., 2004a) o la posible variación genética del cociente sexual en cerdos (Toro et al., 2006).

Asimismo mediante un procedimiento bayesiano se estimaron, a partir de los datos registrados en los animales de ambas líneas (seleccionada y control), los cambios genéticos registrados en el ya citado experimento de selección para crecimiento magro basado en registros tempranos. La selección fue efectiva para ambos caracteres, con un significativo progreso genético de la línea seleccionada de +2,7 Kg de aumento de peso a 120 días y -1,2 mm de reducción del espesor de grasa dorsal a 40 Kg. La comparación productiva de las líneas a pesos comerciales mostró diferencias significativas para algunos caracteres -aunque de pequeña magnitud- y una notable disminución en la línea seleccionada del contenido en grasa intramuscular en lomo no deseable al tratarse del principal parámetro de calidad.

### *Filogenia y diversidad genética de cerdos Ibéricos*

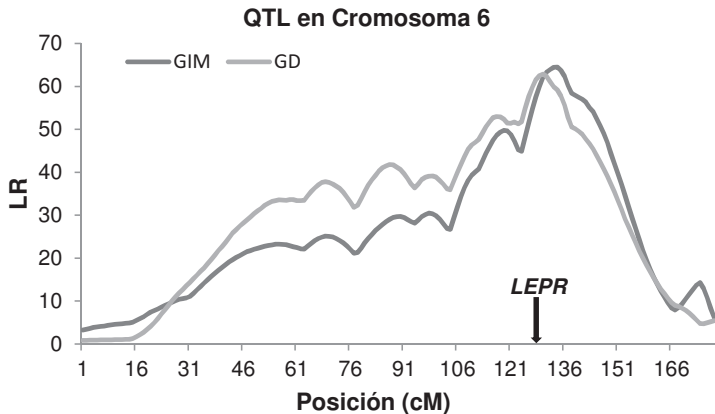
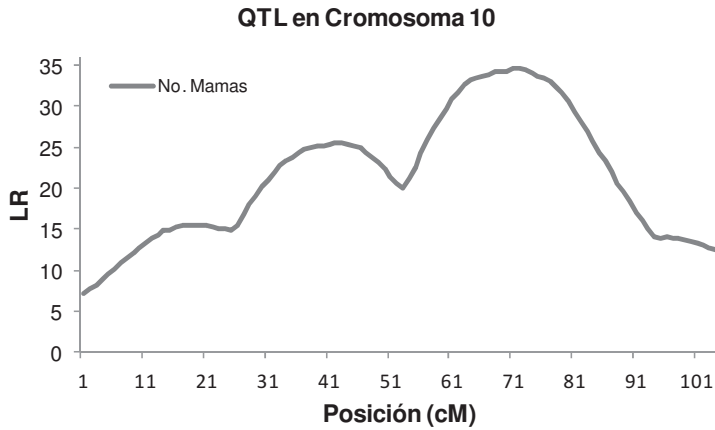
Utilizando diferentes marcadores genéticos se analizó la diversidad genética de *Torbiscal* y *Guadyerbas* y se estudió su relación con otras líneas Ibéricas (Ovilo et al., 2000; Fabuel et al., 2004; Rodrigáñez et al., 2008). Estos trabajos aportaron notable información sobre la estructura de la población de cerdos Ibéricos y la determinación de prioridades en la conservación de su patrimonio genético. Mediante estudios de ADN mitocondrial (mtDNA) se estableció la relación genética de los cerdos Ibéricos con jabalíes nacionales y otras razas porcinas internacionales, mostrando que a diferencia de éstas el cerdo Ibérico no presenta indicios de introgresión de germoplasma porcino de origen asiático (Alves et al., 2003). Los dendrogramas contruidos a partir de 29 secuencias del gen *CytB* y 39 de la región *D-loop* se presentan en la siguiente figura.



Los estudios de mtDNA se extendieron al empleo de secuencias completas utilizadas en la estimación del tiempo de divergencia entre los ancestros de cerdos de origen asiático y europeo, así como el transcurrido desde la domesticación de estos últimos (Fernández et al., 2010). De éstas y otras investigaciones orientadas al estudio de genes relacionados con el prototipo racial del cerdo Ibérico (color, densidad de pelo etc) se derivó el hallazgo de marcadores diagnóstico útiles en la verificación del origen racial de animales Ibéricos puros o cruzados y de sus productos (Fernández et al., 2004b; Alves et al., 2009). Asimismo se desarrollaron paneles de microsátélites adecuados para la verificación de la filiación en cerdos Ibéricos así como para comprobar la trazabilidad individual basada en chips electrónicos.

#### *Detección de QTLs y análisis de genes candidatos en cruces experimentales*

El material obtenido a partir de los cruces de *Guadyerbas* con razas divergentes para crecimiento magro (*Landrace*, IBMAP) o caracteres reproductivos (*Meishan*, MEIBMAP) ha permitido la realización de un gran número de estudios de detección de QTLs y de análisis de los posibles genes candidatos subyacentes, reflejados hasta ahora en más de una docena de tesis doctorales, unos 45 artículos científicos en revistas SCI y en la base de datos PigQtlDb que recoge toda la información disponible sobre QTLs en porcino. Las figuras siguientes muestran dos ejemplos de QTLs en los cromosomas 10 y 6 con importantes efectos sobre Número de mamas y Grasa dorsal e Intramuscular, detectados en el material MEIBMAP e IBMAP respectivamente.



A los trabajos iniciales de barrido genómico con modelos de creciente complejidad para la detección de efectos aditivos, dominantes o epistáticos (Óvilo et al., 2002; Varona et al., 2002; Clop et al., 2003; Rodríguez et al., 2005; Noguera et al., 2009) siguieron otros estudios encaminados a la búsqueda de sus posibles mutaciones causales. Los mayores progresos en este sentido se han realizado en los genes *LEPR* y *ELOVL6* candidatos posicionales y funcionales a respectivos QTLs detectados en los cromosomas 6 y 8. La leptina (*LEP*) y su receptor (*LEPR*) regulan el balance energético, consumo de alimento, composición y peso corporal mediante señalización hipotalámica. La mutación *LEPR*c. 1987C>T ha sido fuertemente asociada con el consumo voluntario de pienso, crecimiento y espesor de grasa en los animales de ambos cruces experimentales (Óvilo et al., 2005; Muñoz et al., 2009), y la expresión en el hipotálamo de este gen y de los genes *NPY* y *CART* está condicionada al genotipo para el citado polimorfismo (Óvilo et al., 2010). La elongasa *ELOVL6* cataliza la etapa limitante en la elongación de ácidos grasos en mamíferos. El polimorfismo *ELOVL6*c.-533C>T está fuertemente asociado al contenido en palmítico y palmitoleico tanto en grasa dorsal como intramuscular, y los animales con diferentes genotipos presentan diferencias de expresión en grasa subcutánea de este gen (Corominas et al., 2013).



## *Genómica de cerdos Ibéricos*

Los trabajos más recientes han incorporado el uso de las nuevas técnicas de genotipado masivo de SNPs, análisis de transcripción y secuenciación. El genotipado, mediante el Porcine60K BeadChip, de animales del antiguo experimento de selección para crecimiento magro, ha permitido evaluar los cambios inducidos por la selección realizada en algunas regiones del genoma e identificar en ellas genes relacionados con el espesor de grasa, carácter con mayor respuesta (Rodríguez et al., 2012). Asimismo mediante arrays de expresión se ha comparado el perfil de transcripción génica en el músculo de lechones *Torbiscal* y cruzados *Duroc x Torbiscal*, con el fin de identificar genes responsables de sus distintos patrones de crecimiento desde estadíos muy tempranos del desarrollo. La interpretación funcional de los 196 genes diferencialmente expresados mostró el enriquecimiento de funciones biológicas estrechamente relacionadas con el desarrollo y adipogénesis del tejido muscular (Benítez et al., 2012).

En el material IBMAP el empleo de estas nuevas técnicas genómicas ha permitido obtener, a partir de una densidad de marcadores muy superior a la proporcionada por los microsatélites, nuevos mapas de ligamiento (Muñoz et al., 2011) y realizar nuevos barridos genómicos (Ramayo-Caldas et al., 2012a; Fernández et al., 2012). El uso de RNAseq ha permitido comparar el transcriptoma en diferentes tejidos de individuos extremos para distintos caracteres (Ramayo-Caldas et al., 2012b).

Por último, la iniciativa del grupo de Miguel Pérez-Enciso (UAB-ICREA) ha permitido disponer de las primeras secuencias, de cobertura creciente, del genoma de reproductores del 'Dehesón del Encinar' (Esteve-Codina et al., 2011). Su comparación con las de otros cerdos Ibéricos o las de animales de otras razas ha permitido identificar nuevos aspectos de la variación estructural del genoma porcino así como regiones cromosómicas enriquecidas en genes selectivamente no neutrales relacionados con comportamiento, incluyendo la ingesta voluntaria, así como el metabolismo lipídico (Esteve-Codina et al., 2013).

## *De la nutrición a la nutrigenómica*

Entre los resultados de los diversos trabajos realizados en la pira por el grupo de Clemente López-Bote sobre los diferentes aspectos del engorde en *montanera* destacan la determinación de los efectos positivos de la ingesta de hierba y ejercicio sobre la acumulación de ácidos grasos  $n - 3$  tanto en grasa dorsal como en la fracción polar de la intramuscular, favoreciendo el valor nutricional de la carne (Rey et al., 2006). Los últimos trabajos de nutrición se han completado con estudios de expresión génica enfocados a la detección de genes con expresión condicionada por tratamientos nutricionales como dietas con diferente composición de ácidos grasos o con restricción en el contenido en vitamina A. Generalmente la magnitud de las diferencias entre tratamientos observadas en el transcriptoma de los principales tejidos relacionados con la adipogénesis resultó inferior a la esperada, lo que hace aconsejables diseños con muestreos más amplios o bien el recurso a métodos de análisis de la expresión génica más precisos. En las presentes jornadas se presentan algunos prometedores resultados en esta línea de investigación, que corresponden a uno de los ensayos en curso en el momento en que se determinó nuestro desahucio (Ayuso et al., 2013).

## **DISCUSION**

El planteamiento inicial de la pira y los trabajos directamente dirigidos por Odriozola revelan nítidamente su condición de ilustrado criador de cerdos, palabras con que le gustaba describirse. Como científico ilustrado –lo primero no siempre va unido a lo segundo- procuró llevar a cabo experiencias reproducibles o al menos con un pequeño

error medio de sus repeticiones. Su faceta de criador de cerdos, por tradición familiar y vocación personal, le hizo orientar sus investigaciones a la obtención de conocimientos aplicables en la mayor extensión posible. Era consciente de que la precisión deseable de la investigación en biología aplicada requiere muchas veces de artificios experimentales, a costa de la posible generalización de los resultados. Pero ante la disyuntiva entre precisión y generalidad tomó partido por la segunda. Los datos debían obtenerse con mínimo artificio y máximo rigor en su registro, y la actividad científica volcarse en su más exhaustivo análisis. Este enfoque tenía como implicación el recurso a los métodos estadísticos desarrollados por la escuela de Fisher, que Odriozola había conocido de su autor durante su estancia en Cambridge: diseños aleatorios, estimación por máxima verosimilitud y análisis de dispersión y codispersión.

En consecuencia, el manejo de los animales reproducía el habitual en las ganaderías de la época, si bien se impuso en la piara una colección de reglas y cautelas que –sin alterar el mismo– permitía el registro sistemático y fiable de genealogías, identificaciones, adopciones, datos reproductivos y de crecimiento de los animales y de despiece de las canales de los sacrificados en el pequeño matadero de la propia finca. Odriozola y Zuzúarregui supieron contagiar su entusiasmo por el trabajo bien hecho a los trabajadores a cargo de los animales, quienes –años después de la desaparición de ambos– recordaban orgullosos como Don Miguel afirmaba que la genealogía de la piara era más segura que las de las casas reales europeas, o como las partidas del despiece volvían a pesarse de nuevo si su suma difería más de medio kilo del peso de la canal.

El aforismo de Machado ‘Despacio y buena letra: el hacer las cosas bien importa más que hacerlas’ describe de forma exacta tanto el perfeccionismo como el sentido del tiempo impuesto al trabajo en la piara experimental. Se dedicaron un par de años al rodaje inicial, unos quince a la obtención de la información generada por el cruce dialéctico, tres más para llevar a cabo la fusión de las estirpes y otros ocho a la selección de la línea compuesta resultante *Torbiscal*. La duración de cada fase era la necesaria para abordar la siguiente con razonable esperanza de éxito. El resultado fue excelente. Aunque ningún colono de los regadíos del Plan Badajoz recibió un cerdo de ‘El Dehesón’ destinado a su matanza familiar, muchos ganaderos criadores de cerdos Ibéricos pudieron adquirir reproductores *Torbiscal* de crecimiento y rendimiento de piezas nobles muy superior al de las variedades de cerdo Ibérico conocidas hasta entonces. Esta superioridad se mantenía en comparaciones independientes realizadas más recientemente por técnicos de la Diputación de Huelva y del SIA de la Junta de Extremadura.

La difusión de reproductores de la piara experimental facilitó notablemente la recuperación del cerdo Ibérico tras la fortísima reducción de su censo entre los años 1960 y 1980. La actividad a favor de la conservación del cerdo Ibérico, en especial de alguna de sus variedades más amenazadas, ha sido un signo distintivo del trabajo en ‘El Dehesón’. Esta actividad se inicia con la decisión de mantener, dada su fascinante singularidad genética, la línea *Guadyrvas* representativa de la variedad Negro Lampiño del Guadiana, que por ser extremadamente grasa comenzaba a ser desechada por los ganaderos. En aquel momento (1962) nadie hablaba de conservación de recursos genéticos animales y el censo de reproductoras Ibéricas ascendía todavía a unos cientos de miles de cerdas. El interés por la conservación no sólo ha orientado la gestión genética de una piara de reducido número de reproductores, sino que además ha inspirado muchos de los estudios en ella realizados sobre diversidad genética y alélica, parentesco, consanguinidad y depresión consanguínea y sus alternativas de medida. Siempre hemos pretendido hacer una conservación activa, en la que las características distintivas de los animales preservados permitieran obtener conocimientos de interés en el ámbito de la genética, nutrición y producción porcina. Encontramos siempre grupos de investigadores de otros centros dispuestos a compartir esta tarea, que excedía la capacidad de los responsables directos de la conservación de la piara. Muchos de los trabajos descritos

en el anterior apartado, en especial los relacionados con los cruces experimentales, son una muestra de que la coordinación entre distintos equipos permite alcanzar logros inalcanzables por separado para cada uno de ellos. Sin embargo, la dinámica prueba y error es casi ineludible en el trabajo de investigación y en otras ocasiones los intentos de colaboración resultaron parcial o totalmente fallidos. No siempre lo deseable es factible.

A veces algún colega nos ha preguntado, ¿cómo es que la piara de 'El Dehesón' ha durado tanto tiempo? La pregunta es especialmente lógica si además consideramos que a lo largo de sus muchos años ha dependido administrativamente de cuatro organismos públicos (INC, IRYDA, INIA y SIA de la JCCM), tres de los cuales poseían escaso o nulo interés por la investigación agraria. Hay posiblemente varias causas, entre ellas la inercia que confiere el tamaño, pero sin duda la principal es que hubo siempre personas con la motivación y compromiso necesarios (y hasta hace un año suficientes) para seguir adelante con una empresa que daba sentido a su trabajo profesional. En este punto resulta esclarecedor citar la distinción entre trabajo, faena y obra, diseccionada por el escritor Luis Magrinyá en el prólogo de su novela *Los dos Luises*. La primera palabra, y sus equivalentes en todas las lenguas románicas, derivan del latín vulgar *tripalium*, que en el siglo VI describía una especie de cepo de tres palos en forma de cruz en el que los reos sufrían tormento. Su significado figurado pasó de pena o castigo a esfuerzo penoso y finalmente a trabajo en el sentido actual. La palabra faena (una faena agrícola por ejemplo) deriva del latín *facienda* (cosas por hacer), mientras que obra procede de la voz *opera*, referida al cuidado o atención puestos en una actividad o a su efecto. Quienes trabajamos en la piara envidiamos en los peores momentos a los reos de tormento medieval, pero fueron más las veces en que nos divertimos manos a la obra en las faenas de que éramos responsables. El trabajo no fue -al menos en esos momentos- un castigo divino sino un juego tan estimulante como las mejores vacaciones.

Algunas de las características del 'Dehesón del Encinar' corresponden a una época ya pretérita y resultan hoy sin duda anacrónicas. Pero las más importantes (ambición y relevancia de sus objetivos, rigor en el planteamiento del trabajo, autoexigencia en su ejecución y permanente voluntad de innovación) siguen estando vigentes. Nuestra actual investigación en producción animal está en ocasiones ensimismada en objetivos inanes, sus recursos materiales y humanos están fragmentados en un número de proyectos probablemente excesivo, y los investigadores -particularmente los más jóvenes- demasiado presionados hacia el rápido logro de múltiples publicaciones, ajustadas muchas de ellas a la mínima unidad publicable. Cuando se produzca su necesaria reorientación, sería bueno recordar junto a otros referentes igualmente válidos esta larga experiencia de la piara de 'El Dehesón', por mil motivos ya irrepetible.

### **Agradecimientos**

Afortunadamente compartimos nuestro trabajo en la piara con muchos amigos, especialmente (por orden de intervención) María Teresa Dobao, Miguel Toro, Carmen Rodríguez, Almudena Fernández y Juan García-Casco. Para superar distintos problemas sanitarios y otros contamos con el impagable apoyo de Félix Valcárcel, Juan José Mateos, Pedro Martín-Palomino y Pablo García-Ramos. Los trabajadores de 'El Dehesón' han sido fundamentales en la larga travesía de la piara, y su dedicación y cariño por su trabajo -transmitidos en ocasiones de padres a hijos- se mantuvieron ejemplarmente intactos hasta la salida del Centro del último cerdo.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Alves E 2003. *Anim. Genet.* 34: 319-324. • Alves E 2009. *Animal* 3(9): 1216-1223.
- Ayuso M et al. 2013. *XV Jornadas de Producción Animal*, Zaragoza, 14-15 de Mayo.

• Benítez R et al. 2012. *XVI Reunión de Mejora Genética Animal*, Ciutadella de Menorca, 30 Mayo-2 de Junio. • Clop A et al. 2003. *Mamm. Genome*. 14: 650-656. • Corominas J et al. 2013. *PLoS ONE* 8(1): e53687- • Esteve-Codina A et al. 2011. *Heredity* 107: 256–264. • Esteve-Codina A et al. 2013. *BMC Genomics* 14: 148. • Fabel E et al. 2002. *Heredity* 93: 104-113. • Fernández A et al. 2002a. *J. Anim. Sci.* 80: 2267-2275. • Fernández A et al. 2002b. *Livest. Prod. Sci.* 73: 213-223. • Fernández A et al. 2004a. *Heredity* 93: 222-227. • Fernández AI et al. 2004b. *J. Sci. Food Agric.* 84: 855-1860. • Fernández AI et al. 2010. *Anim. Genet.* 42: 86-88. • Fernández AI et al. 2012. *BMC Genetics* 13: 41. • Garcia-Casco J et al. 2012. *Livest. Sci.* 147: 1-8. • Muñoz M et al. 2011. *Anim. Genet.* 43: 620–623 • Muñoz G et al. 2009. *J. Anim. Sci.* 87: 459-468. • Noguera JL et al. 2009. *BMC Genomics* 10: 636. • Odriozola M et al. 1969. *Estabulación de cerdos ibéricos*, Ministerio de Agricultura, INC, 209 pp. • Odriozola M. 1976. *Investigación sobre los datos acumulados en dos pjaras experimentales*, Ministerio de Agricultura, IRYDA, 146 pp. • Óvilo C et al. 2000. *Anim. Genet.* 31(2): 117-122. • Óvilo C et al. 2002. *J. Anim. Sci.* 80: 2801-2808. • Óvilo C et al. 2005. *Genet. Res.* 85: 57-67. • Óvilo C et al. 2010. *Mamm. Genome*. 21: 583-591. • Ramayo-Caldas Y et al. 2012a. *J. Anim. Sci.* 90: 2883-2893. • Ramayo-Caldas Y et al. 2012b. *BMC Genomics* 13: 547. • Raw WM et al. 2013. 64<sup>th</sup> EEAP Annual Meeting, Nantes, 26-30 Agosto. • Rey AI et al. 2010. *Food Chemistry* 123: 1170-1175. • Rodrigáñez J et al. 2008. *Span. J. Agric. Res.* 6 (Special issue): 107-115. • Rodriguez MC et al. 1994. *J. Anim. Breed. Genet.* 111 (3): 220-227. • Rodriguez MC et al. 2005. *Anim. Genet.* 36: 490-496. • Rodriguez MC et al. 2012. *XVI Reunión de Mejora Genética Animal*, Ciutadella de Menorca, 30 Mayo-2 de Junio. • Silió L y Malpica JM. 2003. Miguel Odriozola Pietas, ilustrado criador de cerdos. En *Los orígenes de la genética en España* (M Candela, Ed): 335-357, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales, 436 pp. • Silió L et al. 2013. *J. Anim. Breed. Genet.* doi:10.1111/jbg.12031. • Toro MA et al. 1988. *Anim. Prod.* 46: 79-85. • Toro MA et al. 1998. *Genet. Sel. Evol.* 30: 585-600. • Toro MA et al. 1999. *Genet. Sel. Evol.* 31: 255-261. • Toro MA et al. 2000. *Conserv Biol.* 14(6): 1843-1851. • Toro MA et al. 2002. *Conserv. Genet.* 3: 309-320. • Toro MA et al. 2006. *Genetics* 173: 911—917. • Varona et al. 2002. *Genet. Res.* 80: 145-154. • Wang CS et al. 1994. *Genet. Sel. Evol.* 26: 91-115.

*Sistemas ganaderos*  
*Economía y gestión*



## FRECUENCIA DIÁRIA DE ORDEÑO EN VACAS PRIMÍPARAS CON DIFERENTES NIVELES DE PRODUCCIÓN EN UN SISTEMA DE ORDEÑO VOLUNTARIO

Almeida, J.C.<sup>1</sup>, Cerqueira, J.O.L.<sup>2</sup>, Lopes, S.<sup>1</sup>, Silvestre, M.<sup>1</sup>, Araújo, J.P.<sup>3</sup>, Silva, S.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CECAV Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.

Email: [jalmeida@utad.pt](mailto:jalmeida@utad.pt)

<sup>2</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo

<sup>3</sup>Centro de Investigação da Montanha (CIMO), ESA - Inst. Polit. Viana do Castelo

### INTRODUCCIÓN

El ordeño de las vacas es una tarea que consume tiempo y requiere un gran esfuerzo por parte del productor. Por esta razón, los equipos de ordeño han sido objeto de un desarrollo tecnológico enorme, visando aumentar su automatización. El objetivo es no sólo hacer con que el proceso de ordeño sea más eficiente y con menor riesgo para la salud de la ubre de la vaca, para su bienestar, sino que también proporcionar una mayor comodidad y calidad de vida mediante la producción y liberación de mano de obra para llevar a cabo otras tareas relacionadas con el proceso de producción de las vacas lecheras (Siegford y Jacobs, 2012). Este desarrollo culminó en los años 90, con la introducción del concepto de sistema de ordeño voluntario (SVO), cuyo éxito se traduce en cerca de 8.000 unidades actualmente en operación en el mundo (Pettersson *et al.*, 2011). El SVO representa una inversión considerable para el productor. Su rendimiento económico depende de la cantidad y calidad de la leche producida que, a su vez, depende del número de ordeños por vaca y la cantidad de leche producida en cada ordeño (Pettersson *et al.*, 2011). Por lo tanto, para el éxito de la SOV, es fundamental entender el comportamiento de los animales y los factores que lo afectan, incluso los relacionados con el medio ambiente y la gestión de operaciones (Jacobs *et al.*, 2012). Para asegurar un alto número de visitas a la SVO, las vacas deben ser motivadas. El efecto de los mecanismos de la motivación varía de un animal a otro y depende de varios factores. El diseño del establo de vacas y el acceso a las áreas de alimentación son cruciales en este proceso. Uno de los mecanismos de motivación más utilizado con frecuencia es la provisión de un concentrado de alta palatabilidad (Jacobs *et al.* 2012). Este trabajo tiene como objetivo estudiar la frecuencia y distribución a largo del día las visitas al SVO de un grupo de vacas de primera lactancia de acuerdo con su nivel de producción y discutir algunos de los factores que puedan haber influido en este comportamiento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado los datos de una explotación de leche en el municipio de Póvoa de Varzim, Portugal, que tiene una SVO con 2 robots. Esta granja presenta 130 vacas en lactancia con una producción media de 12.403 kg de leche a los 305 días. Las vacas en producción tienen diariamente una dieta base suplementado con 1,2 a 8,7 kg de concentrado, distribuido en los robots de ordeño, calculados en función de los días de lactación y de la producción de leche de cada vaca. Ha sido establecido un máximo y mínimo, respectivamente, 8 y 3 ordeños por día y un tiempo máximo de 12 horas entre las visitas a la SVO. Se utilizaron datos de 18 vacas en primera lactancia, los cuales fueron divididos en 3 grupos de 6 animales cada uno, dependiendo de su nivel de producción individual (alto, medio y bajo) obtenido a partir de los datos del contraste lechero oficial (Tabla 1) La fecha y hora de entrada en el robot de ordeño y la producción de leche fueron recolectadas por el software SVO y exportados a una hoja de cálculo de Microsoft Office Excel para la organización y posterior análisis estadístico, con el paquete JMP. Se determinó la frecuencia de ordeño por día, en función del lote (bajo, medio y alto) y su distribución en las 24 horas del día. Para evaluar las diferencias se ha realizado una ANOVA y comparado las medias con el test Tukey-Kramer HSD.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran que el número medio de ordeños por día ha variado ( $P < 0,05$ ) con el lote de producción (Tabla 2) siendo superior en las vacas con alto nivel de producción ( $3,7 \pm 0,22$ ) y menor en el lote de producción baja ( $2,9 \pm 0,22$ ), en conformidad con los resultados obtenidos por Hogeveen *et al.* (2001) y Pettersson *et al.* (2011). La distribución de

los ordeños durante el día también fue diferente (Figura 1) y se encontró picos máximos cerca de 4, 8, 13 horas y entre 21 y 23. En oposición, los valores mínimos se registraron en horas antes de éstos (1, 7, 10 y hora 18). Se realza la coincidencia entre estos valores mínimos y las horas programadas para: i) la limpieza del robot de ordeño (1, 7 y 16 horas), ii) la distribución de alimentos con unifeed (10 horas) y iii) revuelto de los alimentos y su acercamiento a los comederos (18 horas). Resultados similares han sido obtenidos por Winnicki *et al.* (2010) y Belle *et al.* (2012). Por otra parte, el hecho de que las horas de ordeño ocurren más frecuentemente con un aplazamiento de 1 a 3 horas para estas operaciones de rutina puede ser debido a la posición jerárquica de animales en estudio, ya que proviene de vacas en primera lactancia que, frecuentemente, están dominadas por las vacas adultas.

El patrón de distribución de los ordeños durante el día son similares para los tres lotes (Figura 1), mientras que las oscilaciones existentes en unas pocas horas se puede explicar no solamente por las diferencias fisiológicas inherentes al nivel de producción y la presión intra-mamaria, pero también por el posicionamiento individual de los animales en la cadena jerárquica. Aproximadamente a las 8 y 20 horas el ganadero lleva al robot las vacas que no han sido ordeñadas durante 12 o más horas. Esto puede explicar las diferencias entre lotes observadas en estas horas. Teniendo en cuenta este hecho, se puede concluir que el número de vacas con intervalos de más de 12 horas entre ordeños es inferior en un lote de producción elevada, en consonancia con el número medio de ordeños por día (Tabla 2).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Belle, Z., Andre, G. & Pompe, J. C., 2012. *Biosystems Engineering*, 3:33-39. • Hogeveen, H., Ouweltjes, W., Koning, C. & Stelwagen, K., 2001. *Livest Prod Sci.* 72:157-167. • Jacobs, J. A. & Siegford J.M. 2012. *J. Dairy Sci.* 95:2227-2247. • Jacobs, J., Ananyeva, K. & Siegford, J., 2012. *J. Dairy Sci.* 95:2186-2194. • Pettersson, G., Svennersten-Sjaunja, K. & Knight, C. H., 2011. *J. Dairy Res.*, 78:1-6. • Winnicki, S., Kolodziejczyk, T., Glowicka-Woloszyn, R., Myczko, A. & Musielska, B., 2010. *Engineering for Rural Development*, 85-88.

**Tabla 1:** Nivel productivo y días de lactación medios en cada uno de los lotes

Lote	n	Producción media (kg 305 días)	Duración lactación (días)
Bajo	6	9736±301,3 <sup>a</sup>	297±11,6 <sup>a</sup>
Medio	6	11740±285,5 <sup>b</sup>	300±8,6 <sup>a</sup>
Alto	6	13479±526,6 <sup>c</sup>	300±10,8 <sup>a</sup>

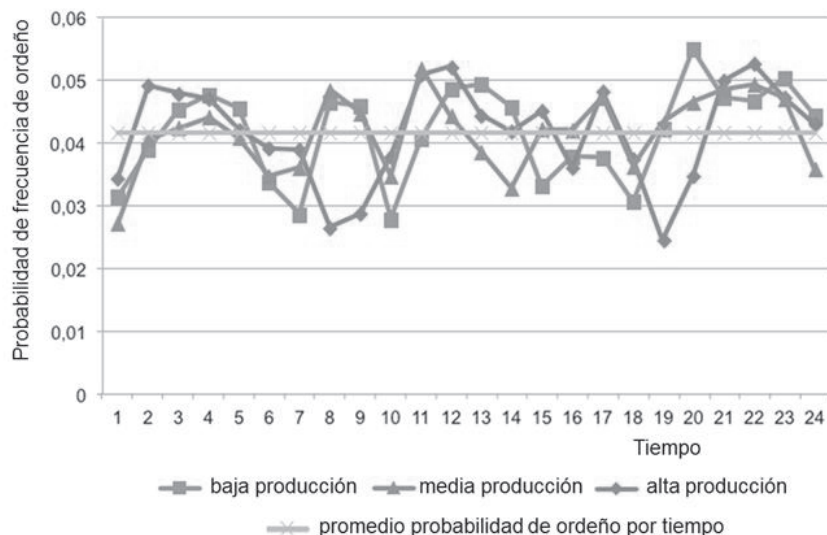
a≠b≠c p≤0,05

**Tabla 2:** Número medio de ordeños por día y número total de ordeños en cada uno de los lotes

Lote	n	Nº ordeños/día	Nº total de ordeños
Bajo	6	2,9±0,22 <sup>a</sup>	861±155,1 <sup>a</sup>
Medio	6	3,2±0,23 <sup>b</sup>	960±175,8 <sup>ab</sup>
Alto	6	3,7±0,22 <sup>c</sup>	1100±177,5 <sup>b</sup>

a≠b≠c p≤0,05





**Figura 1:** Distribución del porcentaje de ordeños realizadas a largo del día en los distintos lotes de producción.

### MILKING FREQUENCY AND ITS DISTRIBUTION THROUGHOUT THE DAY IN PRIMIPAROUS COWS WITH DIFFERENT LEVELS OF PRODUCTION ON A AUTOMATIC MILKING SYSTEM

**ABSTRACT:** The present study aims to evaluate the behavior of primiparous dairy cows in an automatic milking system (AMS) over 24 hours throughout a full lactation. Data were collected on a dairy farm with 130 animals which has an AMS with two robots. The AMS software provided the pattern of visits to the AMS and milk production of each animal. For this work data from 18 cows were used, all in first lactation. Only the days in milk between day 1 and 305 were considered. These animals were divided into 3 groups of 6 animals each. The groups were formed on the basis of individual production level: low, medium and high. To perform the statistical analysis the JMP program was used. It was performed the calculation of descriptive statistics and the effect of different factors on the milking frequency, via ANOVA model and Tukey test for comparison of means. The results show that, in general, different groups follow the same pattern in relation to the milking frequency in AMS. The visits to AMS were lower in periods when system performs its cleaning and during the food distribution period in the feed bunk. Conversely, peak frequency of milking occurred after these activities and during the conducting of animals to the AMS. When the group effect was considered, statistically significant differences ( $P < 0.001$ ) were observed between the high production group which showed a high frequency of milking per day (3.7 visits) in relation to the other two groups (2.9 and 3.2 for low and medium groups respectively).

**Keywords:** automatic milking, milking robot, milking frequency, milk yield

## RELACIÓN ENTRE MEDIDAS BIOMÉTRICAS Y PESO VIVO EN VACAS LECHERAS DE RAZA FRISONA

Araújo, J.P.<sup>1</sup>, Cerqueira, J.O.L.<sup>2</sup>, Mendes, C.<sup>2</sup>, Penedo, I.<sup>3</sup>, Iglesias, A.<sup>4</sup>, Cadavez, V.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação da Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária do Inst. Polit. Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. Email: pedropi@esa.ipv.pt

<sup>2</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo

<sup>3</sup>Animal Welfare Subprogram, IRTA, Finca Camps i Armet, Girona, España

<sup>4</sup>Instituto de Biodiversidad Agraria y Desarrollo Rural. Universidad de Santiago de Compostela

<sup>5</sup>Centro de Investigação da Montanha (CIMO), ESA - Instituto Politécnico de Bragança.

### INTRODUCCIÓN

Las mediciones realizadas en animales vivos aumentan la precisión de los análisis de conformación, constituyendo, en zootecnia, un instrumento para determinar las dimensiones de los animales, realizar una investigación comparativa (Wilson *et al.*, 1997) y ser utilizadas como predictores indirectos del peso del animal (Heinrichs *et al.*, 1992). La relación entre las medidas y peso corporal depende de la raza, edad, aptitud, tamaño y condición corporal de los animales (Yanar *et al.*, 1995). La vaca Frisona presenta gran corpulencia, pudiendo alcanzar 154 cm de alzada a la grupa y pesar 600 a 700 Kg (APCRF, 2008). En vacas Holstein-Friesian, las medidas para la alzada a cruz y perímetro torácico (en cm) han sido de 139,1 y 202,5 (Ali *et al.*, 1984), 134,4 y 194,8 (Sieber *et al.*, 1988) respectivamente. El objetivo del presente estudio es conocer la relación entre medidas biométricas y el peso vivo de vacas de leche.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado mediciones biométricas en 236 vacas lecheras de 4 explotaciones de leche con robot de ordeño, en régimen de estabulación libre con cubículos, entre los meses de Abril a Diciembre de 2011. El número de lactaciones por vaca ha sido de  $2,0 \pm 1,2$ , los días de lactación  $195,8 \pm 128,2$  días, el número de ordeños/día de  $3,1 \pm 0,8$  y la producción diaria de leche de  $33,2 \pm 9,7$  kg. Se usaron los siguientes instrumentos de medida: bastón zoométrico (determinación de la alzada a la cruz - AlCru y alzada a la entrada de la grupa - AlGrup), cinta métrica (anchura de la grupa - AnGrup) y perímetro torácico - PeTor). Mediante el programa del robot de ordeño se han obtenido los datos del peso vivo - PeViv de las vacas. En el estudio estadístico realizado se calcularon los estadísticos descriptivos de las medidas y peso vivo, un análisis de componentes principales a partir de la matriz de correlaciones, con el método de rotación *Varimax* y se estimó la regresión lineal entre PeViv y PeTor. Se ha utilizado el paquete estadístico SPSS for Windows versión 15.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de las medidas (cm) fueron para la AlCru, AlGrup y PeTor  $139,83 \pm 4,77$ ,  $144,92 \pm 4,43$ ,  $56,49 \pm 3,99$  y  $202,62 \pm 10,01$  respectivamente (Tabla 1). Los resultados para la AlCru y PeTor son similares a los de Ali *et al.* (1984), y superiores a Sieber *et al.* (1988). El PeViv fue de  $609,55 \pm 80,16$  kg, ligeramente superior a los presentados por Enevoldsen *et al.* (1997). Los coeficientes de variación fueron reducidos para las distintas medidas corporales, con excepción del PeViv, con valor más elevado (13,15%). En la Tabla 2 se han expuesto los resultados de la estima de las correlaciones fenotípicas para el conjunto de las 5 medidas analizadas, sobre la muestra de 236 vacas. Todas las correlaciones calculadas fueron significativas ( $P < 0,001$ ). Los valores obtenidos son, en general, de moderados a altos. Las correlaciones fenotípicas más altas se producen entre las variables PeViv - PeTor (0,83), AlCru - AlGrup (0,78) y AnGrup - PeTor (0,71). Dada la alta correlación entre PeViv - PeTor en este estudio, se recomienda el uso del PeTor para prever el PeViv., en consonancia con Fouire *et al.* (2002), Willeke y Dursch (2002) y Bozkurt (2006). Se ha obtenido la siguiente ecuación:  $\text{PevViv} = 6,6679 * \text{PeTor} - 741,5$  (Figura 1). Del análisis de componentes principales de las medidas corporales y peso resultan dos componentes (Figura 2) que en su conjunto expresan el 85,4% de la variabilidad total. El

primer componente representa el 71,9% de la variabilidad, además todos sus coeficientes son positivos. Las variables más correlacionadas con este componente son el PeViv, el PeTor y AnGrupa, lo cual implica que podría considerarse como un factor de forma o conformación. El segundo componente, representa el 13,6% de la varianza total. El mayor porcentaje de la varianza explicada se asocia con la AlGrup y AlCru, expresando tamaño corporal. Posiblemente en otras épocas se valoraban las alzas para la entrada en el Registro Genealógico. Posteriormente los animales evolucionaron hacia un tipo más estilizado, con lo que los programas de mejora genética privilegiaron la conformación cárnica en detrimento de las alzas. Las alzas a la cruz, grupa, perímetro torácico y peso vivo presentan comunalidades elevadas (entre 0,86 y 0,91) con los componentes retenidos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

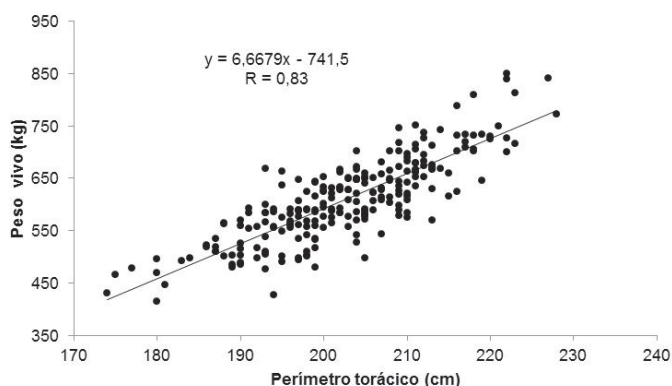
- Ali, T.E., Burnside, E.B. & Schaeffer, L.R., 1984. *J. Dairy Sci.* 67: 3034-3044.
- Associação Portuguesa de Criadores da Raça Frisia, 2008. *História*. Accedido en Jan. 7, 2013, disponible en: <http://www.apcrf.pt>
- Bozkurt Y., 2006. *J Appl Anim Res* 29, 29-32.
- Enevoldsen, C. & Kristensen, T., 1997. *J. Dairy Sci.*, 80, 9: 1988-1995.
- Fouire P.J., Nesor F. W. C., Oliver J.J. & Van der Westhizen C., 2002. *South African J Dairy Sci* 32, 256-62.
- Heinrichs, A.J., Rogers G.W. & Cooper, J.B., 1992. *J Dairy Sci* 75: 3576.
- Sieber, M., Freeman, A.E. & Kelley D.H., 1988. *J Animal Sci* 71: 3437-3445.
- Willeke, H. & Dürsch, T., 2002. *Arch Tierz* 45, 23-8.
- Wilson, L. L., Egan, C.L. & Terosky, T.L. (1997). *J. Dairy Sci.*, 80:3077-3082.
- Yanar, M., Tuzemen, N., Ozkan, M., Aydin, R. & Ugur F., 1995. *Turkish J Vet Anim Sci* 19, 357-60.

**Tabla 1.** Estadísticos descriptivos de las medidas biométricas y peso vivo de las vacas

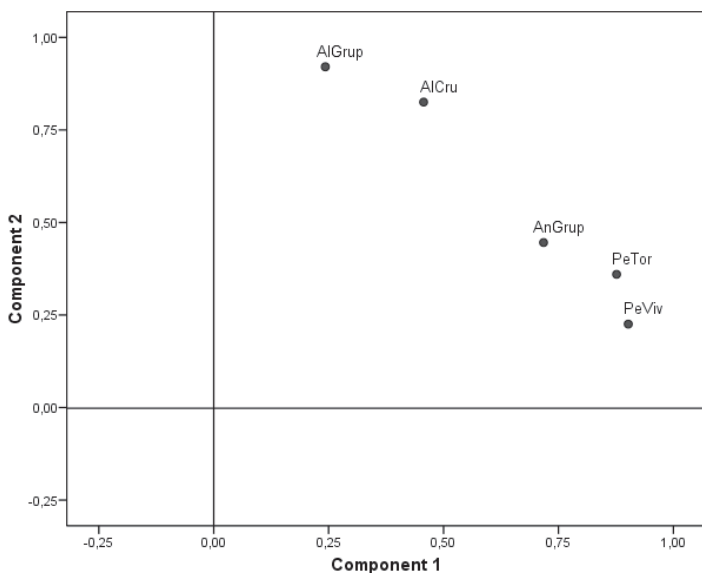
	Média±DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
AlCru	139,83±4,77	123,0	151,0	3,41
AlGrup	144,92±4,43	131,0	156,0	3,06
AnGrup	56,49±3,99	47,0	72,0	7,07
PeTor	202,62±10,01	174,0	228,0	4,94
PeViv	609,55±80,16	414,0	850,0	13,15

**Tabla 2.** Correlaciones fenotípicas entre medidas biométricas y peso vivo de las vacas

Medidas	AlCru	AlGrup	AnGrup	PeTor
PeViv	0,57	0,49	0,62	0,83
AlCru		0,78	0,69	0,70
AlGrup			0,52	0,55
AnGrup				0,71



**Figura 1.** Regresión entre perímetro torácico y peso vivo de vacas



**Figura 2.** Proyección de las variables sobre los ejes definidos por los dos primeros componentes principales.

#### RELATIONSHIP BETWEEN BIOMETRICS MEASUREMENTS AND LIVEWEIGHT OF FRIESIAN DAIRY COWS

**ABSTRACT:** This biometric study has been carried with 4 zoometric measurements and the live weight on a total of 236 Friesian dairy cows of 4 dairy farms with milking robot. The average values for the measures (cm) were: front height (AlCru)  $139.83 \pm 4.77$ ; rump height (AlGrup);  $144.92 \pm 4.43$ ; hip width (AnGrup)  $56.49 \pm 3.99$  and thorax perimeter (PeTor)  $202.62 \pm 10,01$ . With regard to the coefficient of variation, this one was within a rank of 3.06% in the rum height and 7.07% in the hip with. The average live weight (PeViv) was of  $609.55 \pm 80.16$  kg, presenting a coefficient of variation of 13.15%. All the phenotypic correlations between zoometric variables and live weight were significant ( $P < 0.001$ ). The highest values take place between thorax perimeter/live weight (0.83), front height/rump height (0.78), and hip width/ thorax perimeter (0.71). Live body weight had a linear relationship with thoracic perimeter with the following equation:  $PevViv = 6.6679 * PeTor - 741.5$ . One principal component analysis was computed. The first component accounted for 71.9% of the variation. The variables more correlated with this component are the thorax perimeter, live weight and hip width, expressing form or morphology. The second factor is mainly related with size, and was associated with front and rump height (13.6% of the total variance).

**Keywords:** *body measurements, live weight, Holstein-Friesian*

## ANÁLISIS DE IMAGEN A DISTANCIA PARA LA DETERMINACIÓN DE MEDIDAS BIOMÉTRICAS EN VACUNO

Silva, S.R.<sup>1</sup>; Cerqueira, J.O.L.<sup>2</sup>; Silvestre, M.<sup>1</sup>; Guedes, C.<sup>1</sup>; Santos, V.<sup>1</sup>; Silva, A.<sup>1</sup>; Almeida, J.C.<sup>1</sup>; Araújo, J.P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>CECAV - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.  
Email: [ssilva@utad.pt](mailto:ssilva@utad.pt)

<sup>2</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo.

<sup>3</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo.

### INTRODUCCIÓN

La obtención de medidas biométricas del ganado es una necesidad en muchos campos de la ciencia animal. Pueden señalarse los relacionados con la definición de características raciales (Negretti et al., 2008), con características de canal (Alonso et al., 2007), con el conforto de los animales (Cook, 2009) o con aspectos relacionados con el comportamiento productivo y reproductivo de los animales (Bewley et al., 2008). Un ejemplo de la necesidad de obtener medidas en los animales respecta al desarrollo corporal de novillas lecheras (Bewley et al., 2008; Halachmi et al., 2008). El conocimiento de las medidas corporales posibilita optimizar los programas de reemplazo de vacas y aumentar la vida productiva de los animales, con impacto directo en la producción de leche (Bewley et al., 2008). En la determinación de las medidas corporales se utilizan las herramientas tradicionales de la biometría, como la cinta métrica, báscula o hipómetro bastón (Dingwell et al., 2006; Negretti et al., 2008). El uso de este equipo requiere la sujeción de los animales implicando procedimientos laboriosos y con algunos riesgos para los operadores. El objetivo de este estudio fue obtener medidas corporales en vacas lecheras a distancia y en movimiento, mediante análisis de imagen.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En 49 vacas se han realizado mediciones morfológicas de alzada, longitud y anchura con un hipómetro bastón (Tabla 1). Hubo el cuidado de identificar con precisión las bases anatómicas asociadas con cada medida. Todas las vacas se midieron en una superficie horizontal con hormigón. En cada medida se han efectuado 3 lecturas y se ha considerado la media. Para obtener las medidas morfológicas a distancia, se ha construido un dispositivo con dos láseres rojos con 1 mW de potencia y 650 nm de longitud de onda, montado en posición paralelo en una estructura y con una distancia entre ellos de 31 cm. Los láseres proyectan en el animal dos puntos que se utilizan como escala. Entre los láseres se colocó una cámara de video (Sony DCR-TRV460,) para registro de imágenes. Con este equipo fueron realizadas películas de vacas después de haber estado en reposo. El equipo de obtención de medidas morfológicas a distancia (EMMD) se mantuvo a una altura de 155 cm en posición paralela al suelo para proyectar haces de láser perpendiculares a la vaca. Para la anchura bi-iliaca se han obtenido imágenes con los animales inmovilizados. Las películas fueron exhibidas y recogidas imágenes en formato TIFF de 32 bits con 150 dpi de resolución vertical y horizontal y con 1498 x 937 píxeles. Para obtener medidas morfológicas a la distancia equivalentes a las mediciones obtenidas con hipómetro bastón, se han analizado las imágenes utilizando el programa ImageJ (ImageJ 1.38 x, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Durante la medición hubo el cuidado de mantener siempre el mismo procedimiento de identificación de varios puntos de referencia anatómicos y la horizontalidad del piso. Se han realizado un análisis descriptivo de mediciones obtenidas por los 2 métodos (hipómetro bastón y EMMD) y un análisis de varianza (ANOVA) considerando el método como efecto. Se han estimado los coeficientes de correlación entre las mediciones obtenidas por los 2 métodos y se analizó el error considerando como referencia las medidas obtenidas por el bastón. Los análisis se realizaron utilizando el programa JMP versión 7.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se ha verificado diferencias ( $P > 0,05$ ) entre los dos métodos. En general hay proximidad entre los valores obtenidos con el hipómetro bastón y el EMMD, traducida por las correlaciones significativas ( $P < 0,01$ ) y elevadas ( $r$  entre 0,79 y 0,95) (Tabla 2). La análisis de

las correlaciones demuestra sistemáticamente que las medidas de la región de la grupa presentan valores de  $r$  más elevados ( $r = 0,949$  y  $0,948$ ;  $P < 0,01$ ; para LG y AI respectivamente). El error varía entre 1,5 y 2 por ciento, presentando la AC y AG los menores errores. Este resultado es sorprendente, ya que es probable que cambie la altura de los animales en movimiento. Por otro lado al nivel de la grupa sería esperable un menor error, pues la medida es obtenida con el animal detenido. El análisis de los errores asociados con técnicas de medición a distancia fue analizado por otros autores (Negretti et al., 2008; Stajanko et al., 2008). En estos estudios se identificaron las causas de errores, que pueden justificar la discrepancia entre las mediciones obtenidas en este estudio. El método EMMD tiene problemas relacionados con la definición de puntos láser en las regiones oscuras de la capa del animal y, por otro lado el color más oscuro puede dificultar la identificación de las bases anatómicas en la análisis de las imágenes. Estos dos aspectos han sido realizados por Negretti et al (2008) como causa de error. Cambios de postura de los animales durante el proceso de recogida de imágenes se identifican igualmente como responsables de gran parte del error en el método EMMD (Stajanko et al., 2008). Además los problemas pódales pueden desencadenar cambios importantes en la línea media dorsal (Pastell et al., 2008). Los errores pueden también ser asociados con la resolución de las imágenes (Negretti et al., 2008). Sin embargo en el presente estudio, las imágenes fueron obtenidas con una resolución que posibilita una adecuada identificación de las bases anatómicas, disminuyendo la causa de error. Con el método EMMD es posible realizar medidas biométricas en las vacas lecheras a distancia. En futuros trabajos deben ser considerados los aspectos de la postura animal y del tipo de láser posibilitando una mejor proyección.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alonso, J., Bahamonde, A., Villa, A., Castañón, A.R. 2007. Morphological assessment of beef cattle according to carcass value. *Livest. Sci.* 107: 265-273. • Bewley, J.M., Peacock, A.M., Lewis, O., Boyce, R.E., Roberts, D.J., Coffey, M.P., Kenyon, S.J. Schutz, M.M. 2008. Potential for estimation of body condition scores in dairy cattle from digital images. *J. Dairy Sci.*, 91:3439–3453. • Cook, N.B. 2009. Free-stall design for maximum cow comfort. *Adv. Dairy Tech.*, 21:255-268. • Dingwell, R.T., Wallace, M.M., McLaren, C.J., Leslie, C.F., Leslie, K.E. 2006. An evaluation of two indirect methods of estimating body weight in Holstein calves and heifers. *J. Dairy Sci.*, 89:3992–3998. • Halachmi, I., Polak, P., Roberts, D.J., Klopčič, M. 2008. Cow Body Shape and Automation of Condition Scoring. *J. Dairy Sci.* 91:4444–4451. • Negretti, P., Bianconi, G., Bartocci, S., Terramocchia, S., Verna, M. 2008. Determination of live weight and body condition score in lactating Mediterranean buffalo by Visual Image Analysis. *Livest. Sci.* 113: 1-7. • Pastell, M., Hautala, M., Poikalainen, V., Praks, J., Veerm, I., Kujalac, M., Ahokasa, J. 2008. Automatic observation of cow leg health using load sensors. *Comput. Electron. Agric.* 62:48–53. • Stajanko, D., Brus, M., Hocevar, M. 2008. Estimation of bull live weight through thermographically measured body dimensions. *Comput. Electron. Agric.* 61: 233–240.

**Tabla 1:** Descripción de las medidas biométricas realizadas en las vacas

Medida	Abreviatura	Descripción
Alzada a cruz	AC	Distancia perpendicular desde el punto más elevado de la línea media de la cruz al suelo
Alzada dorsal	AD	Distancia en el suelo perpendicular a la última vértebra dorsal
Alzada a grupa	AG	Distancia perpendicular entre la unión de los lomos con la grupa y la horizontal del suelo
Altura del pecho	AP	Distancia perpendicular entre el punto más sobresaliente del pecho en su línea central (cuya base sólida es el esternón) hasta el punto en que dicha perpendicular corta la línea dorsal.
Longitud de la grupa	LG	Distancia recta entre la punta del anca y la punta de la nalga
Anchura de iliaca	AI	Distancia recta entre las dos puntas de las ancas

**Tabla 2:** Media, desviación estándar (DE), mínimo (min), máximo (máx.), coeficiente de correlación (r) y error (%) para las medidas (en cm) obtenidas con el hipómetro bastón y el EMMD (n = 49).

Medidas	Hipómetro bastón				EMMD				r	Error (%)
	Media	DE	min	máx	Media	DE	min	máx		
AC	144,6	4,4	135,8	154,7	145,4	6,0	135,7	156,6	0,923	1,597
AD	145,8	4,0	137,8	154,2	146,5	4,7	135,8	156,0	0,791	1,756
AG	149,9	3,8	140,5	156,7	149,7	5,1	137,2	161,5	0,841	1,506
AP	79,2	3,8	70,3	85,7	79,0	3,8	68,4	86,3	0,907	1,716
LG	48,5	3,7	43,0	61,5	48,3	4,1	41,7	63,3	0,949	1,918
AI	51,1	4,0	40,8	58,5	51,0	4,2	39,9	58,0	0,948	1,996

Todos los valores de r fueron significativamente (\*\*\*) $P < 0,01$ ) diferentes de cero

### MORPHOLOGICAL MEASUREMENTS BY DIGITAL IMAGE ANALYSIS IN COWS

**ABSTRACT:** Digital image analysis was performed to investigate its capability to determine morphological measurements of cattle. Morphological measurements of cattle are important in defining characteristics of the breed or productive and reproductive performance of the animals. Determination of morphological measurements is always costly, time consuming and causes reduction of animal welfare. So, the aim of this study is the development of equipment to determine morphological measurements using image analysis. For this work a group of 49 dairy cows were measured for morphological height, length and width with a measuring stick. For the morphological measurements using image analysis an apparatus was constructed consisting of two red lasers mounted in parallel position on a structure and a video camera between them to record images. The lasers project two points on the animal which are used as scale. The images captured were analyzed and morphological measurements equivalent to those obtained with measuring stick were achieved. The data were subjected to a descriptive analysis and correlations between measurements obtained by the two methods. The error was also analyzed. A significant correlation was observed between measurements obtained with the two methods (r between 0.79 and 0.95,  $P < 0.01$ ). The error varies between 1.5 and 2%. It was concluded that with equipment similar the one described in this paper is possible to perform morphological measurements of dairy cows.

**Keywords:** image analysis; dairy cattle; morphological measurements

## MEJORA EN LA RENTABILIDAD DE LA PRODUCCIÓN LECHERA A PARTIR DEL USO DE ENSILADO DE MAÍZ CULTIVADO CON FERTILIZACIÓN ORGÁNICA

Próspero, F.<sup>1,2</sup>, Martínez-Fernández, A.<sup>1</sup>, Pérez, J. A.<sup>3</sup>, Arriaga-Jordán, C. M.<sup>2</sup>, Vicente, F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). 33300 Villaviciosa (Asturias). [fvicente@serida.org](mailto:fvicente@serida.org)

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales (UAEM-ICAR), 50000 Toluca, México.

<sup>3</sup>Departamento de Contabilidad, Universidad de Oviedo, 33006 Oviedo

### INTRODUCCIÓN

La producción de leche presenta una crisis de rentabilidad debido a los bajos precios de la leche y los altos precios de las materias primas. Esto ha forzado al sector a reducir costes, especialmente en la alimentación, potenciando el uso de forrajes de calidad y mejorando la eficiencia de utilización de los recursos propios. En las explotaciones lecheras de la Cornisa Cantábrica, la rotación de cultivo más habitual es maíz-raigrás italiano que, a pesar de ser exigente en fertilización nitrogenada y presentar efectos negativos sobre el suelo, se repite de forma continua. Por ello, es necesario potenciar la producción de forrajes de calidad con un manejo menos agresivo con el medio ambiente y que permitan reducir los costes de cultivo. En este sentido, el reciclaje de las excretas animales como abono orgánico es una oportunidad para disminuir la dependencia de la compra de fertilizantes y reducir los costes variables manteniendo la producción agrícola (Martínez-Fernández et al., 2003). El objetivo de este trabajo fue evaluar sobre vacas lecheras en condiciones de pastoreo y con mínimo aporte de concentrado, el uso en la ración de ensilado de maíz producido con fertilización química u orgánica sobre el costo de alimentación y la rentabilidad de la producción lechera.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Dos parcelas adyacentes de 1,7 ha cada una se sembraron con maíz (*Zea mays* cv. "LG3377") con fertilización química (QU) u orgánica (OR) respectivamente. La parcela QU recibió un abonado de fondo de 60 kg N/ha, 40 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha y 120 kg K<sub>2</sub>O/ha previo a la siembra del cultivo de invierno (*Lolium multiflorum* L.) y 70 kg N/ha en cobertera después el primer corte para ensilado. Posteriormente, previo a la siembra del maíz, se aportaron 125 kg N/ha, 150 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha y 250 kg K<sub>2</sub>O/ha seguidos de 75 kg N/ha en cobertera cuando las plantas de maíz alcanzaron los 20 cm. La parcela OR fue fertilizada con 50 m<sup>3</sup>/ha de purín de vacuno distribuido en tres aplicaciones: a la siembra y tras cada corte de ensilado del cultivo de invierno y con 45 t/ha de estiércol de vacuno antes de la siembra del maíz. La composición del purín era de 0,52 kg N/m<sup>3</sup>, 0,28 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/m<sup>3</sup>, 0,72 kg K<sub>2</sub>O/m<sup>3</sup> y el estiércol de 3,24 kg N/t, 1,93 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/t y 6,23 kg K<sub>2</sub>O/t. El déficit de N en la parcela OR (diferencia de aporte de N respecto a la parcela QU) fue suplido con 40 kg N/ha en cobertera (NAC 27%) cuando el maíz tenía 20 cm. Ambos tipos de maíz se ensilaron en silos trinchera cuando el grano estaba en estado pastoso-vítreo.

Dieciocho vacas frisonas en el segundo trimestre de la lactación con 590 kg de peso vivo y una producción diaria de 24,8 L de leche fueron distribuidas en dos grupos de nueve vacas, asignados al azar a dos raciones *unifeed*, isoenergéticas e isoproteicas, ofertadas *ad libitum*, formuladas de acuerdo al NRC (2001). Las raciones estaban compuestas por ensilado de maíz (QU u OR), ensilado de raigrás italiano, paja de cebada y concentrado. Dos concentrados adicionales, ajustados en función del nivel de producción, fueron aportados como suplementos energéticos durante el ordeño. Las vacas tenían acceso al pasto durante 6 horas al día en 7 parcelas de 1,5 ha cada una aprovechadas en un sistema de pastoreo rotacional. El consumo de *unifeed* fue medido mediante un sistema de registro automatizado, el de los concentrados adicionales mediante alimentadores automáticos del sistema de ordeño y la ingestión de hierba estimada mediante las ecuaciones propuestas por Macon et al. (2003). El análisis de costes de alimentación se estimó mediante presupuestos parciales según Espinoza-Ortega et al. (2007). El coste por kg de MS de los alimentos producidos en la explotación: ensilado de raigrás, forraje verde, y ensilados de maíz convencional (QU) y orgánico (OR) fueron obtenidos a partir de coste de producción de



los forrajes englobando los costes de semilla, fertilizante, maquinaria, instalaciones y mano de obra. Se consideraron los precios de mercado como el coste de los alimentos comprados fuera de la explotación: concentrados y paja de cebada.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El coste de producción del ensilado de maíz con fertilización química fue de 87 €/t, mientras que el producido con fertilización orgánica fue de 79 €/t. La composición de los dos tipos de ensilado de maíz (QU y OR) fue similar, excepto una mayor concentración de almidón en el ensilado OR (35,6%) que en el QU (30,5%) que le confirió un mayor aporte energético (11,30 vs. 11,19 MJ/kg MS, respectivamente). Esto permitió formular la ración *unifeed* con un 5,9% menos de concentrado cuando se utilizó ensilado OR, con una relación forraje:concentrado de 77:23, que cuando se utilizó ensilado QU, en la que la relación forraje:concentrado fue de 76:24, para que ambas raciones fueran isoenergéticas (1,51 Mcal EN/kg MS) e isoproteicas (127,5 g PB/kg MS).

En la Tabla 1 se muestran los consumos de materia seca total y de cada uno de los ingredientes que conforman la dieta. No se observaron diferencias significativas entre los consumos totales en ambos grupos, aunque en términos numéricos con la dieta OR hubo menor consumo de materia seca total que con la QU, con 17,5 y 19,3 kg de MS por día respectivamente. Esta diferencia se debe a un menor consumo de concentrado incluido en la mezcla *unifeed* en la dieta OR, donde se registró un consumo de 410 g de concentrado menos al día que en la dieta QU (P<0,05).

**Tabla 1.** Consumo de Materia Seca (kg MS/día).

	OR	QU	eem	P
<b>Ingestión total (1+2+3+4)</b>	17,49	19,25	0,932	NS
<b>1) Unifeed (a+b+c+d)</b>	12,24	12,89	1,085	NS
a) Ensilado de maíz	3,83	4,16	0,342	NS
b) Ensilado de raigrás	4,82	5,02	0,427	NS
c) Paja de cebada	0,96	0,99	0,848	NS
d) Concentrado <i>unifeed</i>	2,81	3,22	0,143	*
<b>2) Concentrado A</b>	0,41	0,35	0,185	NS
<b>3) Concentrado B</b>	0,53	0,61	0,167	NS
a) Concentrado total (d+2+3)	3,75	4,18	0,450	NS
<b>4) Hierba</b>	4,31	5,40	0,982	NS

No hubo diferencias entre ambos tipos de alimentación en la producción de leche diaria (25,2 y 25,7 L/d para la dieta OR y QU respectivamente) ni en la proporción de grasa (3,89% y 3,88% para la dieta OR y QU respectivamente) ni de proteína (3,26% en ambos casos). La relación de consumo de concentrado por litro de leche producida fue significativamente inferior con la dieta OR que con la dieta QU (142 vs. 160 g/L respectivamente; P<0,05). Los costes de alimentación y los ingresos por venta de leche no presentaron diferencias significativas (Tabla 2), si bien, numéricamente, la dieta QU presentó un mayor coste que la dieta OR (2,49 y 2,24 € por vaca y día respectivamente), debido al mayor coste de producción del ensilado de maíz y a un mayor uso de alimentos externos (1,76 €/vaca y día en la dieta QU y de 1,58 €/vaca y día en la dieta OR). La pequeña diferencia en la concentración de grasa entre manejos origina que el pago de leche sea de 0,299 €/L en el manejo OR y de 0,294 €/L. Aunque el ingreso bruto diario por vaca fue mayor en el manejo QU, con el diferente costo de alimentación entre manejos, se logra un margen por litro de leche vendida de 0,211 € con la dieta OR y de 0,195 € con la dieta QU por la menor dependencia de insumos externos con unos ingresos netos en el manejo OR de 5,20 € por vaca y día y de 5,01 € por vaca y día en el manejo QU.

Por lo tanto, a partir de los resultados de este trabajo, se puede concluir que el uso de fertilización orgánica en el cultivo de maíz para ensilar implica una reducción en el coste de producción de 8€/t MS. El ensilado producido con este manejo presenta un mayor contenido

en almidón, lo que permite reducir un 11,25% la ingestión de concentrado por litro de leche producido en vacas en pastoreo en el segundo trimestre de lactación. Esta reducción supone un ahorro de 25,3 céntimos en el coste diario de la ración por vaca, lo que permite un margen positivo de 21,8 céntimos diarios por vaca. Para un rebaño medio de 40 vacas en pastoreo, minimizando el uso de concentrados comprados, el uso en la ración de ensilado de maíz producido con fertilizadores orgánicos podría suponer un incremento de ingresos superiores a 3000 €/año.

**Tabla 2.** Costos de alimentación e Ingresos por la venta de leche (€) por vaca y día.

	OR	QU
<b>Costes (€/d)</b>		
Dieta (1+2)	2,236	2,489
1) Alimentos internos (a+b+c)	0,655	0,733
a) Ensilado de maíz	0,302	0,360
b) Ensilado de raigrás	0,332	0,347
c) Hierba	0,021	0,027
2) Alimentos externos (d+e+f+g)	1,581	1,755
d) Paja de cebada	0,110	0,112
e) Concentrado <i>unifeed</i>	1,089	1,241
f) Concentrado A	0,149	0,128
g) Concentrado B	0,235	0,271
3) Producción (L/d)	25,17	25,72
h) Coste de producción (€/lt) [(1+2)/3]	0,088	0,098
<b>Ingresos</b>		
4) Precio de la leche (€/lt)	0,299	0,294
5) Venta de leche (€/d) (3*4)	7,526	7,561
<b>Margen</b>		
6) Euros por litro (4-h)	0,211	0,195
7) Euros por vaca y día [5-(1+2)]	5,290	5,072

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Espinoza-Ortega A., Espinosa-Ayala E., Bastida-López J., Castañeda-Martínez T. & Arriaga-Jordán C. M. 2007. *Expl Agric.* 43: 241-256. • Macoon B., Sollenberger L. E., Moore J. E., Staples C. R., Fike J. H. & Portier K. M. 2003. *J Anim Sci.* 81: 2357-2366. • Martínez-Fernández A., Pedrol N., Alperi J. 2003. *Siembra de Praderas* KRK Ed. 89 pp. • NRC 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. National Academy Press. 381 pp.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado mediante el proyecto INIA RTA2011-00112-00-00. La estancia de F. Próspero ha sido financiada por CONACYT-México.

## IMPROVEMENT ON PROFITABILITY OF MILK FROM THE USE OF MAIZE SILAGE GROWN WITH ORGANIC FERTILIZATION

**ABSTRACT** This study evaluated the effect of using maize silage produced with conventional or organic fertilization on the diets for dairy cows, in order to evaluate the effect on feed costs and profitability of milk production. The costs of production of maize silage were 0.087 and 0.079 € / kg DM for conventional and organic fertilization respectively, and, the starch concentration were 30.52% and 35.55% respectively. This reflected a higher efficiency of energy and lower cost of the diet based on organic maize silage by a lower use of concentrates in the unifeed ration set made from this maize silage. This reduction saves 25.3 cents in the daily cost of the ration per cow, allowing a positive balance of 21.8 cents per cow per day.

**Keywords:** Fertilization, management system, milk, costs

## **DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO DE UNA EXPLOTACIÓN LECHERA PARA LA DOCENCIA DE PRODUCCIÓN DE BOVINO LECHERO**

Calsamiglia, S., Espinosa, G., Castillejos, L., Vera, G., Ferret, A.

Dept. Ciencia Animal y de los Alimentos

Universitat Autònoma de Barcelona

sergio.calsamiglia@uab.es

### **INTRODUCCIÓN**

Tradicionalmente ha existido poco interés en innovar y/o profundizar sobre estrategias docentes que mejoren el aprendizaje en el área de producción animal, en general, y en el bovino lechero en particular, a pesar de que existen actividades y acciones que podrían incorporarse con cierta facilidad (Wattiaux, 2008). El desarrollo de la docencia en el ámbito del Plan Bolonia, en el cual se enmarca nuestro sistema Universitario, exige la implementación de nuevas estrategias docentes. Éstas requieren una reducción del tiempo dedicado a la docencia presencial y un aumento en el proceso de autoaprendizaje. No se trata sólo de enseñar, sino fundamentalmente de que el estudiante aprenda (docencia centrada en el alumno). El aprendizaje depende más de la motivación y la vivencia del conocimiento que en el acto de enseñanza *per se*. Es la tradicional figura motivadora del “Maestro” entremezclado con el concepto de “learning by doing”. Sin embargo, además del desarrollo de estrategias docentes que materialicen este concepto, que no siempre es fácil, existe un factor adicional, que es cómo evaluar de forma justa y transparente el aprendizaje de los estudiantes, teniendo en cuenta el elevado número de alumnos por clase; y cómo hacer del proceso de evaluación un proceso continuado que estimule la rectificación de errores y, en último término, facilite el aprendizaje. Es decir, cómo transformar el papel de “juez” que tiene el examen para convertirlo en una herramienta de automotivación y promoción del aprendizaje. Teniendo en cuenta estas consideraciones, es necesario desarrollar herramientas de aprendizaje que motiven al estudiante, permitan el autoaprendizaje y la “experimentación” del conocimiento, y evaluar sus conocimientos de forma justa, transparente y factible en la realidad docente de la Universidad Española. El objetivo de este trabajo es presentar un modelo de simulación de funcionamiento de una granja de leche diseñado para motivar al estudiante, garantizar su aprendizaje y permitir una evaluación justa, transparente y factible.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El simulador se ha programado en Java y funciona de forma centralizada vía web, siendo accesible desde cualquier sitio, tanto para el profesor como para el alumno, mediante el uso de una contraseña. El modelo se basa en la simulación matemática de la vida de una vaca, donde la mayor parte de los factores modelizados son aleatorios dentro de un margen fisiológico determinado por defecto pero modificable por el instructor.

Dentro de un mismo curso, todas las granjas se generan según ha determinado el instructor, que ha definido el tamaño, el nivel de producción medio, el tipo de ingredientes disponibles, su composición y precio, la estructura de población y las probabilidades de todos los eventos tanto fisiológicos (índice de detección de celo, duración del ciclo ovárico, fertilidad,...) como patológicos (incidencia y consecuencias de tantas patologías como se consideren oportunas). El programa establece para cada ternero su edad, peso, altura, estado reproductivo y dieta, mientras que para las vacas establece su nivel productivo potencial, días en lactación, estado reproductivo y la dieta. Ello permite generar tantas granjas como sean necesarias (por ejemplo, una por estudiante), todas ellas parecidas entre sí, pero únicas. El profesor puede consultar la actividad de la clase como conjunto o de cualquier estudiante individualmente, lo que facilita las consultas a través de la red.

El crecimiento en peso y altura de las terneras se basa en una adaptación de las ecuaciones de crecimiento del NRC (2001). Las curvas de producción de leche se basan en el modelo de Woods (1967). La producción de leche se determina según la interacción del potencial genético del animal, el número de lactación y el aporte de nutrientes en base a la ingestión y el contenido en energía (Mcal de ENI) y proteína (g proteína) de la ración siguiendo las ecuaciones del NRC (2001). El ciclo reproductivo, la expresión del celo, la fertilidad y el

efecto de tratamientos hormonales (prostaglandinas, GnRH y esponjas vaginales de progesterona,...) se definen con medias y rangos de variación fisiológicos. El instructor puede definir cualquier tipo de enfermedad y determinar su incidencia y condicionantes (efecto sobre la ingestión, la producción, la fertilidad, el retorno a celo, modificación de células somáticas, tratamientos efectivos, necesidad de retirar la leche en caso de antibióticos,...).

Los errores cometidos se registran y comunican al usuario en forma de feedback inmediato, lo que le permite reaccionar en futuras acciones. El programa contiene un algoritmo que calcula la nota diariamente en función de los errores del estudiante, por lo que la evolución de la nota así como la corrección es automática.

El programa se ha utilizado durante tres años en la Facultad de Veterinaria de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) y en otras 4 universidades nacionales e internacionales. Los alumnos de la asignatura "Bases de la Producción y Manejo Animal" (primero de carrera de la UAB) disponían de unos apuntes sobre el bovino lechero, instrucciones escritas del programa, un video de 10 minutos sobre el uso del programa y 2 h de clase. Durante el semestre simularon 150 días de funcionamiento de la granja y dibujaron un croquis general de la explotación (dimensionado). Con el objetivo de valorar la eficiencia del sistema en la mejora del aprendizaje, los estudiantes fueron sometidos a un examen no programado 15 días antes de la fecha prevista del examen final de la asignatura. Dicho examen consistió en 15 preguntas relacionadas con la fisiología del vacuno y el funcionamiento de una explotación de bovino lechero, y otras 15 preguntas de la misma categoría/dificultad sobre porcino, ovino o aves (cuyos contenidos se habían explicado en el mismo semestre). Además, los estudiantes rellenaron una encuesta para valorar la utilidad del programa en el proceso de aprendizaje.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sistema es robusto y permite una simulación realista de la vida de la vaca y de la evolución de una explotación de bovino lechero. A lo largo de los últimos 3 años, el sistema ha funcionado de forma simultánea en diferentes cursos dentro de la misma Universitat Autònoma de Barcelona (asignaturas de Bases de la Producción y Manejo Animal en primero curso; Producción Animal I en tercer curso; Producción Bovina en cuarto curso; Clínica de Ruminantes en quinto curso) y en 4 Universidades distintas tanto nacionales como internacionales, gestionando un número elevado de estudiantes (hasta 150 por curso). El límite de utilización lo determina la memoria disponible para el almacenamiento de datos. En función del nivel de los estudiantes (curso) y los objetivos docentes, el programa se ha utilizado de formas distintas por parte del instructor. El abanico de usos de elementos del sistema es amplio, desde el funcionamiento básico de la explotación hasta la gestión completa (incluyendo enfermedades) o el desarrollo de ejercicios puntuales (cálculo y dibujo de un croquis de instalaciones, planteamiento de un plan de deyecciones, planteamiento de un plan de producción y rotación de forrajes,...).

El estudiante debe tomar diferentes decisiones periódicamente, en función de la activación o no de eventos por parte del instructor, entre las que se incluye: crotalar, desinfectar y administrar calostro a los neonatos, dosificación de calostro y leche artificial, destete, formación de grupos y dietas para las diferentes etapas de las terneras de reposición, inseminación y diagnóstico de gestación de la reposición, etc. En las vacas, debe decidir la dieta, la formación de lotes, la inseminación, el diagnóstico de gestación, el tratamiento de enfermedades, el secado, y la venta o sacrificio.

Todos los parámetros programados pueden modificarse por el instructor, que puede introducir modificaciones a lo largo del curso que afectarán de forma similar a todas las granjas del mismo curso. Esta flexibilidad permite utilizar el programa de formas distintas y con grados de dificultad acorde a los objetivos docentes.

Durante los dos últimos años, los estudiantes del curso "Bases de la Producción y Manejo Animal" han valorado positivamente el sistema de aprendizaje, haciendo hincapié en la utilidad del sistema para entender la gestión global de la explotación. Los estudiantes valoran positivamente la disponibilidad *on-line* de los contadores de errores y de la nota, ya que les permite tener feedback inmediato para identificar en qué áreas cometen errores y rectificar, lo que motiva al aprendizaje a través de la consulta a compañeros o a los apuntes.

A partir de la estimación del tiempo dedicado al ejercicio, se considera que la dedicación media es de 2 minutos por día simulado. En una valoración global de la utilidad del programa como herramienta de aprendizaje, el valor medio de los 3 últimos años es de 8,9 sobre 10. El resultado del examen no programado (lo que supone que evalúa la adquisición continuada de conocimientos sin el esfuerzo de estudio previo al examen) indica que la probabilidad de contestar adecuadamente es 5 veces superior en temas de vacuno lechero que para otras especies cuya docencia fue más tradicional.

El acceso al programa es vía web ([www.granjadevacas.es](http://www.granjadevacas.es)) y está disponible en Catalán, Castellano e Inglés. En la página web está disponible un manual de usuario para los alumnos y otro para el profesor. Además, hay videos disponibles (2 videos de 10 minutos para los alumnos y un video de 10 minutos para el profesor) que explican con detalle el funcionamiento del programa. El acceso de prueba puede hacerse mediante el usuario "invitado" y contraseña "invitado". La creación de un curso requiere solicitarlo al administrador ([sergio.calsamiglia@uab.es](mailto:sergio.calsamiglia@uab.es)).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• National Research Council (2001). Nat'l Academic Press, Wasington, DC; • Wood, P.D.P. 1967. Nature 216.164-165; • Wattiaux, M. A. 2008 In: Exploring Signature Pedagogies: Approaches to Teaching Disciplinary Habits of Mind. R. Gurung, N. Chick and H. Aeron (Eds). Stylus Publishing, LLC, VA

**Agradecimientos:** El desarrollo de este proyecto ha sido posible gracias a la ayuda de *Millora de la Qualitat Docent* de la *Generalitat de Catalunya* (Proyecto MQD2010-00170)

### DEVELOPING A MATHEMATICAL MODEL OF A DAIRY CATTLE FARM TO TEACH DAIRY SCIENCE

**ABSTRACT:** Implementing student-centered learning programs in University settings is often difficult. A web-based software was developed to describe the life cycle of a dairy cow and used to simulate a dairy farm. Within a class, each student has its own unique farm defined at random within limits determined by the instructor. Actions taken by students include: heat detection, insemination, drying off, diet specifications, formation of groups and transfer of animals between groups, colostrum and milk feeding, weaning, treatment of diseases, milk withdrawal if antibiotics are used, heat synchronization (hormonal), buying and culling of cows or heifers, etc. The daily output provides information on production and economic performance as feedback for students, and grading is provided to students on-line. Exercises on designing facilities, developing a manure management programs or agricultural planning can also be implemented. The program has been used by students in several Veterinary and Agricultural School around the world with excellent evaluations. In a non-planned exam conducted 2 weeks prior to the final exam, students were 5 times more likely to respond correctly to the same type of questions about dairy cows than other species taught in the same semester. The program is available in Catalan, Spanish and English. For information, connect to [www.dairyfarm.es](http://www.dairyfarm.es).

**Keywords:** model, teaching, dairy farm

## **¿LA CALOSTRACIÓN MANUAL Y LA REALIZACIÓN DE ADOPCIONES PUEDE AYUDAR A MEJORAR LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE LOS LECHONES EN LA MATERNIDAD?**

Muns<sup>1</sup>, R.; Silva<sup>2</sup>, C., Manteca<sup>1</sup>, X., Gasa<sup>1</sup>, J.

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments. UAB. Edifici V. Campus UAB. 08193 Bellaterra. Barcelona. [ramon.muns@uab.cat](mailto:ramon.muns@uab.cat)

<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia. Universidade Estadual de Londrina (UEL). Londrina, Paraná (Brasil)

### **INTRODUCCIÓN**

Con las actuales cerdas hiperprolíficas, la mortalidad pre-destete sigue siendo un problema sin resolver para los productores. Solamente en las explotaciones españolas las pérdidas de lechones durante la lactación llegan a alcanzar un promedio del 14-15% (BDPorc). Para intentar reducir la mortalidad, en las explotaciones comerciales son comunes las prácticas de manejo orientadas a maximizar la ingesta de calostro de los lechones durante las primeras horas de vida. Otra práctica muy extendida es la realización de adopciones para igualar las camadas durante las primeras 12-24h de vida. Sin embargo existen muchos y variados métodos de realizar las distintas prácticas de manejo mencionadas, que en su mayoría requieren tiempo y mano de obra acarreado un coste de producción, cuyo impacto real en la productividad de la granja no es fácil de evaluar. A nivel bibliográfico hay pocas evidencias del grado de efectividad de la suplementación manual de los lechones con calostro, y resultados contradictorios de las distintas prácticas de adopción.

El objetivo del estudio fue mejorar el conocimiento del impacto ejercido sobre el crecimiento y supervivencia de los lechones, tanto de suplementar manualmente calostro a los lechones de bajo peso, como de poner en práctica dos técnicas de adopción.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para el ensayo se utilizaron 46 cerdas multíparas (LWxLD) y sus camadas. Se midió el espesor de grasa dorsal de las cerdas (GD) en P<sub>2</sub> (65mm bajo la línea media dorsal de la última costilla), utilizando el ultrasonido Renco Lean Meater<sup>®</sup> (Renco Corporation, North Minneapolis, MN, USA) en el día 1 y en el día 19 post-parto. Se clasificaron los lechones en LP: nacidos con peso <1.350kg, y en LG: nacidos con peso >1.350kg. El ensayo se planteó como un modelo factorial 2x2. Las cerdas, equilibradas por número de parto y espesor de grasa dorsal, y sus camadas se asignaron al momento del parto a uno de los tratamientos de suplementación oral (SO): CON, no suplementación oral, y COL, suplementación oral con 15ml de calostro en una sola dosis. La suplementación oral se administró durante las primeras 4h posteriores a la finalización del parto sólo a los lechones LP. A las 24h las camadas fueron igualadas a 11 o 12 lechones/camada. Para cada grupo de SO se realizaron dos niveles de adopciones (AD): CP, camadas formadas en su mayoría por lechones LP; y CG, camadas ajustadas por número procurando el menor número de movimientos de animales y procurando que menos del 50% de los lechones de la camada sean LP. De este modo se obtuvo la siguiente combinación final de tratamientos: CON-CP, CON-CG, COL-CP y COL-CG.

Al finalizar el parto se pesaron los lechones y se identificaron individualmente. Los días 1 y 19 post-parto se volvieron a pesar los lechones para obtener el peso medio de la camada y el CV del peso dentro de la camada. Se controló la mortalidad de lechones mediante un control diario de los animales. Los datos se analizaron con ANOVA mediante la subrutina GLIMMIX del paquete estadístico SAS<sup>®</sup>. El peso medio de la camada y el CV del peso de la camada se analizaron mediante medidas repetidas. En el modelo se introdujeron el SO y AD como factores fijos y su interacción. Se consideró la camada como unidad experimental.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al finalizar el ensayo las cerdas habían perdido un promedio de  $1.7 \pm 0.32\text{mm}$  de GD, sin diferencias entre grupos. El peso medio de la camada y el CV del peso dentro de la camada, así como los registros de mortalidad están presentados en la Tabla 1. El día 1, después de las adopciones, los lechones de las camadas CG presentaban mayor peso medio que las camadas CP ( $1.53$  vs.  $1.19 \pm 0.118\text{kg}$ ;  $P=0.011$ ) debido a la presencia de lechones LG. Las diferencias entre camadas CG y CP se repitieron el día 19 ( $5.57$  vs.  $4.54 \pm 0.141\text{kg}$ ;  $P<0.001$ ). Sin embargo, el día 19 las camadas COL-CP mostraron una tendencia a registrar un menor peso medio que las camadas CON-CP. Estos resultados coinciden con los de Bierhals et al. (2012) que observaron que el peso medio de las camadas difería entre camadas con niveles distintos de adopciones. Con las adopciones se consiguió reducir el CV del peso de las camadas CP en el día 1 ( $16.2$  vs.  $21.9 \pm 0.91\%$ ,  $P=0.003$ ), resultado esperado al juntar lechones con un mismo rango de peso en el grupo CP. A pesar de las diferencias iniciales, el día 19 no se observaron diferencias entre los distintos grupos, sólo las camadas COL-CG tuvieron menor CV del peso que las del grupo CON-CG ( $P=0.035$ ). Las camadas COL y CON con adopciones CG mantuvieron constante su CV del peso a lo largo de la lactación ( $P>0.10$ ). Sin embargo, las camadas del grupo COL-CP y CON-CP mostraron mayor CV del peso el día 19 comparado con el día 1 ( $P<0.001$  y  $P=0.003$ , respectivamente). Milligan et al. (2001) también observaron como camadas con el CV de peso reducido tras las adopciones duplicaron su CV del peso al final de la lactación.

Las camadas CG tuvieron menor número de lechones muertos el día 19 que las camadas CP ( $0.80$  vs.  $1.69 \pm 0.307$ ;  $P=0.022$ ). El día 19 las cerdas del grupo COL-CG mostraron una tendencia a un menor número de lechones muertos que las del grupo CON-CG ( $P=0.062$ ). A diferencia de nuestros resultados, Akdag et al. (2009) encontraron una relación lineal entre la variación en el peso dentro de la camada y la mortalidad pre-destete. Sin embargo, Milligan et al. (2002) y Quesnel et al. (2012) atribuyeron a la presencia de mayor número de lechones con bajo peso, el incremento de mortalidad junto con el aumento de variabilidad en el peso. Deen y Bilkei (2004) apuntan que al reducirse la variabilidad de peso de la camada puede incrementarse el nivel de agresiones y la competencia entre los lechones. El hecho de realizar camadas con los lechones de menor peso al nacimiento, puede también estar propiciando el mantener en la explotación animales que no deberían ser considerados viables perjudicando los parámetros productivos. No se observaron diferencias entre los distintos grupos por el porcentaje de lechones LP muertos el día 19, aunque cabe destacar que el grupo COL-CG tuvieron un 35% menos de mortalidad que las cerdas del grupo CON-CG. White et al. (1996), utilizando un protocolo de manejo más complejo, observaron una disminución de la mortalidad en lechones suplementados con 12ml de calostro bovino. Se estima que la ingesta de calostro en condiciones normales es de  $200\text{g/kg}$  por lechón ( $0-700\text{g/kg}$ ), y que esta puede variar mucho entre lechones (Devillers et al., 2011; Quesnel et al., 2012); esto puede suponer que con una dosis de 15ml de calostro, en nuestro ensayo estemos aportando de un 5 a un 10% de la ingesta esperada de un lechón con bajo peso al nacimiento. Esta cantidad de calostro aportada pudo no ser suficiente para poder observar beneficios más significativos en los lechones.

Los resultados sugieren que hacer adopciones para reducir la variabilidad entre lechones de una misma camada no mejora los resultados productivos, e incluso empeora la mortalidad y el crecimiento de los lechones, y que es más recomendable focalizar el manejo en suplementar con calostro los lechones con bajo peso al nacimiento y ajustar las camadas por número minimizando los movimientos de lechones.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akdag, F., S. Arslan, H. Demir. 2009. *J. Anim. Vet. Adv.* 8: 2133-2138.
- BDporc 2009: <http://www.bdporc.irta.es>.
- Bierhals, T.; Magnabosco, D.; Ribeiro, R. R.; Perin, J.; da Cruz, R. A.; Bernardi, M. L.; Wentz, I.; Bortolozzo, F. P. 2012. *Livest. Sci.* 146: 115-122.
- Deen, M. G. H.; Bilkei, G. 2004. *Livest. Prod. Sci.* 90: 279-284.
- Devillers, N.; Le Dividich, J.; Prunier,

A. 2011. *Anim. 5: 1605-1612* • Milligan, B. N., D. Fraser, D. L. Kramer. 2001. *Appl. Anim. Behav. Sci. 73: 179-191*. • Milligan, B. N., D. Fraser, D. L. Kramer. 2002. *Livest. Prod. Sci. 76: 181-191*. • Quesnel, H; Farmer, C; Devillers, N. 2012. *Livest. Sci146: 105-114*. • White, K. R., Anderson, D. M.; Bate, L. A. 1996. *Can. J. Anim. Sci. 76: 491-495*.

**Tabla 1: resultados de crecimiento y mortalidad de las camadas de los distintos grupos experimentales originados de al combinación de los sistemas de Suplementación Oral (SO) y de Adopciones (AD).**

Adopciones (AD)	CG		CP		P-valor			
	CON (n = 14)	COL (n = 19)	CON (n = 6)	COL (n = 7)	SEM	SO	AD	SO*AD
Peso medio camada d1, Kg	1.55	1.52	1.18	1.21	0.125	0.962	0.011	0.087
Peso medio camada d19, Kg	5.64 <sup>a</sup>	5.52 <sup>a</sup>	4.71 <sup>b</sup>	4.40 <sup>b</sup>	0.125	0.079	<0.001	<0.001
CV del peso camada d1, %	23.5 <sup>a</sup>	20.8 <sup>ab</sup>	15.4 <sup>b</sup>	16.9 <sup>b</sup>	1.643	0.754	0.003	0.017
CV del peso camada d19, %	25.9 <sup>a</sup>	21.4 <sup>b</sup>	22.5 <sup>ab</sup>	25.6 <sup>ab</sup>	1.643	0.735	0.848	0.137
Nº total muertos d19	1.14 <sup>ab</sup>	0.47 <sup>b</sup>	1.67 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>	0.700	0.230	0.022	0.201
Lechones LP muertos a d19, %	15.50	10.00	12.50	14.10	0.531	0.682	0.993	0.560

#### DOES ORAL SUPPLEMENTATION OF COLOSTRUM AND CROSS-FOSTERING HELP TO IMPROVE PIGLET AND LITTER PERFORMANCE?

**ABSTRACT:** The experiment studied the effect of oral supplementation of piglets born with less than 3.050kg (LP) (CON: control; COL: 15ml of sow colostrum within 4h from birth), and the effect of cross-fostering 24h after farrowing (CG: litter fixed with less than 50% of the piglets being LP with minimum number of movements; CP: litter fixed with most of the piglets being LP) on litter performance. Forty six litters were used. Litters were allocated to 1 of the 4 treatments: CON-CG, CON-CP, COL-CG, COL-CP. Piglets were weighed on d1 and 19 post-partum. Mortality was recorded. CP sows had lower within litter CV of BW (CVBW) at d1 than CG sows (16.2 vs. 21.9 ± 0.91%,  $P=0.003$ ) but they did not differ for CVBW at d19 (23.2 vs. 23.4 ± 1.72%;  $P>0.10$ ). At d19, CG sows had lower number of dead piglets (NDP) than CP sows (0.80 vs. 1.69 ± 0.307;  $P=0.022$ ) and COL-CG sows had lower NDP than CON-CG (0.47 vs. 1.14 ± 0.160;  $P=0.062$ ). Cross-fostering LP at the same litter did not prevent from increasing the CVBW at weaning. Colostrum supplementation of LP piglets in non homogenized litters might be the best management strategy to improve litter performance.

**Key words:** pig, colostrum, cross-fostering, mortality, litter



## DETERMINACIÓN DE LA DOCILIDAD EN GANADO PIRENAICO EN EXPLOTACIONES COMERCIALES

Blasco, I.<sup>1</sup> Ferrer, J.<sup>2</sup> & Palacio, J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ASAPI. Bº Movera, s/n, 50194 Zaragoza, [iblasco@hotmail.com](mailto:iblasco@hotmail.com)

<sup>2</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Finca experimental "La Garcipollera" 22710 Bescos de la Garcipollera, Huesca

<sup>3</sup>Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/Miguel Servet, 177, 50013, Zaragoza, Spain.

### INTRODUCCION

La Política Agraria Común (PAC) ha promovido en el contexto de la ganadería de rumiantes, políticas de extensificación, lo que ha propiciado un aumento en el tamaño de los rebaños, períodos más largos de pastoreo y un mayor uso de las zonas pastables. El incremento del pastoreo va acompañado de cambios en el manejo del ganado, el número de contactos entre humanos y vacunos está reducido y cuando se producen, están a menudo asociados a manejos aversivos (vacunaciones, extracciones sanguíneas, confinamiento, etc.). Este hecho puede tener efectos perjudiciales sobre la facilidad de manejo, el bienestar y la productividad de los animales. Existen marcadas diferencias entre granjas en las respuestas de miedo hacia las personas, radicando parte de éstas en el modo en que los animales son manejados y parte en factores genéticos. El proyecto europeo Welfare Quality<sup>®</sup> ha desarrollado protocolos estandarizados para la evaluación del bienestar animal en vacuno entre cuyos parámetros se incluye la evaluación de respuestas de comportamiento adecuadas hacia los ganaderos (Welfare Quality<sup>®</sup> consortium, 2009). Por otra parte varios estudios han descrito distintos tests de aplicación práctica en explotaciones para evaluar las respuestas de miedo a humanos (ej. Rousing y Waiblinger, 2004) relacionando las respuestas a éstos con la productividad, el mejor manejo o utilizándolos con fines de selección genética de animales más dóciles. Utilizando el test de la velocidad de huida, la raza Pirenaica se mostró más reactiva a la presencia humana que otras razas españolas (Blanco et al., 2009) aunque puede ser clasificada como tranquila al compararla con otras razas inglesas (Fell et al., 1999). Desde ya hace tiempo, en la Asociación Aragonesa de Ganaderos de Bovinos de Raza Pirenaica (ASAPI), se considera la posibilidad de realizar una selección dirigida a reducir la reactividad y las manifestaciones de miedo del animal debidas al contacto con el hombre. El interés para abordar esta selección es doble, tanto desde el punto de vista de cambios o mejoras del manejo de los animales como a través de la mejora genética. El objetivo de este estudio fue aplicar en vacuno pirenaico y a nivel de explotación comercial dos tests seleccionados por su carácter económico, práctico y sencillo y validados experimentalmente y demostrar su viabilidad técnica y económica de cara a su utilización futura en la mejora de la raza Pirenaica.

### MATERIAL Y METODOS

En las distintas pruebas se han testado un total de 83 vacas y 230 terneros pirenaicos (60% hembras y 40% machos) de 162±82 días de edad, procedentes de un total de 12 explotaciones (1 experimental y 11 comerciales). Los ensayos se llevaron a cabo siguiendo las directrices de la unión europea (Directiva 86/609/EEC, 1986) sobre la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

Todas las pruebas fueron realizadas por la misma persona, desconocida para los animales y ayudada por el ganadero para el manejo de los animales. Los tests se realizaron en los meses de primavera, verano y otoño de 2012. Se realizaron dos grupos de tests:

**a) Tests en confinamiento en báscula.** Se realizaron tanto en vacas como en terneros.

a.1. Test de velocidad de huida descrito por Burrow (1998), que registra la velocidad con que sale un animal de una báscula o potro de contención. Se realizó sobre un total de 31 vacas y sus respectivos terneros en el rebaño experimental.

a.2. Test de forma de salida de la báscula diseñado por Lanier et al. (2002), que valora la forma de salida en una escala cualitativa, dando una puntuación de 1 (salida al paso), 2 (trotando) y 3 (galope).

a.3. Test de actitud en báscula diseñado por Grandin (2003), que consiste en valorar la actitud en la báscula, dando una puntuación de 1 (tranquilo), 2 (inquieto), 3 (pateo) y 4 (encabritado).

**b) Test en cornadizo.** Distancia de huida descrita por el proyecto Welfare Quality® (2009), evaluando los animales tanto a nivel individual como a nivel de rebaño. Se realizó exclusivamente en vacas adultas.

En todos los casos se registró la edad y sexo del ternero, el número de orden en la prueba y el padre de los animales testados. El análisis estadístico incluyó un ANOVA con los factores explotación, padre, edad y sexo del ternero como factores fijos. El sexo y edad del ternero se excluyeron del modelo al no tener ningún efecto significativo sobre las variables dependientes. Para evaluar la relación entre las distintas variables, el orden de entrada a la prueba y la repetibilidad de algunos tests se calcularon los coeficientes de correlación de Spearman. Se utilizó el programa SPSS v.12.0.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El orden de entrada en las pruebas en terneros no influyó sobre la forma de salida, actitud en báscula o la velocidad de salida. En vacas se observó una influencia del orden del entrada sobre la forma de salida ( $R=0,33$ ;  $p=0,02$ ). La velocidad media de salida en terneros fue de  $0,71\pm 0,24$  m/s ( $n=25$ ). En terneros de edades similares y de la misma raza, Blanco et al (2009) encontraron velocidades un poco superiores ( $v=1,06\pm 0,08$  m/s) a las halladas en este trabajo. La velocidad media de salida de las vacas fue de  $0,79\pm 0,29$  m/s ( $n=31$ ). Fell et al (1999) categorizaron la velocidad de salida de los terneros en nerviosos (1,9-2,8 m/s), normales (1,4-1,9 m/s) y tranquilos (0,6-1,4 m/s). Según nuestros resultados y con la anterior clasificación, el 100% de los terneros y el 97% de las vacas podrían clasificarse como tranquilos. La velocidad de salida estuvo correlacionada significativamente con la actitud en báscula tanto en terneros como en vacas ( $R=0,46$ ;  $p<0,001$ ).

La **Tabla 1** recoge los valores relativos a la actitud y forma de salida en báscula de los terneros. Las vacas tuvieron una distribución similar en cuanto la actitud en báscula y en cuanto a forma de salida predominó la salida andando (89%). La actitud en báscula y la forma de salida estuvieron significativamente correlacionadas tanto en terneros como en vacas ( $R=0,46$ ,  $p<0,0001$  y  $R=0,44$ ,  $p<0,01$ ; respectivamente), lo que nos indica que ambas variables indican aspectos similares.

La distancia de huida en cornadizo en vacas fue testada en dos momentos distintos y tuvo una alta repetibilidad ( $R=0,51$ ;  $p<0,001$ ), obteniéndose unos valores medios de  $1,37\pm 0,87$ m. Según las categorías del Welfare Quality® (2009) la mayor parte del rebaño (63,5%) tendrían las distancias más altas de huida de la clasificación (**Tabla 2**). Este test no mostró relación con las variables obtenidas en báscula (forma de salida, actitud y velocidad) que puede ser atribuible al distinto contexto de ambos. En un caso, el animal está en confinamiento, aislado del grupo y en un lugar donde se realizan predominantemente manejos aversivos y en otro caso, se halla libre de movimientos, con sus congéneres y con un estímulo positivo como la alimentación.

En el análisis multifactorial (explotación, padre) y multivariado (actitud y forma de salida en báscula) no se apreció efecto significativo de los factores fijos estudiados. Sin embargo, en el análisis unifactorial, tanto la explotación ( $p=0,01$ ) como el padre ( $p=0,005$ ) influyeron significativamente en el modelo. La explotación tiene una gran influencia sobre la docilidad de los terneros, como ya observaron Rousing et al. (2004), debido a las condiciones y manejo en la explotación y la calidad y cantidad de contacto humano. También el padre de los terneros está muy relacionado con la explotación, pues excepto en los pocos casos de terneros de inseminación artificial, los toros se encuentran exclusivamente en una explotación, lo que ha imposibilitado estudiar este efecto separadamente en este estudio. Le Neindre (1995) hizo una estimación de heredabilidad de 0,22 a partir de las calificaciones por docilidad, así mismo, Altarriba (trabajo no publicado) al calificar la docilidad de vacas pirenaicas de forma subjetiva y relacionarlo con el efecto del toro encontró una heredabilidad del 0,21. La velocidad de huida de las madres estuvo relacionada con la de sus terneros positiva y significativamente ( $n=25$ ,  $R=0,40$ ;  $p=0,05$ ). El test de actitud en báscula y distancia

de huida en cornadizo se han mostrado los más sencillos y prácticos de realizar y miden las reacciones a humanos en dos contextos distintos. Respecto al efecto padre-explotación, aunque hemos apreciado un efecto significativo no hemos podido disociar la contribución de cada factor por la distribución no homogénea de los padres en las explotaciones. Precisamos continuar con este trabajo para ahondar en el efecto de estos factores.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Blanco, M, I., Casasús, I. & Palacio, J. 2009. *Animal* 3:108-117.
- Burrow, H.M., Seifert, G.W., & Corbet, N.J.A. 1988. *Proc Aust Soc Anim Prod*; 17:154-7.
- Fell, L.R., Colditz, I.G., Walker, K.H. & Watson, D.L. 1999. *Aust J Exp Agr* 39, 795-802.
- Grandin, T. 2003. *J. Appl Anim Beh Sci.* 81:215-228.
- Lanier, J.L. & Grandin, T. 2002. *Proceedings West Sec, Am Soc Anim Sci* 53:97-98.
- Le Neindre, P., Trillat, G., Sapa, J. F., Ménissier, F., Bonnet, J.N. & Chupin, J.M. 1995. *J Anim Sci*, 73: 2249-2253.
- Rousing, T. & Waiblinger, S. 2004. *Appl Anim Behav Sci* 85: 215-231

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado en un 73% por el Gobierno de Aragón y 27% Unión Europea FEADER (DRU 2012-02-50-541-00-IFO-00770020008). Los autores agradecen especialmente la colaboración de los socios de ASAPI, así como del personal de la finca experimental de “La Garcipollera” (CITA de Aragón).

**Tabla 1.** Actitud y forma de salida de la báscula en terneros.

	Actitud en báscula		Forma de salida		
	n	%	n	%	
Tranquilo	126	54,5 %	Andando	88	41,5 %
Inquieto	60	26,0 %	Trote	98	46,2 %
Pateo	36	15,6 %	Galope	26	12,3 %
Encabritado	9	3,9 %			

**Tabla 2.** Categorización de las distancias de huida en cornadizo en vacas.

	Categoría	n	% del rebaño
Se dejan tocar	0	17	8,1%
Permiten acercarnos <50cm, pero no se dejan tocar	1	16	7,6%
Permiten acercarnos 50-100 cm	2	44	20,9%
Permiten acercarnos >100cm	3	134	63,5%

### ON-FARM ASSESSMENT OF TEMPERAMENT IN PIRENAICA CATTLE

**ABSTRACT:** The aim of this study was to perform two groups of standardized tests in on-farm conditions to assess animal's fear of humans in Pirenaica cattle, in order to show their usefulness for inclusion in a genetic evaluation scheme in the future. Three tests were conducted in a weighing crush (flight speed test, crush score test, chute score test) and another one in the feeding rack (avoidance distance test). A total of 83 cows and 230 calves of 12 farms were tested in the different procedures. Mean flight speed in pirenaica calves was  $0.71 \pm 0.24$  m/s and was correlated with crush scores in calves and cows ( $R=0.46$ ;  $p<0.001$ ). Crush scores were correlated with exit scores ( $R=0.46$  and  $0.44$ ,  $p<0.01$ , in calves and cows, respectively). Mean avoidance distance was  $1.37 \pm 0.87$  m and 63% of cows could not be approached as closely as 1m. Farm showed an influence in crush and exit scores ( $p=0.01$ ) that could be explained partially by sire effects. Crush score and avoidance distance tests were the more objective and easier to assess, with potential for inclusion in Pirenaica breeding programs.

**Keywords:** on-farm assessment, Pirenaica breed, human-animal relationship, avoidance distance.

## ESTUDIO DE INDICADORES FISIOLÓGICOS COMO PREDICTORES DE ESTRÉS TÉRMICO DE VACAS LECHERAS EN NORTE DE PORTUGAL

Cerqueira, J.O.L.<sup>1</sup>; Araújo, J.P.<sup>2</sup>; Blanco-Penedo, I.<sup>3</sup>; Cantalapiedra J.<sup>4</sup>; Silvestre, M.<sup>5</sup>; Silva, S.R.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. Email: [cerqueira@esa.ipv.pt](mailto:cerqueira@esa.ipv.pt)

<sup>2</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo

<sup>3</sup>Subprograma Bienestar Animal, IRTA, Monells, Girona, España.

<sup>4</sup>Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España.

<sup>5</sup>CECAV - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.

### INTRODUCCIÓN

En respuesta al estrés por calor en el ganado vacuno aparece una reducción en la ingesta de alimentos y producción de leche acompañada de un aumento de la temperatura corporal y de la frecuencia respiratoria de los animales (West, 2003). Los cambios en la temperatura rectal y en la frecuencia respiratoria son los dos parámetros fisiológicos más utilizados como medida de confort animal y de adaptabilidad a ambientes adversos (Hemsworth *et al.*, 1995). Por otro lado, el índice de temperatura-humedad (ITH) del aire puede utilizarse para evaluar el impacto ambiental en el ganado, pues permite describir los efectos del medio ambiente en la capacidad de los animales para disipar el calor. El principal objetivo de este estudio consiste en evaluar el efecto del ITH en varios indicadores de la producción y la utilización de indicadores fisiológicos como predictores de estrés en las vacas lecheras.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el año de 2011 en cuatro explotaciones lecheras del Norte de Portugal que disponían únicamente de ventilación natural, se colocaron dos sondas estáticas (Tinytag ultra 2 - TGU-4500) a una altura del suelo de 2 m, para medir la temperatura y humedad relativa de cada granja. A su vez se recogieron los indicadores de estrés por calor en 53 animales, en cuatro ocasiones distintas (dos en verano y dos en invierno), durante el transcurso del ordeño de la tarde. La temperatura corporal se obtuvo por termómetro insertado en el recto del animal antes del ordeño al tiempo que se registraba su frecuencia respiratoria. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS para Windows versión 19 (SPSS .Inc.) aplicando posteriormente sobre los datos obtenidos un modelo de análisis de varianza doble y triple.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo del año 2011 en 48 días la temperatura se elevó por encima de 25°C, valor a partir del cual los animales entran en estrés por calor (Kadzere *et al.*, 2002), con una mayor prevalencia en verano y en la primavera, con 24 y 16 días respectivamente. El ITH superó el valor de 72 en 51 días del año. Se encontraron diferencias significativas entre granjas para la temperatura rectal y frecuencia respiratoria ( $P < 0.05$ ) observándose también un efecto significativo de la estación del año en estos dos parámetros fisiológicos, con un aumento de aproximadamente 1°C de temperatura corporal y 40 unidades en la frecuencia respiratoria/minuto entre invierno y verano (Tabla 1). Estos valores son muy similares a los citados por Rhoads *et al.* (2009) y Wheelock *et al.* (2010).

Se encontraron correlaciones significativas ( $P < 0.001$ ) (Tabla 2), siendo las más altas entre la temperatura rectal y la frecuencia respiratoria (0.9), entre la frecuencia respiratoria y el ITH (0.83), entre la temperatura ambiente y la frecuencia respiratoria (0.81), entre la temperatura rectal y el ITH (0.79) y entre la temperatura ambiente y la temperatura rectal (0.77).

Hubo una relación lineal entre la frecuencia respiratoria y la temperatura rectal (Figura 1). Estos dos indicadores, de acuerdo con West (2003), cuando excedan de los límites de 80 movimientos/minuto y de 39.1°C indican que los animales están en incomodidad térmica.

Se ha verificado un efecto del ITH en la producción diaria de leche ( $P < 0.05$ ), ya que animales expuestos a  $ITH > 78$  tuvieron una producción inferior de leche, del orden de 1.8 kg (Tabla 3). Estos resultados son similares a los reportados por Wheelock *et al.* (2010) y André *et al.* (2011) cuando aseguran que el estrés térmico provoca una pérdida de producción del orden de 1.5 a 2.0 kg/vaca/día. Se han detectado diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para otros parámetros estudiados como la producción en el ordeño, condición corporal, temperatura rectal y frecuencia respiratoria entre las diferentes clases de ITH. La temperatura rectal y la frecuencia respiratoria tuvieron un aumento de 1.3°C y 37.3 movimientos/minuto respectivamente, cuando el ITH pasa de la clase inferior a 72 hacia la superior de 78 (Tabla 3).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- André, G., Engel, B., Berentsen, P.B.M., Vellinga, Th.V. and Oude Lansink, A.G.J.M., 2011. Quantifying the effect of heat stress on daily milk yield and monitoring dynamic changes using an adaptive dynamic model. *J. Dairy Sci.* 94: 4502-4513.
- Hemsworth, P.H., Barnett, J.L. and Beveridge, L., 1995. The welfare of extensively managed dairy cattle: a review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 42: 161-182.
- Kadzere, C.T., Murphy, M.R., Silanikove, N. and Maltz, E., 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.* 77: 59-91.
- Rhoads, M.L., Rhoads, R.P., VanBaale, M.J., Collier, R.J., Sanders, S.R., Weber, W.J., Crooker, B.A. and Baumgard, L.H., 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.* 92: 1986-1997.
- West, J.W., 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 2131-2144.
- Wheelock, J.B., Rhoads, R.P., VanBaale, M.J., Sanders, S.R. and Baumgard, L.H., 2010. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93: 644-655.

**Tabla 1:** Efecto de la granja y de la estación del año en los indicadores fisiológicos (temperatura rectal y frecuencia respiratoria)

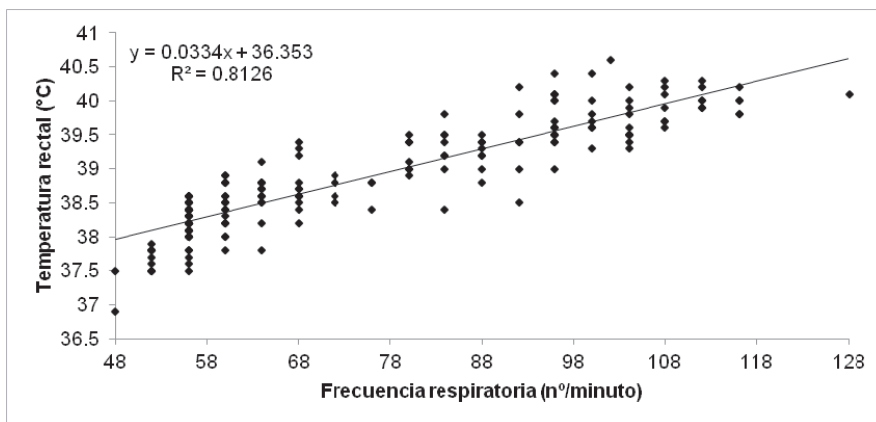
Efectos	N	Indicadores fisiológicos		
		Temperatura rectal	Frecuencia respiratoria	
Granjas	1	44	39.0 <sup>a</sup> ±0.8	71.1 <sup>ab</sup> ±17.3
	2	52	38.6 <sup>b</sup> ±0.6	65.0 <sup>a</sup> ±10.8
	3	52	38.9 <sup>ab</sup> ±0.8	71.7 <sup>ab</sup> ±27.7
	4	64	39.0 <sup>a</sup> ±0.8	78.7 <sup>b</sup> ±27.8
Estación	verano	106	39.4 <sup>a</sup> ±0.6	90.6 <sup>a</sup> ±17.1
	invierno	106	38.3 <sup>b</sup> ±0.4	53.6 <sup>b</sup> ±9.2

En los componentes analizados valores de letra distinta (a≠b) son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 2:** Correlaciones entre los indicadores ambientales y fisiológicos

Indicadores ambientales	Indicadores fisiológicos	
	Temperatura rectal	Frecuencia respiratoria
Temperatura ambiente	0.77***	0.81***
Humedad	-0.63***	-0.66***
ITH	0.79***	0.83***

Todos los valores de r fueron significativamente (\*\*\*) $P < 0.001$  diferentes de cero



**Figura 1:** Regresión lineal entre la frecuencia respiratoria y la temperatura rectal

**Tabla 3:** Influencia de la clase de ITH, número de lactación y fase de lactación, en la producción, CC y en los indicadores fisiológicos (n=212)

Efectos	Indicadores	P. ord.	P. día	P. 305	CC	T. rectal	Frec. resp.
Clase ITH	ITH<72	16.2 <sup>a</sup>	34.8 <sup>a</sup>	8851 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	37.4 <sup>a</sup>	43.4 <sup>a</sup>
	ITH>78	14.8 <sup>b</sup>	33.0 <sup>b</sup>	8864 <sup>a</sup>	2.6 <sup>b</sup>	38.7 <sup>b</sup>	80.7 <sup>b</sup>
Nº lactación	1	16.6 <sup>a</sup>	36.0 <sup>a</sup>	9018 <sup>ab</sup>	2.7 <sup>a</sup>	38.0 <sup>a</sup>	60.2 <sup>a</sup>
	2	15.8 <sup>a</sup>	34.8 <sup>a</sup>	9127 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	38.1 <sup>a</sup>	63.2 <sup>a</sup>
	≥3	14.1 <sup>b</sup>	30.9 <sup>b</sup>	8427 <sup>b</sup>	2.5 <sup>b</sup>	38.0 <sup>a</sup>	62.7 <sup>a</sup>
Fase lactación	≤60 días	18.5 <sup>a</sup>	41.2 <sup>a</sup>	8469 <sup>a</sup>	2.2 <sup>a</sup>	37.2 <sup>a</sup>	51.3 <sup>a</sup>
	>60 días	12.5 <sup>a</sup>	26.7 <sup>a</sup>	9246 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	38.9 <sup>a</sup>	72.7 <sup>a</sup>
Probabilidad	Ci. ITH	0.028	0.151	0.214	0.01	<0.001	<0.001
	Nº lact.	0.001	0.001	0.919	<0.001	0.485	0.386
	F. lact.	0.441	0.344	0.412	0.196	0.115	0.463
	DL lactación	0.815	0.932	0.846	0.245	0.140	0.524
	DLxF.lact.	0.582	0.418	0.845	0.249	0.138	0.592
EEM	Ci. ITH	3.93	7.68	1.05	0.36	0.51	14.62
	Nº lact.	3.93	7.68	1.05	0.36	0.51	14.63
	F. lact.	4.05	7.92	1.08	0.37	0.53	15.08

P. ord. – producción/ordeño; P. día – producción/día; P. 305 – producción a los 305 días; CC – condición corporal; T. rectal – temperatura rectal; Frec. resp.- frecuencia respiratoria; EEM – error estándar de la media

En los componentes analizados valores de letras distintas (a#b) son significativamente diferentes (P<0.05).

## STUDY PHYSIOLOGICAL INDICATORS AS PREDICTORS OF HEAT STRESS OF DAIRY COWS IN NORTHERN PORTUGAL

**ABSTRACT:** We studied the physiological indicators (rectal temperature and respiratory rate) on four farms in Northern Portugal, on 53 animals during the year 2011. There were 48 days with temperatures above 25°C and THI was over 72 on 51 days of the year. In Summer the animals showed a further 1°C and 40 movements/minute than the observed in Winter. The correlations between physiological and environmental variables were high ( $r>0.77$ ). And there was a very important and positive correlation between respiratory rate and rectal temperature ( $r=0.9$ ), which allows measuring just one of those indicators to evaluate heat stress of the animals. When the  $THI>78$  individual cows showed a milk production less than 1.8 kg/cow/day. Rectal temperature and respiratory rate experienced an increase of 1.3°C and 37.3 movements/minute respectively, when the THI class goes below 72 to over 78.

**Keywords:** welfare, Dairy cows, heat-stress, THI.

## ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS EQUIPAMIENTOS CON INFLUENCIA EN EL BIENESTAR ANIMAL EN GRANJAS DE VACAS LECHERAS

Cerqueira, J.O.L.<sup>1</sup>; Paço, S.M.<sup>1</sup>; Blanco-Penedo, I.<sup>2</sup>; Cantalapiedra J.<sup>3</sup>; Cadavez, V.<sup>4</sup>; Araújo, J.P.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. Email: cerqueira@esa.ipv.pt

<sup>2</sup>Subprograma Bienestar Animal, IRTA, Monells, Girona, España.

<sup>3</sup>Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España.

<sup>4</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, Portugal.

<sup>5</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo.

### INTRODUCCIÓN

Según Fraser y Broom (1998) un número insuficiente de cubículos, al no permitir que todas las vacas se acuesten al mismo tiempo, conduce a interacciones sociales agresivas, y lleva consigo que a veces se acuesten en los pasillos, donde la suciedad y el riesgo de lesiones es mayor. El diseño incorrecto y unas dimensiones no apropiadas de los cubículos pueden conducir a la no utilización de los mismos. Las dimensiones elegidas para los cubículos representan un compromiso entre la comodidad de la vaca y de su limpieza. Los cubículos deberían permitir a las vacas acostarse y levantarse de forma natural y cómoda. Según McFarland (2003) las vacas deben tener espacio adecuado, una superficie lisa, no porosa y fácil de limpiar para su alimentación. Estos, deberían permitir a las vacas la ingestión de alimento con la cabeza en posición de pastoreo natural. El suministro de agua limpia y fresca es esencial para asegurar la producción de leche, el control de la temperatura corporal, así como el mantenimiento de las funciones vitales de las vacas lecheras. Alrededor de los bebederos debe haber espacio suficiente para permitir que las vacas se muevan sin problemas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo ha resultado de la recogida de datos de los cubículos (longitud y anchura), comederos, guillotinas y bebederos en seis granjas lecheras del Norte de Portugal, con un tamaño de entre 34 y 90 vacas en lactación. Las medidas de los equipamientos han sido efectuadas mediante cinta métrica. Todas las granjas tenían los animales en estabulación libre con cubículos. Para el análisis estadístico se utilizó Excel 2010 y el programa SPSS (versión 15).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de cubículos ( $-4.6 \pm 6.8$ ) y guillotinas ( $-18.4 \pm 13.4$ ) en la mayoría de las granjas estudiadas es inferior al efectivo lechero en producción (Tabla 1), no se adecua por tanto a las recomendaciones de Fraser y Broom (1998), que indican que un número insuficiente de cubículos, perjudica el descanso de los animales y es un factor de riesgo por el que más vacas se acuestan en los pasillos de circulación, agravando el grado de higiene de los mismos. En relación al número de guillotinas, es importante referir que en la mayoría de las granjas, los animales no tienen espacio suficiente para acceder simultáneamente al comedero, lo que puede impedir su rutina de alimentación.

La longitud de los cubículos cabeza con cabeza ( $2.27 \pm 0.12$  m) se ajusta al que documenta Cook *et al.* (2005), aunque si bien se aproxima al valor mínimo recomendado por este autor (2.20 a 2.40 m). Por otra parte los cubículos contra la pared ( $2.28 \pm 0.10$  m), se distancian del valor mínimo indicado por Cook *et al.* (2005), siendo este de 2.44 m.

La importancia de las dimensiones del comedero yace en que las vacas con más espacio en el comedero aumentaban la distancia entre ellas, disminuyendo el comportamiento agresivo y en consecuencia aumentando el período de actividad alimentaria (DeVries y Keyserlingk, 2006). La longitud del comedero por animal en las

granjas estudiadas fue de  $0.65 \pm 0.11$  m, valor ligeramente inferior al recomendado por McFarland (2003), de 0.69 a 0.76 m, sin embargo según Grant y Albright (2001), la longitud del comedero debe ser del orden de 0.60 m, existiendo dos granjas con valores alrededor de 0.5 m.

El número de bebederos por granja varió entre 2 a 7 y en dos granjas se encontró un número elevado de vacas por bebedero (granja 5 y 6). Sin embargo otras (granjas 2 y 3) tenían ratios más razonables (5 a 9 vacas por bebedero) para suplir así las necesidades fisiológicas de los animales.

La profundidad de los bebederos fue de  $0.23 \pm 0.05$  m, y el nivel del agua estaba 0.07 m por debajo del borde del bebedero. Valores similares fueron descritos en otros estudios (McFarland, 2003). El espacio disponible por vaca en bebedero fue ligeramente inferior ( $0.09 \pm 0.04$  m) al mencionado por McFarland (2003), en el orden de 10 hasta 12 cm por animal, sin embargo son bastante superiores a los valores descritos por Welfare Quality (2009), sugiriendo 4 - 6 cm por vaca.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cook, N.B., Bennett, T. B. , Nordlund, K.V., 2005. Monitoring indices of cow comfort in free-stall-housed dairy herds. *Journal of dairy science*, 88: 3876-3885.
- DeVries, T.J., Von Keyserlingk, M.A.G., 2006. Feed stalls affect the social and feeding behavior of lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 89: 3522-3531.
- Fraser, A.F., Broom, D.M., 1998. *Farm Animal Behaviour and Welfare*, CAB International, New York.
- Grant, R.J. Albright, J.L., 2001. Effect of Animal Grouping on Feeding Behaviour and Intake of Dairy Cattle. *The American Dairy Science Association*, 84: 156-163.
- McFarland, D.F., 2003. Nutritional interactions related to dairy shelter design and management. *Advances in Dairy Technology*, 15: 69-83.
- Welfare Quality, 2009. Assessment protocol for cattle. Uppsala, Suécia.

**Tabla 1:** Relación entre el número de cubículos, guillotinas y vacas en producción

Granjas	1	2	3	4	5	6	Media ± DP
n° vacas - n° cubículos	+5	-8	-9	-40	-11	0	-4.6±6.8
n° vacas - n° guillotinas	0	-32	-29	-40	-21	-10	-18.4±13.4

**Tabla 2:** Estadística descriptiva de los elementos constitutivos de los cubículos (m)

Cubículo	Mé dia±DP	Mínimo	Máximo
LCUBCC	2.27±0.12	2.20	2.40
ACUBCC	1.18±0.06	1.15	1.25
LCUBCP	2.28±0.10	2.20	2.40
ACUBCP	1.20±0.05	1.15	1.25

LCUBCC – longitud del cubículo cabeza con cabeza; ACUBCC – anchura del cubículo cabeza con cabeza; LCUBCP – longitud del cubículo contra la pared; ACUBCP – anchura del cubículo contra la pared.

**Tabla 3:** Longitud y profundidad del comedero (m)

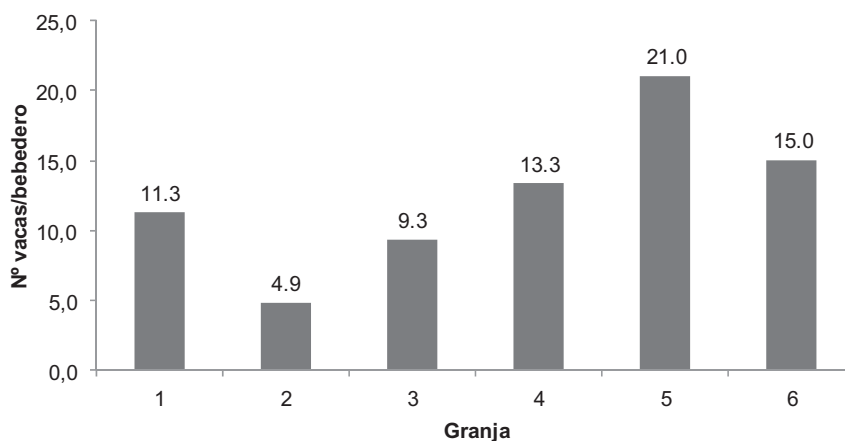
Comedero	1	2	3	4	5	6	Mé dia ± DP
Longitud/vaca	0.51	0.68	0.64	0.53	0.76	0.78	0.65±0.11
Profundidad interior	0.40	0.55	0.45	0.45	0.55	0.55	0.49±0.07
Profundidad exterior	0.25	0.40	0.40	0.35	0.40	0.40	0.37±0.06



**Tabla 4:** Estadística descriptiva del número y dimensiones de los bebederos (m)

Bebederos	Media±DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
NBEB/GRANJA	5.17±1.83	2.00	7.00	35.51
LBEB	1.04±0.49	0.32	1.40	47.73
ABEB	0.23±0.05	0.20	0.30	22.13
LBEB/VACA	0.09±0.04	0.03	0.15	47.07

NBEB/GRANJA – número de bebederos por granja; LBEB – longitud del bebedero; ABEB – altura del bebedero; LBEB/VACA – longitud del bebedero por vaca.



**Figura 1:** Distribución del número de vacas por bebedero en cada granja

### STUDY OF THE CHARACTERISTICS OF EQUIPMENTS WITH INFLUENCE ON ANIMAL WELFARE IN DAIRY FARMS

**ABSTRACT:** The study aimed to assess animal welfare regarding environmental resources such as the level of cubicles, feeders and drinkers. Was carried out on six farms in the Northern of Portugal, with herd size ranging from 34 to 90 lactating cows. The number of cubicles ( $-4.6\pm 6.8$ ) and guillotines ( $-18.4\pm 13.4$ ) was insufficient in the farms studied. The cubicles length head to head ( $2.27\pm 0.12$  m) and the wall ( $2.28\pm 0.10$  m) was slightly lower than recommendations for dairy cows. The length feeder for animal was  $0.65\pm 0.11$  m, with an averaged depth interior of  $0.49\pm 0.07$  m and exterior of  $0.37\pm 0.06$  m. The average number of cows was 12.5 per trough and the trough space per cow was considered adequate ( $0.09\pm 0.04$  m).

**Keywords:** *animal welfare, cubicles, feeders, troughs.*

## EFFECTO DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL SOBRE EL BIENESTAR, LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDEROS DE CEBADEROS: RAMPAS DE ALIMENTACIÓN.

L.A. Aguayo-Ulloa<sup>1</sup>, G.C. Miranda-de la Lama, M. Pascual-Alonso, J.L. Olleta, M. Villarroel<sup>2</sup>, G.A. María.

<sup>1</sup>Miguel Servet 177, Departamento de Producción Animal y Ciencias de los alimentos, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España. [laquayo@unizar.es](mailto:laquayo@unizar.es)

### INTRODUCCIÓN

De acuerdo al Eurobarómetro el bienestar de los animales de granja es de creciente interés entre los Europeos. Ello ha conducido al desarrollo de nuevas regulaciones para los sistemas producción orientadas a preservar el bienestar animal. La producción de corderos se ha intensificado con la inclusión de centros cooperativos de clasificación y cebo (CC). Su integración en la cadena logística del sistema simplifica el proceso al ganadero, resuelve problemas de mano de obra, mejora la homogeneidad del producto y favorece la creación de marcas. El nuevo esquema debe hacer frente a nuevos problemas, tales como múltiples transportes, mezcla social de animales y, sobre todo, la novedad ambiental a la que deben hacer frente los corderos en un ambiente pobre y poco estimulante (Aguayo-Ulloa et al., 2012; Miranda-de la Lama, 2012). La hipótesis de trabajo propone que enriqueciendo el ambiente se favorece la adaptación de los corderos al CC, minimizando el coste biológico y favoreciendo los rendimientos y la calidad del producto. No existen estudios que analicen el efecto del enriquecimiento ambiental en el ambiente de producción en corderos. Este trabajo es el primero de una serie de tres, cuyo objetivo es analizar el efecto del enriquecimiento ambiental funcional completo utilizando rampas de alimentación en la fase final de cebo de corderos sobre la respuesta de estrés, los indicadores de producción y calidad de la carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Sesenta corderos machos de raza Rasa Aragonesa de 65 días de edad ( $17.2 \pm 0.2$  kg peso vivo) distribuidos en 2 tratamientos (enriquecido o estándar), fueron estabulados por 5 semanas en 6 corrales ( $2.9\text{m} \times 3.3\text{m}$ , densidad  $0.45\text{m}^2/\text{cordero}$ , 10 corderos/corral, en 3 réplicas por tratamiento). El grupo control (CG) se diseñó imitando la estabulación intensiva en CC, sin el uso de paja y ningún *item* adicional. El grupo enriquecido (EG) disfrutó de paja como forraje y cama, de una plataforma con rampas para acceder a la tolva de pienso (elevada) y una pequeña rampa adicional de juego. Los corderos fueron alimentados *ad libitum* con pienso comercial del CC. Se registró el consumo de pienso. Los corderos fueron pesados al comienzo y al final del experimento. Se estimó el crecimiento medio diario (CMD). Tres días previo al sacrificio se tomaron muestras de temperatura corporal por termografía infra-roja (IR) y un día previo al sacrificio se tomaron muestras sangre para evaluar la respuesta fisiológica al estrés. En el matadero se evaluaron visualmente las canales de acuerdo al sistema de clasificación Europeo de conformación y engrasamiento, y se midió el pH a las 24 hrs. Se extrajo el lomo izquierdo para su evaluación. El color se estimó usando un colorímetro Minolta CM200. La textura de la carne cocinada fue medida con un dispositivo de cizalla de Warner-Braztler. Las variables de estrés, producción y calidad de carne se analizaron con un modelo de efectos fijos (tipo de ambiente), covariando con el peso de la canal fría las variables de calidad de carne (GLM, SAS, 1988).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de ratio neutrófilos/linfocitos (N/L) fueron significativamente mayores ( $P < 0.05$ ) en los corderos CG, como así también los de AGNE (Tabla 1). Estas diferencias entre tratamientos estarían asociadas a estrés crónico en ambientes sensorialmente pobres dificultando una correcta adaptación al medio novedoso del CC, indicando cierto nivel de inmunosupresión en los corderos CG. Los niveles de glucosa fueron significativamente

mayores ( $P < 0.05$ ) en los corderos EG, lo cual podría asociarse a un mayor ejercicio. Los corderos EG tuvieron significativamente ( $P < 0.05$ ) mayor CMD (+18.3%), mayores pesos de la canal fría (+4.1%) y mejor puntuación grasa, que los corderos CG. Además, los corderos EG obtuvieron significativamente ( $P < 0.05$ ) valores de  $pH_{uit}$  más bajos (pH 24 h *post-mortem*), de color ( $L^*$ ,  $b^*$ ,  $H^*$ ) más elevado y obtuvieron valores de textura más bajos (Tabla 2). Los resultados confirman la hipótesis de que los corderos finalizados en un ambiente enriquecido con múltiples ítems producen mejor y aumentan su habilidad adaptativa al nuevo ambiente. Ello aumenta la eficiencia del sistema de producción y mejora el bienestar de los corderos. El estudio confirma la importancia del enriquecimiento ambiental para minimizar el impacto de la transición del ambiente materno de la granja al cebadero, mejorando el bienestar animal y la productividad del sistema. Se satisface al mismo tiempo la demanda de los consumidores preocupados por el bienestar animal. A medio plazo, se debería redefinir el concepto de calidad del producto incluyendo aspectos asociados a la calidad ética del mismo. Ello dotaría de un valor agregado al producto que mejoraría los ingresos de aquellos ganaderos que introduzcan mejoras orientadas a preservar el bienestar animal y la calidad del producto.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguayo-Ulloa, L. A., Miranda-de la Lama, G.C., Pascual-Alonso, M., Fuchs, K., Olleta, J.L., Campo & María, G. 2012. *Small Rum Res.* Doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.09.011• Miranda-de la Lama, G.C., Villarroel, M., & Maria, G.A. 2012. *Small Rum Res.* 103: 158-163• SAS, 1988.

**Agradecimientos:** Al Ministerio de Economía y Competitividad de España por el financiamiento (AGL2009-10794), y la beca FPI de Lorena Aguayo-Ulloa. A Mercazaragoza y a la Cooperativa Pastores. Al Servicio de Experimentación Animal (SEA) de UNIZAR.

### EFFECT OF ENRICHED HOUSING ON WELFARE, PRODUCTION PERFORMANCE AND MEAT QUALITY IN FINISHING LAMBS: THE USE OF FEEDER RAMPS.

The aim was to analyze the effect of enriched housing during the finishing phase of fattening on physiological welfare indicators, production and meat quality traits in lambs. 60 Rasa Aragonesa lambs ( $17.2 \pm 0.2$  kg), were divided into 2 treatments and housed indoors for 5 weeks in 6 pens ( $0.45\text{m}^2/\text{lamb}$ , 10 lambs/each, 3 replicates/treatment). The control group (CG) was a barren environment similar than intensive conditions, without straw or any additional item. The enriched group (EG) contained multiple items: straw as forage and bedding, platform with ramps to get the feed hopper and a small play ramp. *Ad libitum* concentrate feed consumption was recorded and lambs were weighted twice to estimate ADG. Blood samples were taken before slaughter. Carcass and instrumental meat quality were measured. EG lambs perform better and increase their adaptation ability to novel environment than CG lambs. EG group had better productive performance and meat quality. Our study confirms the importance of housing enrichment as critical aspect to improve animal welfare and suggest that by this way is possible to improve the meat quality.

**Keywords:** lambs, environmental enrichment, welfare, meat quality.

**Tabla 1. Medias ( $\pm$ SE) de las variables fisiológica de estrés en corderos finalizados en ambiente enriquecido (rampas más paja) versus ambiente no enriquecido.**

Variable respuesta	CG	EG
Cortisol (nmol/L)	43.88 ( $\pm$ 5.55)	48.40 ( $\pm$ 5.65)
Glucosa (mg/dl)	86.80 ( $\pm$ 2.25) <sup>a</sup>	101 ( $\pm$ 2.25) <sup>b</sup>
Lactato (mg/dl)	23.69 ( $\pm$ 1.87)	19.7 ( $\pm$ 1.87)
AGNE (mg/ml x 100)	7 ( $\pm$ 1,5) <sup>a</sup>	3 ( $\pm$ 1.5) <sup>b</sup>
CK (IU/L)	208 ( $\pm$ 18)	184 ( $\pm$ 18)
Ratio N/L	0.81 ( $\pm$ 0.07) <sup>a</sup>	0.57 ( $\pm$ 0.07) <sup>b</sup>
Hematocrito (%)	27.68 ( $\pm$ 0.9)	27.24 ( $\pm$ 0.89)
CSB ( $10^9$ /L)	8.17 ( $\pm$ 0.53)	8.15( $\pm$ 0.44)
CSR ( $10^{12}$ /L)	9.84 ( $\pm$ 0.33)	9.57 ( $\pm$ 0.33)
Hemoglobina (g/dl)	10.90 ( $\pm$ 0.17)	10.97 ( $\pm$ 0.16)
IR Termografía (°C)	37.85 ( $\pm$ 15)	37.76 ( $\pm$ 0.15)

a, b: Letras diferentes en la misma fila significa diferencia entre tratamientos (P<0.05).

N/L: ratio neutrófilos/linfocitos. CK: creatin kinasa. AGNE: ácidos grasos no esterificados. CSB: células sanguíneas blancas. CSR: células sanguíneas rojas. IRT: Termografía infra roja

**Tabla 2. Media ( $\pm$ SE) de las variables de producción y de calidad de canal y de la carne en corderos finalizados en ambiente enriquecido (rampas más paja) versus ambiente no enriquecido.**

Variable respuesta	CG	EG
CMD (kg)	0.305 ( $\pm$ 0.01) <sup>a</sup>	0.361 ( $\pm$ 0.01) <sup>b</sup>
Peso final(kg)	26.30 ( $\pm$ 0.39) <sup>a</sup>	27.40 ( $\pm$ 0.38) <sup>b</sup>
Peso canal fría (kg)	11.88 ( $\pm$ 23) <sup>a</sup>	12.59 ( $\pm$ 0.23) <sup>b</sup>
Rendimiento (%)	46.37( $\pm$ 0.32)	46.50( $\pm$ 0.32)
Hematomas (0-3)	0.13 ( $\pm$ 0.12)	0.43 ( $\pm$ 0.12)
Índice de conformación	5.90 ( $\pm$ 0.27)	5.90 ( $\pm$ 0.27)
Índice de engrasado	5.03 ( $\pm$ 0.18) <sup>a</sup>	5.53 ( $\pm$ 0.18) <sup>b</sup>
pH <sub>uit</sub>	5.59 ( $\pm$ 0.01) <sup>a</sup>	5.53 ( $\pm$ 0.01) <sup>b</sup>
Pérdidas x cocinado (%)	14.85 ( $\pm$ 0.69) <sup>a</sup>	15.59 ( $\pm$ 0.69) <sup>b</sup>
Color de la carne		
Luminosidad (L*)	42.24 ( $\pm$ 0.37) <sup>a</sup>	44.37 ( $\pm$ 0.37) <sup>b</sup>
Índice de rojo (a*)	19.19 ( $\pm$ 0.90)	18.75 ( $\pm$ 0.90)
Índice de amarillo (b*)	7.65 ( $\pm$ 0.24) <sup>a</sup>	8.62 ( $\pm$ 0.24) <sup>b</sup>
C* (chroma)	20.74 ( $\pm$ 0.90)	20.66 ( $\pm$ 0.90)
H* (hue)	22.49 ( $\pm$ 0.59) <sup>a</sup>	24.67 ( $\pm$ 0.59) <sup>b</sup>
Textura por W-B		
Fuerza cizalla (kg/cm <sup>2</sup> )	4.42 ( $\pm$ 0.19) <sup>a</sup>	3.55 ( $\pm$ 0.19) <sup>b</sup>
Máximo stress (kg/cm <sup>2</sup> )	4.41 ( $\pm$ 0.17) <sup>a</sup>	3.58 ( $\pm$ 0.17) <sup>b</sup>
Dureza (kg)	1.79 ( $\pm$ 0.09) <sup>a</sup>	1.29 ( $\pm$ 0.09) <sup>b</sup>

a, b: diferentes letras dentro de la misma fila representa diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

CMD: crecimiento medio diario.

## EFFECTO DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL SOBRE EL BIENESTAR, LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDEROS DE CEBADEROS: EL DOBLE PISO.

L.A. Aguayo-Ulloa<sup>1</sup>, G.C. Miranda-de la Lama, M. Pascual-Alonso, J.L. Olleta, M. Villarroel<sup>2</sup>, G.A. María.

<sup>1</sup>Miguel Servet 177, Departamento de Producción Animal y Ciencias de los alimentos, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España. [laquayo@unizar.es](mailto:laquayo@unizar.es)

### INTRODUCCIÓN

Según el Eurobarómetro el bienestar de los animales de granja es de creciente interés entre los Europeos. Ello ha conducido al desarrollo de nuevas regulaciones para los sistemas producción orientadas a preservar el bienestar de los animales. El sistema de producción de carne de cordero se ha intensificado significativamente con la inclusión en la cadena de producción de los centros cooperativos de clasificación y cebo (CC). Su integración en la cadena logística simplifica el proceso, resuelve problemas de mano de obra, mejora la homogeneidad del producto y favorece la creación de marcas. Sin embargo, el nuevo esquema debe hacer frente a nuevos problemas, tales como múltiples transportes, mezcla social de animales y, sobre todo, la novedad ambiental a la que deben hacer frente los corderos en un ambiente pobre (Aguayo-Ulloa et al., 2012; Miranda-de la Lama, 2012). La hipótesis de trabajo propone que enriqueciendo el ambiente se favorecería el proceso de adaptación de los corderos al CC, minimizando su coste biológico. Ello favorecería los rendimientos y la calidad del producto, mejorando el bienestar de los corderos. No existen estudios que analicen el efecto del enriquecimiento ambiental en corderos de cebo. Este trabajo es el segundo de una serie de tres, y analiza el efecto del enriquecimiento ambiental funcional completo con dobles pisos y rampas en la fase final de cebo de corderos sobre la respuesta de estrés, los indicadores de producción y calidad de la carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Sesenta corderos machos de raza Rasa Aragonesa (65 días de edad y 17.2±0.2 kg peso) se asignaron a 2 tratamientos (ambiente enriquecido o estándar). Se estabularon 5 semanas en 6 corrales (2.9m x 3.3m, densidad 0.45m<sup>2</sup>/cordero, 10 corderos/corral, en 3 réplicas por tratamiento). El control (CG) imitó las condiciones intensivas del CC, sin paja y ningún *item* adicional. El grupo enriquecido (EG) dispuso de paja como forraje y cama, de una plataforma de doble piso (0.50 m alto, 0.95 m ancho y 2.0m largo) para descanso, refugio, exploración y juego, situada en una esquina del corral con 2 rampas de acceso al piso superior. La alimentación fue *ad libitum* con pienso comercial, registrándose el consumo. Los corderos se pesaron al inicio y al final del ensayo para estimar el crecimiento medio diario (CMD). Al final del cebo se obtuvieron termografías infrarrojas (IR) y muestras sangre para evaluar la respuesta fisiológica al estrés. Las canales se evaluaron de acuerdo al sistema de clasificación Europeo de conformación y engrasamiento, y se midió el pH a las 24 hrs. Se muestreó el lomo izquierdo para su evaluación. El color se estimó usando un colorímetro Minolta CM200. La textura de la carne cocinada fue medida con un dispositivo de cizalla de Warner-Braztler. Las variables de estrés, producción y calidad de carne se analizaron con un modelo de efectos fijos (alojamiento).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sorprendentemente, el cortisol fue significativamente más elevado ( $P<0.05$ ) en el grupo EG que en el CG (+142%), ocurriendo algo similar con los valores de IR (+0.57°C) (Tabla 1). Los corderos EG presentaron también significativamente más lactato (+74,4%), NEFA (+182%) y CK (40%) que los CG ( $P<0.05$ ). Ello indicaría un mayor un estrés agudo en los corderos EG, como consecuencia de una aumentada sensibilidad a estímulos novedosos y reactividad. La posible causa pudo ser el menor contacto visual con los cuidadores al

disponer de un refugio cubierto que utilizaban de forma significativa durante el día. Sin embargo el mayor ratio N/L ( $P<0.05$ ) observado en los corderos CG indicaría cierta inmunodepresión por estrés crónico de origen multifactorial, causado por el ambiente pobre del sistema intensivo. No se detectaron diferencias significativas para los indicadores productivos. Los corderos EG presentaron menores pérdidas por cocinado (-2,19 pts. porcentuales), valores más bajos de color ( $L^*$ ,  $a^*$ , Chroma). Los valores de textura de la carne fueron algo más elevados ( $P<0.05$ ) en los corderos EG. Los resultados de este estudio no confirman plenamente la hipótesis de trabajo. No obstante, los corderos finalizados en el ambiente enriquecido presentaron mejores niveles de inmunidad, menores pérdidas por cocinado. El mayor nivel de estrés agudo por manejo de los corderos EG no afectó los indicadores de producción, pero sí algunos indicadores de calidad instrumental de la carne. El estudio confirma la importancia de analizar cuidadosamente los elementos de enriquecimiento más adecuados a la especie. De esta manera se evitarán errores al poner en práctica comercialmente ítems de enriquecimiento ambiental. Los datos obtenidos serán de utilidad a los responsables del desarrollo de las normas de bienestar animal para esta especie, que actualmente se hallan en proceso de estudio en la UE.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguayo-Ulloa, L. A., Miranda-de la Lama, G.C., Pascual-Alonso, M., Fuchs, K., Olleta, J.L., Campo & María, G. 2012. Small Rumin Res. [Doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.09.011](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.09.011)•  
Miranda-de la Lama, G.C., Villarroel, M., & Maria, G.A. 2012. Small Rum Res. 103: 158-163•

**Agradecimientos:** Al Ministerio de Economía y Competitividad por el financiamiento (AGL2009-10794), y la beca FPI de L. Aguayo-Ulloa. A Mercazaragoza y al Grupo Cooperativo Pastores. Al Servicio de Experimentación Animal (SEA) de UNIZAR.

### EFFECT OF ENRICHED HOUSING ON WELFARE, PRODUCTION PERFORMANCE AND MEAT QUALITY IN FINISHING LAMBS: THE USE OF DOUBLE BUNK.

The study analyzes the effect of full enriched housing during the finishing phase of fattening on physiological welfare indicators, production and meat quality traits in lambs. A total of 60 male lambs ( $17.1\pm 0.2$  kg), were assigned into two treatments (full enriched or barren), housed indoor for 5 weeks in 6 pens ( $0.45\text{m}^2/\text{lamb}$ , 10 lambs/each, 3 replicates). The control group (CG) was finished in the usual conditions of the cooperative feed-lots, without straw and any additional items. The enriched group (EG) was housed in full enriched pens with straw as forage and bedding and a double bunk with ramps. *Ad libitum* concentrate feed consumption was recorded and lambs were weighted twice to estimate average daily gain. Infrared thermography and blood samples were taken before slaughter. Carcass and meat quality were measured. EG lambs presented signs of acute stress associated to a higher reactivity consequence of the lower visual contact with humans due to the use of the double bunk as a refuge. On the other hand, CG lambs presented some signs of immune-depression consequence of the chronic stress caused by the barren environment. There were no significant differences on productive performance despite that EG lambs presented acute stress. However, EG lambs presented some signs of lesser meat instrumental quality.

**Keywords:** lambs, environmental enrichment, welfare, meat quality.

**Tabla 1. Medias ( $\pm$ SE) de las variables fisiológica de estrés en corderos finalizados en ambiente enriquecido (dobles pisos más paja) versus ambiente no enriquecido.**

Variable respuesta	CG	EG
Cortisol (nmol/L)	43.88( $\pm$ 5.58) <sup>a</sup>	106.24(5.58 $\pm$ ) <sup>b</sup>
Glucosa (mg/dl)	86.80( $\pm$ 3.16)	85.90( $\pm$ 3.16)
Lactato (mg/dl)	23.70( $\pm$ 2.51) <sup>a</sup>	41.33( $\pm$ 2.51) <sup>b</sup>
AGNE (mg/ml x 100)	6.9( $\pm$ 2.9) <sup>a</sup>	19.5( $\pm$ 2.9) <sup>b</sup>
CK (IU/L)	208( $\pm$ 18) <sup>a</sup>	291( $\pm$ 18) <sup>b</sup>
Ratio N/L	0.75( $\pm$ 0.07) <sup>a</sup>	0.48( $\pm$ 0.07) <sup>b</sup>
Hematocrito (%)	27.68( $\pm$ 0.9)	28.65( $\pm$ 0.9)
CSB (10 <sup>9</sup> /L)	8.17( $\pm$ 0.53)	NA
CSB (10 <sup>12</sup> /L)	9.85( $\pm$ 0.31)	10.64( $\pm$ 0.34)
Hemoglobina (g/dl)	10.90( $\pm$ 0.16)	10.83( $\pm$ 0.18)
IR Termografía (°C)	37.85(0.08 $\pm$ ) <sup>a</sup>	38.42(0.08 $\pm$ ) <sup>b</sup>

a, b: Letras diferentes en la misma fila significa diferencia entre tratamientos (P<0.05).

N/L: ratio neutrófilos/linfocitos. CK: creatin kinasa. NEFA: ácidos grasos no esterificados. CSB: células sanguíneas blancas. CSR: células sanguíneas rojas. IRT: Termografía infra roja

**Tabla 2. Media ( $\pm$ SE) de las variables de producción y de calidad de canal y de la carne en corderos finalizados en ambiente enriquecido (dobles pisos más paja) versus ambiente no enriquecido.**

Variable respuesta	CG	EG
CMD (kg)	0.263( $\pm$ 0.01)	0.257( $\pm$ 0.01)
Peso final(kg)	26.30( $\pm$ 0.38)	25.73( $\pm$ 0.36)
Peso canal fría (kg)	11.88( $\pm$ 0.21)	11.84( $\pm$ 0.21)
Rendimiento (%)	46.38( $\pm$ 0.34)	46.04( $\pm$ 0.33)
Hematomas (0-3)	0.13( $\pm$ 0.08)	0.26( $\pm$ 0.08)
Índice de conformación	5.9( $\pm$ 0.24) <sup>a</sup>	4.60( $\pm$ 0.24) <sup>b</sup>
Índice de engrasamiento	5.03( $\pm$ 0.14)	4.9( $\pm$ 0.14)
pH <sub>uit</sub>	5.59( $\pm$ 0.01)	5.58( $\pm$ 0.01)
Pérdidas x cocinado (%)	14.85( $\pm$ 0.58) <sup>a</sup>	12.66( $\pm$ 0.58) <sup>b</sup>
Color de la carne		
Luminosidad (L*)	42.24( $\pm$ 0.37) <sup>a</sup>	40.06( $\pm$ 0.37) <sup>b</sup>
Índice de rojo (a*)	19.20( $\pm$ 0.87) <sup>a</sup>	16.94( $\pm$ 0.87) <sup>b</sup>
Índice de amarillo (b*)	7.65( $\pm$ 0.21)	7.28( $\pm$ 0.24)
C* (chroma)	20.74( $\pm$ 0.87) <sup>a</sup>	18.44( $\pm$ 0.87) <sup>b</sup>
H* (hue)	22.49( $\pm$ 0.51)	23.21( $\pm$ 0.51)
Textura por W-B		
Fuerza cizalla (kg/cm <sup>2</sup> )	4.42( $\pm$ 0.23) <sup>a</sup>	5.33( $\pm$ 0.23) <sup>b</sup>
Máximo stress (kg/cm <sup>2</sup> )	4.41( $\pm$ 0.22) <sup>a</sup>	5.11( $\pm$ 0.22) <sup>b</sup>
Dureza (kg)	1.79( $\pm$ 0.09) <sup>a</sup>	2.06( $\pm$ 0.09) <sup>b</sup>

a, b: diferentes letras dentro de la misma fila representa diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

CMD: crecimiento medio diario.

## EFFECTO DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL SOBRE EL BIENESTAR, LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDEROS DE CEBADEROS: DIVISIÓN VIRTUAL CON ALEROS.

L.A. Aguayo-Ulloa<sup>1</sup>, G.C. Miranda-de la Lama, M. Pascual-Alonso, J.L. Olleta, M. Villarroel<sup>2</sup>, G.A. María.

<sup>1</sup>Miguel Servet 177, Departamento de Producción Animal y Ciencias de los alimentos, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España. [laquayo@unizar.es](mailto:laquayo@unizar.es)

### INTRODUCCIÓN

De acuerdo al Eurobarómetro el bienestar de los animales de granja es de creciente interés entre los Europeos. Ello ha conducido al desarrollo de nuevas regulaciones para los sistemas producción orientadas a preservar el bienestar animal. La producción de corderos se ha intensificado con la inclusión de centros cooperativos de clasificación y cebo (CC). Su integración en la cadena logística del sistema simplifica el proceso al ganadero, resuelve problemas de mano de obra, mejora la homogeneidad del producto y favorece la creación de marcas. El nuevo esquema debe hacer frente a nuevos problemas, tales como múltiples transportes, mezcla social de animales y, sobre todo, la novedad ambiental a la que deben hacer frente los corderos en un ambiente pobre y poco estimulante (Aguayo-Ulloa et al., 2012; Miranda-de la Lama, 2012). La hipótesis de trabajo propone que enriqueciendo el ambiente se favorece la adaptación de los corderos al CC, minimizando el coste biológico y favoreciendo los rendimientos y la calidad del producto. No existen estudios que analicen el efecto del enriquecimiento del ambiente de producción de los corderos. Este trabajo es el tercero de una serie de tres, cuyo objetivo es analizar el efecto del enriquecimiento ambiental funcional completo utilizando divisiones virtuales con aleros en la fase final de cebo de corderos sobre la respuesta de estrés, los indicadores de producción y calidad de la carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Sesenta corderos machos de raza Rasa Aragonesa de 65 días de edad ( $17.2 \pm 0.2$  kg peso vivo) distribuidos en 2 tratamientos (enriquecido o estándar), fueron estabulados por 5 semanas en 6 corrales (2.9m x 3.3m, densidad  $0.45\text{m}^2/\text{cordero}$ , 10 corderos/corral, en 3 réplicas por tratamiento). El grupo control (CG) se diseñó imitando la estabulación intensiva en CC, sin el uso de paja y ningún *item* adicional. El grupo enriquecido (EG) dispuso de paja como forraje y cama, y de una división virtual (placa de 1.6 m altura y ancho 1.8 m) con aleros a ambos lados (0.50 m alto, 0.50 m ancho, 1.8 m largo) ubicada en la zona central del corral creando dos ambientes que les permitía descansar, cobijarse, explorar o jugar. Los corderos fueron alimentados *ad libitum* con pienso comercial del CC. Se registró el consumo de pienso. Los corderos fueron pesados al comienzo y al final del experimento. Se estimó el crecimiento medio diario (CMD). Al final del estudio se obtuvieron termografías infrarrojas (IR) y muestras sangre de todos los corderos para evaluar la respuesta fisiológica al estrés. En el matadero se evaluaron visualmente las canales de acuerdo al sistema de clasificación Europeo para conformación y engrasamiento, y se midió el pH a las 24 hrs. Se extrajo el lomo izquierdo para su evaluación. El color se estimó usando un colorímetro Minolta CM200. La textura de la carne cocinada fue medida con un dispositivo de cizalla de Warner-Braztler. Las variables de estrés, producción y calidad de carne se analizaron con un modelo de efectos fijos (tipo de alojamiento), co-varianado con el peso de la canal fría las variables de calidad de carne.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los niveles de cortisol y glucosa sanguínea fueron significativamente mayores ( $P < 0.05$ ) en corderos EG que en corderos CG (+49.6% y +17.6%, respectivamente), así como la temperatura (IR) de los corderos EG (+0.32°C). Esto indicaría un mayor estrés agudo en los corderos EG producto de una aumentada sensibilidad y una mayor reactividad. Es probable



que el enriquecimiento proporcionado al permitir la ocultación bajo los aleros redujera el contacto visual con los cuidadores. Ello los hace más asustadizos y más reactivos al manejo. Sin embargo, los corderos EG tuvieron significativamente menor ( $P<0.05$ ) nivel de CK (-24%) que los corderos CG, lo cual estaría indicando, a diferencia del estudio anterior, que el estrés agudo probablemente no estaría asociado a una actividad física vigorosa, sino a un incremento del comportamiento de descanso (este mueble carece de rampas). El hematocrito de los corderos EG fue significativamente mayor ( $P<0.05$ ) que el de los corderos CG, así como el RBC y la hemoglobina. Sin embargo, los corderos EG obtuvieron un nivel menor ( $P<0.05$ ) de WBC. En relación a la producción y calidad de la canal, se encontraron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) en el peso vivo final e índice de conformación a favor de los corderos EG (+3.6% y +1.31 pts., respectivamente). El  $pH_{ult}$  obtenido en los corderos EG fue ligeramente superior ( $P<0.05$ ) que el de los corderos CG (aunque siempre dentro de valores aceptables). Los corderos EG tuvieron menores pérdidas por cocinado (-1.93 pts. porcentuales). Los resultados obtenidos no confirman en su totalidad la hipótesis de trabajo de este estudio. No obstante, los corderos finalizados en el ambiente enriquecido presentaron mejor promedio de peso final, mejor índice de conformación y menores pérdidas por cocinado. El mayor nivel de estrés agudo por manejo en los corderos EG, en general, no afectó los indicadores de producción ni de calidad de la carne. Este estudio señala la importancia de analizar cuidadosamente los elementos más adecuados para enriquecer el ambiente productivo de una especie animal. De esta manera se evitan errores al poner en práctica comercialmente mejoras ambientales. Los datos obtenidos serán de utilidad a los responsables del desarrollo de las normas de bienestar animal para esta especie, que actualmente se hallan en proceso de estudio en la UE.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguayo-Ulloa, L. A., Miranda-de la Lama, G.C., Pascual-Alonso, M., Fuchs, K., Olleta, J.L., Campo & María, G. 2012. *Small Rum Res.* Doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.09.011• Miranda-de la Lama, G.C., Villarroel, M., & Maria, G.A. 2012. *Small Rum Res.* 103: 158-163

**Agradecimientos:** Al Ministerio de Economía y Competitividad de España por el financiamiento (AGL2009-10794), y la beca FPI de Lorena Aguayo-Ulloa. A Mercazaragoza y a la Cooperativa Pastores. Al Servicio de Experimentación Animal (SEA) de UNIZAR.

## EFFECT OF ENRICHED HOUSING ON WELFARE, PRODUCTION PERFORMANCE AND MEAT QUALITY IN FINISHING LAMBS: THE SCREEN WITH FLAPS.

The aim was to analyze the effect of enriched housing during the finishing phase of fattening on physiological welfare indicators, production and meat quality traits in lambs. 60 Rasa Aragonesa lambs ( $17.2\pm 0.2$  kg), were divided into 2 treatments and housed indoors for 5 weeks in 6 pens ( $0.45\text{m}^2/\text{lamb}$ , 10 lambs/each, 3 replicates/treatment). The control group (CG) had barren environment without straw or any additional item. The enriched group (EG) contained multiple items: straw as forage and bedding and screen with flaps. *Ad libitum* concentrate feed consumption was recorded and lambs were weighted twice to estimate ADG. Temperature and blood samples were taken before slaughter. Carcass and instrumental meat quality were measured. EG lambs presented signs of acute stress associated to a higher reactivity consequence of the lower visual contact with humans due to the use of screen with flaps as a refuge. EG lambs had higher ( $P<0.05$ ) final weight, better conformation scores, higher  $pH_{ult}$  and lower cooking losses (%).

**Keywords:** lambs, environmental enrichment, welfare, meat quality.

**Tabla 1. Medias ( $\pm$ SE) de las variables fisiológica de estrés en corderos finalizados en ambiente enriquecido (divisiones virtuales con aleros más paja) versus ambiente no enriquecido.**

Variable respuesta	CG	EG
Cortisol (nmol/L)	43.88 ( $\pm$ 5.65) <sup>a</sup>	65.41( $\pm$ 5.65) <sup>b</sup>
Glucosa (mg/dl)	86.80( $\pm$ 2.76) <sup>a</sup>	102.13( $\pm$ 2.76) <sup>b</sup>
Lactato (mg/dl)	23.70( $\pm$ 2.03) <sup>a</sup>	15.43( $\pm$ 2.51) <sup>b</sup>
AGNE (mg/ml x 100)	6.9( $\pm$ 2)	8.2( $\pm$ 2)
CK (IU/L)	208( $\pm$ 15) <sup>a</sup>	158( $\pm$ 15) <sup>b</sup>
Ratio N/L	0.75( $\pm$ 0.1)	0.84( $\pm$ 0.1)
Hematocrito (%)	27.68( $\pm$ 0.8) <sup>a</sup>	32.01( $\pm$ 0.8) <sup>b</sup>
CSB (10 <sup>9</sup> /L)	8.17( $\pm$ 0.53) <sup>a</sup>	5.82( $\pm$ 0.42) <sup>b</sup>
CSR (10 <sup>12</sup> /L)	9.85( $\pm$ 0.3) <sup>a</sup>	11.28( $\pm$ 0.3) <sup>b</sup>
Hemoglobina (g/dl)	10.90( $\pm$ 0.17) <sup>a</sup>	11.66( $\pm$ 0.17) <sup>b</sup>
IR Termografía (°C)	37.85( $\pm$ 0.08) <sup>a</sup>	38.17( $\pm$ 0.08) <sup>b</sup>

a, b: Letras diferentes en la misma fila significa diferencia entre tratamientos (P<0.05).

N/L: ratio neutrófilos/linfocitos. CK: creatin kinasa. AGNE: ácidos grasos no esterificados. CSB: células sanguíneas blancas. CSR: células sanguíneas rojas. IRT: Termografía infra roja

**Tabla 2. Media ( $\pm$ SE) de las variables de producción y de calidad de canal y de la carne en corderos finalizados en ambiente enriquecido (divisiones virtuales con aleros más paja) versus ambiente no enriquecido.**

Variable respuesta	CG	EG
CMD (kg)	0.263( $\pm$ 8)	0.278( $\pm$ 8)
Peso final(kg)	26.30( $\pm$ 0.34) <sup>a</sup>	27.26( $\pm$ 0.34) <sup>b</sup>
Peso canal fría (kg)	12.19( $\pm$ 0.23)	12.69( $\pm$ 0.23)
Rendimiento (%)	46.38 ( $\pm$ 0.34)	46.04 ( $\pm$ 0.33)
Hematomas (0-3)	0.11( $\pm$ 0.06)	0.15( $\pm$ 0.06)
Índice de conformación	6.07( $\pm$ 0.3) <sup>a</sup>	7.38( $\pm$ 0.3) <sup>b</sup>
Índice de engrasado	5.11( $\pm$ 0.15)	4.96( $\pm$ 0.15)
pH <sub>ult</sub>	5.56 ( $\pm$ 0.01) <sup>a</sup>	5.63( $\pm$ 0.01) <sup>b</sup>
Pérdidas x cocinado (%)	14.91( $\pm$ 0.66) <sup>a</sup>	12.98( $\pm$ 0.67) <sup>b</sup>
Color de la carne		
Luminosidad (L*)	42.25( $\pm$ 0.35)	42.47 ( $\pm$ 0.36)
Índice de rojo (a*)	19.26( $\pm$ 0.98)	17.89( $\pm$ 0.98)
Índice de amarillo (b*)	7.61( $\pm$ 0.22)	7.57( $\pm$ 0.22)
C* (chroma)	20.81( $\pm$ 0.96)	19.43( $\pm$ 0.98)
H* (hue)	22.41( $\pm$ 0.55)	22.92( $\pm$ 0.56)
Textura por W-B		
Fuerza cizalla (kg/cm <sup>2</sup> )	4.40( $\pm$ 0.17)	4.62( $\pm$ 0.18)
Máximo stress (kg/cm <sup>2</sup> )	4.42( $\pm$ 0.16)	4.61( $\pm$ 0.16)
Dureza (kg)	1.77( $\pm$ 0.09)	1.92( $\pm$ 0.09)

a, b: diferentes letras dentro de la misma fila representa diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

CMD: crecimiento medio diario.

## GENERACIÓN AUTOMÁTICA DE ESTADÍSTICAS ZOOTÉCNICAS BOVINAS A ESCALA MUNICIPAL A PARTIR DE BASES DE DATOS OFICIALES

Moros, R., Busqué, J

Centro de Investigación y Formación Agrarias. Gobierno de Cantabria. c/ Héroes del 2 de Mayo, 27. Muriedas 39600. [rommelmoros@cifacantabria.org](mailto:rommelmoros@cifacantabria.org)

### INTRODUCCIÓN

En el marco de la puesta en práctica de políticas de sanidad animal y de seguridad alimentaria, el Reglamento (CE) nº 1760/2000 establece que todos los países de la Unión Europea están obligados a llevar un registro individualizado de las características y localización de su cabaña bovina. Esto se traduce, a efectos prácticos, en la creación de un sistema de trazabilidad animal (SITRAN) alimentada por la actualización constante de tres tipos de bases de datos relacionadas: el registro general de explotaciones ganaderas (REGA), el registro de identificación individual de animales (RIIA) y el registro de movimientos de las especies de interés ganadero (REMO). Más allá de su función de trazabilidad y control, estas bases de datos disponen de información de gran interés para el análisis zootécnico de la ganadería bovina a distintas escalas espaciales (explotación, municipio, región, país) y temporales. Estos análisis efectuados sobre la población entera de animales y explotaciones, pueden posteriormente servir de referencia para tipificar sistemas productivos (Riveiro *et al*, 2008, Barrantes *et al*, 2009), y diseñar estudios o políticas diferenciadas según los grupos existentes.

El objetivo de este trabajo es exponer una metodología, ya puesta en práctica en Cantabria, para generar de forma automática informes anuales sobre el estado zootécnico de las ganaderías bovinas a escala municipal, a partir de consultas de las bases de datos del sistema SITRAN.

### MATERIALES Y METODOS

Dentro de las bases de datos REGA, RIIA y REMO se escogieron las variables consideradas de interés para este trabajo (tabla 1). A partir de estas variables y su consulta, se diseñaron tres tablas de referencia. La tabla A considera sólo los códigos de explotación agraria (CEA) correspondientes a pastos comunales. La tabla B contiene un registro por animal (código de identificación, sexo, raza, fecha de nacimiento, madre). La tabla C puede tener hasta 13 registros por animal, ya que define la CEA de pertenencia y ubicación de cada animal registrado en SITRAN a fecha uno de cada mes, desde enero del año analizado hasta enero del siguiente año. A partir de las tablas de referencia se realizaron consultas mediante los lenguajes de programación SQL y R para obtener los resultados gráficos (figuras y mapas) que representan los valores de las variables zootécnicas de interés. La generación de informes automatizados a nivel municipal se programó mediante la herramienta "Sweave", que permite colocar las salidas gráficas de R dentro de un documento del procesador de texto LATEX, para finalmente crear los informes como ficheros PDF.

### RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se describen las variables presentadas en los informes municipales. Por falta de espacio sólo se representan unas pocas gráficas como ejemplo (figura 1).

**1. Censos ganaderos.** Distribución porcentual y en valores absolutos del censo medio anual de hembras y machos mayores de 2 años de cada grupo racial y por edades.

**2. Tamaño de las ganaderías.** Histograma de distribución de las ganaderías según su tamaño expresado en unidades de ganado mayor (UGM). Además de para todas las ganaderías (figura 1), se expresó también por tipos de ganadería según su raza predominante, considerando como tal la que tiene más del 50% de sus UGM pertenecientes a dicha raza.

**3. Evolución de censos por tipo de animal.** Evolución mensual del censo municipal según cuatro grupos: vacas con cría, vacas sin cría (hembras de 3 o más años sin cría), novillas (hembras no paridas de entre 9 meses y 3 años) y toros (machos

mayores a 9 meses). Además de para todo el censo, se realizó también por razas, aunque para las frisonas se juntaron las vacas con cría y sin cría en un mismo grupo.

**4. Tasa de fertilidad bruta.** Porcentaje de hembras adultas ( $\geq 2$  años en frisonas y de  $\geq 3$  años en el resto de razas) que en el año paren terneros registrados en la base de datos. Los datos se desglosan por raza (aquéllas con censo mayor al 5% del total de vacas adultas; figura 1), por edad de las vacas, y por la interacción raza-edad.

**5. Pureza de los terneros de vacas de raza.** Para cada raza pura con más del 5% de todos los nacimientos de terneros, se comparan los porcentajes de nacimientos de terneros puros y terneros mestizos.

**6. Estacionalidad de los nacimientos.** Porcentaje de nacimientos de terneros por mes o por estación del año (figura 1). También se desglosan los datos según la raza de la madre y de la cría, pero sólo para los grupos raciales con más del 5% del total de nacimientos anuales.

**7. Edad de salida de los terneros de las ganaderías.** Para cada sexo y edad (en intervalos de 2 meses, y hasta 18 meses), porcentaje de terneros que salieron de las ganaderías. Se generan además gráficas por los grupos raciales más abundantes.

**8. Uso de pastos comunales.** Evolución mensual en la ubicación de los animales (explotación o pastos comunales) según tipos (vacas con cría, vacas sin cría, novillas y toros), desglosando también por las razas predominantes en el municipio.

Además de las gráficas municipales, se han generado también mapas regionales que permiten comparar entre sí los valores municipales (figura 2).

Con este trabajo pretendemos demostrar que la existencia de una base de datos de ganado bovino de gran detalle y común para toda Europa tiene un gran valor para su utilización en otros usos aparte de los que sirvieron para generarla y mantenerla. En este sentido, la metodología que presentamos permite crear una información procesada de interés para gestores, técnicos e investigadores en producción animal.

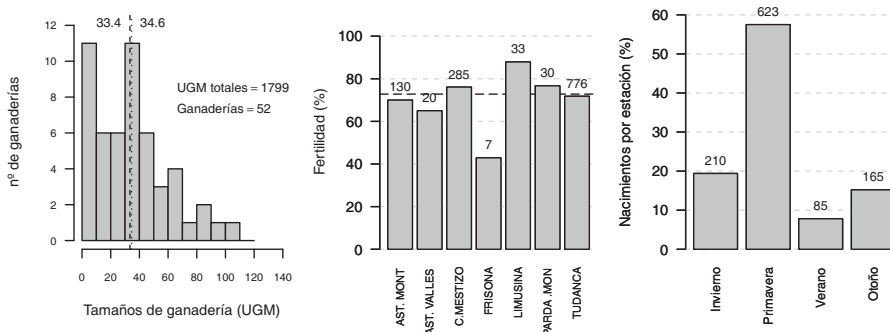
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barrantes, O., Ferrer, C., y Reiné, R. 2009. *Grass and forage Science*, **64**, 26-41  
 Riveiro, J.A., Marey, M.F., Marco, J.L. y Álvarez, C.J. 2008. *Computers and Electronics in Agriculture* 61: 169-178.

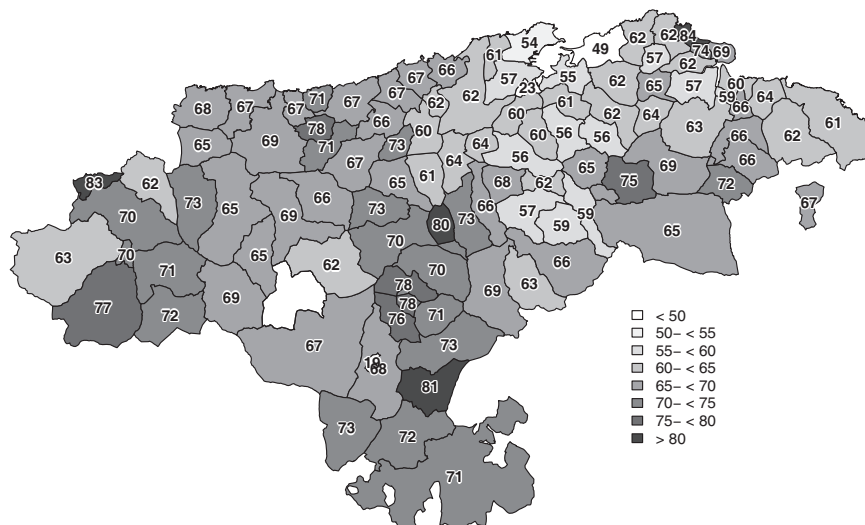
**Agradecimientos:** El primer autor agradece al INIA la percepción de una beca de post-grado.

**Tabla 1.** Variables del sistema SITRAN para vacuno utilizadas en el análisis zootécnico. Cada base de datos se estructura en diferentes tablas y cada una de estas tiene un conjunto de variables. Las letras delante del nombre de las variables señalan la tabla de referencia en que fueron utilizadas.

Base de datos	Tabla	Variable elegidas en el estudio
REGA	T_EXPLOTACION	A. Código Explotación Agraria (CEA) A. Tipo (filtrado para "pasto comunal")
RIIA	T_ANIMALES	B. Código de identificación animal B. Sexo B. Raza B. Fecha de nacimiento B. Código de identificación de la madre B. CEA de muerte B. Tipo de muerte (sacrificio o muerto)
	T_EXPLOTA_ANIMAL	C. Código de identificación animal C. CEA de pertenencia C. Fecha inicio de asignación de pertenencia C. Fecha fin de asignación de pertenencia
REMO	T_SITUACIONES	C. Código de identificación animal C. CEA donde se ubica C. Fecha de entrada a CEA C. Fecha de salida de CEA



**Figura 1.** Algunas de las gráficas del informe de estadísticas zootécnicas de un municipio de Cantabria. Izquierda: distribución del tamaño de las ganaderías. Centro: fertilidad bruta de las vacas por razas. Derecha: estacionalidad de los nacimientos.



**Figura 2.** Ejemplo de un mapa generado. Valores municipales de la tasa de fertilidad bruta en la Comunidad Autónoma de Cantabria

### AUTOMATIC GENERATION OF CATTLE HUSBANDRY STATISTICS AT A MUNICIPAL SCALE USING OFFICIAL DATABASES

**ABSTRACT:** The EU regulation 1760/2000 establishes a system for the identification and registration of bovine animals. This system (SITRAN in Spain) relies on the continuous actualization of relational databases (REGA, RIIA and REMO) with information of great interest for the evaluation of the technical status of cattle farms. Using Cantabria as an example, we have developed a methodology based on different programming tools to obtain automatic reports representing graphically eight groups of variables of technical relevance for the evaluation of cattle livestock systems at a municipality scale. The groups of variables were: livestock census, size of herds, evolution of census by category of animals, fertility, breed of newborns, birth seasonality, age of calves when leaving the farm and use of common pastures. For most variables data was also apportioned by breed or age. This information has great potential for livestock systems characterizations, analyses and policy implementations.

**Keywords:** individual animal identification, traceability, automatic reports

## **CARACTERIZACIÓN DE LA ALIMENTACIÓN INVERNAL EN SISTEMAS DE VACUNO EXTENSIVO EN LOS PICOS DE EUROPA**

Busqué<sup>1</sup>, J., Serrano, E. y Rodríguez, J.R.

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Formación Agrarias. Gobierno de Cantabria. c/ Héroes del 2 de Mayo, 27. Muriedas 39600. [juanbusque@cifacantabria.org](mailto:juanbusque@cifacantabria.org)

### **INTRODUCCIÓN**

Los sistemas ganaderos mayoritarios en la alta montaña de Cantabria se basan en la explotación de vacas madres de razas de aptitud cárnica, o autóctonas (mayoritariamente la tudanca), o de vacas resultado de cruces entre éstos dos grupos. Son sistemas muy dependientes de los recursos forrajeros cercanos, con predominancia de partos de primavera y que, dependiendo de la productividad de estos recursos, en especial de los pastos comunales, venden terneros lechales a pasteros (2-8 meses), siendo menos habitual la venta de terneros de más edad. La edad y concentración estacional de las ventas de terneros se traduce en ingresos por vaca normalmente bajos, no alcanzándose en estos sistemas ganaderos balances económicos positivos si no es por las ayudas de la PAC (Intxaurrandieta *et al*, 2012). Dentro de estas ayudas, las aún acopladas a vacas nodrizas suponen una proporción importante, lo que incentiva a tener cabañas grandes de vacas madres. Sin embargo, estos rebaños grandes encuentran serias limitaciones en la alta montaña. La complicada orografía dificulta el pastoreo ordenado y sin peligros de primavera a otoño. Esta misma orografía y la escasez de mano de obra limitan también la superficie forrajera a segar, así como realizar mejoras en la mecanización y el abonado de muchos prados para producir silo. La climatología obliga a realizar estabulaciones del ganado prolongadas, siendo muchas veces necesario realizar inversiones altas en alojamientos adecuados si se quiere aumentar el tamaño del rebaño. En estas condiciones, las ayudas de la PAC pueden servir para acometer estas mejoras y también para comprar alimentos que permitan cubrir las necesidades invernales del ganado.

Siendo la alimentación invernal el gasto anual más alto en estos sistemas ganaderos, es importante analizar su composición y los factores intrínsecos (tamaño, duración de la internada) y extrínsecos (ayudas de la PAC) que la afectan. En este trabajo presentamos algunos resultados sobre estos aspectos de una encuesta realizada a los ganaderos de bovino de un valle de la alta montaña occidental de Cantabria (municipio de Camaleño).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El municipio de Camaleño se localiza al sureste del macizo de los Picos de Europa, siguiendo el valle alto del río Deva, desde su origen en el puerto de Áliva, a más de 2000 metros de altitud. Los pueblos se sitúan en un gradiente altitudinal amplio (300-1000m), lo que lleva asociado una variación marcada de la duración del invierno.

Los registros de identificación y movimientos de animales, muestran la existencia en 2011 de 89 ganaderías de bovino con un total de 2024 UGM, y una mediana de 17,8 UGM por ganadería. La raza predominante es la parda de montaña (39% de las vacas y 46% de las ganaderías), seguida del conjunto mestizo (28% y 27%) y la tudanca (12% y 8%). El porcentaje de partos viables es bajo (63%), siendo en parte explicado por la alta incidencia de teratogénesis asociada al pastoreo en Áliva (Busqué *et al*, 2008). En la primavera se concentra el 44% de los partos viables anuales. Del total de animales machos jóvenes (<18 meses) que salieron de las explotaciones, el 47% lo hizo con una edad menor de 4 meses, y el 82% con una edad menor de 8 meses. El uso de los pastos comunales de junio a octubre es mayoritario en todos los tipos de animales (80% de las vacas secas y novillas; 70% de las vacas con crías y toros).

En 2009 se realizaron encuestas a 49 ganaderos del municipio, teniendo entre todos 1353 UGM (mediana de 23,2 UGM/ganadería). Las variables recogidas para este trabajo fueron la duración de la estabulación invernal y el tipo de alimentación suministrado. Los datos de los alimentos (agrupados en heno de hierba, silo de hierba, forraje comprado y concentrado) se registraron en unidades adecuadas a cada ganadero, siendo posteriormente traducidas a una misma escala (kg de materia seca por UGM y día de estabulación). Para ello se usaron valores de referencia para los pesos de las formas habituales de conservación (paca de heno pequeña: 17 kg; rotopaca de heno: 300 kg; rotopaca de silo: 600 kg), y se consideraron valores medios de materia seca (silo: 30%;

heno: 85%; forraje comprado: 90%; concentrado: 95%). Con estos datos se tipificaron las ganaderías según su tipo de alimentación forrajera invernal, comparándolas posteriormente mediante ANOVA respecto a su (i) consumo total de forraje, (ii) tamaño según el número de UGM, (iii) duración de la estabulación, (iv) UGM por la duración de la estabulación y (v) ayudas PAC percibidas en 2008. Estas variables, excepto la (iv) fueron transformadas a sus raíces cuadradas para cumplir con las asunciones del ANOVA.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las ganaderías, excepto una, utilizaron heno de hierba como alimento invernal. El 73% de las explotaciones usaron concentrado, sólo el 33% forraje comprado (veza, veza-avena y paja principalmente), y el 51% hicieron o encargaron hacer ensilado de sus propios prados (en casi todos los casos rotopacas encintadas). En las explotaciones que utilizaron cada tipo de alimento, el heno de prado fue la base principal de la alimentación, muy por encima del silo y del forraje comprado (figura 1). El consumo de concentrado fue muy bajo, dirigido principalmente a vacas paridas y toros. En valores medios, el heno supuso el 75% del total de materia seca utilizada en las explotaciones, el silo un 15%, el forraje comprado un 7% y el concentrado un 3%.

Clasificando las ganaderías encuestadas por los tipos de forraje utilizados -sólo heno propio (H, 35% de las ganaderías), heno y silo propio (HS, 33%), heno y forraje comprado (HF, 14%) y heno, silo y forraje comprado (HSF, 16%)-, se observó (figura 2) que la cantidad total de forraje consumido por UGM y día de estabulación no varió con el tipo de ganadería. Por su parte, el tamaño de las ganaderías, la duración del periodo de estabulación y el producto de estas dos variables fueron mayores en las ganaderías HSF, al menos respecto a las ganaderías H. Las ayudas de la PAC, expresadas como el margen de ayuda por UGM y día estabulado, no fueron diferentes entre los tipos de explotación analizados.

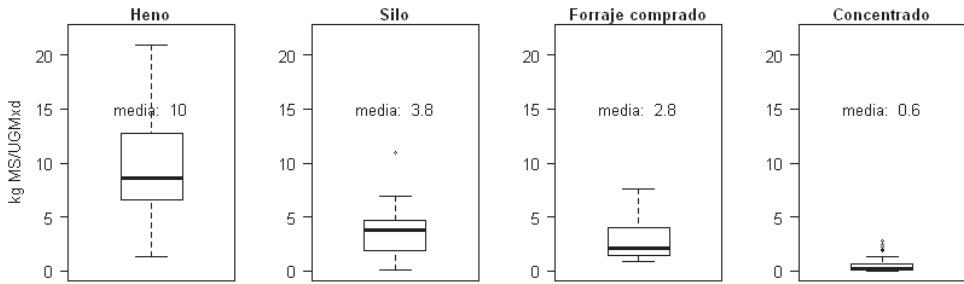
El uso habitual de ensilado en las ganaderías de Camaleño ya alcanza la mitad de éstas. Aun así, se produce mucho más heno que silo (como media cinco veces más). Las dificultades de mecanización en un valle de alta montaña como éste, y el mayor coste de producción parecen ser los mayores limitantes hacia la mayor expansión de los ensilados. Por otro lado, el heno también presenta ventajas respecto al ensilado en estos sistemas ganaderos de baja productividad y con periodos largos de invernada. Un heno de mediana calidad puede cubrir la mayor parte de las necesidades de este tipo de vacas en ciertos estados fisiológicos, permitiendo a la vez saciar su apetito y asegurar su bienestar durante el periodo de estabulación (Redbo y Nordblad, 1997). Por otra parte, el heno procede generalmente de prados con mayor diversidad florística, lo que puede influir positivamente en la calidad de los productos animales (Farrugia *et al*, 2010). A su vez, la alta biodiversidad y alarmante regresión de este tipo de prados en la Europa atlántica (Prince *et al*, 2012), confiere a estos sistemas ganaderos un valor añadido como herramienta para la conservación de estos hábitats, que debería ser debidamente evaluado.

Por último, la ausencia de diferencias en el margen de las ayudas de la PAC por UGM y día de estabulación se explica principalmente por la relación lineal existente entre el valor absoluto de dicha ayuda con el tamaño de la ganadería ( $R^2=0,57$ ) y también con la variable UGM x días estabulados ( $R^2=0,40$ ). En ambas regresiones el intercepto no fue significativo, obteniéndose valores de 231€ de ayuda por UGM ( $\pm 56$  SE) y de 2,25€ de ayuda por UGM x d ( $\pm 0,42$  SE). Si se asume que el capítulo de gastos fijos de las ganaderías por UGM es inversamente proporcional a su tamaño, las explotaciones más grandes dispondrán de más dinero de las ayudas de la PAC para comprar forraje y producir ensilado, pareciendo ser esta la forma empleada para cubrir sus mayores necesidades absolutas de alimentos.

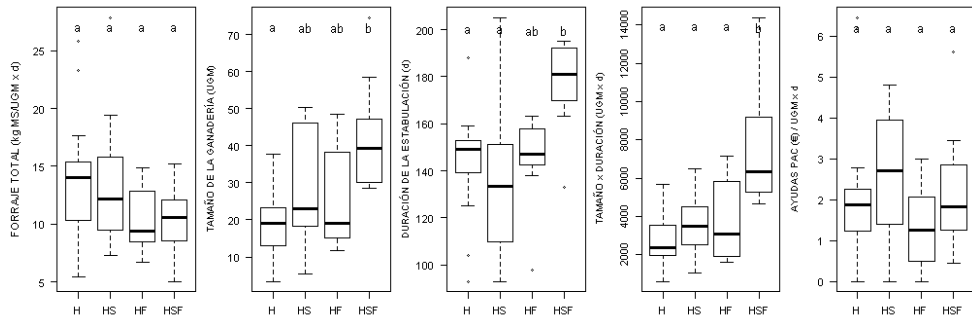
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Busqué, J., González, G., Agote, L., Benoit, S., Gutiérrez, J.M., Mora, M.J. y Bedia, J. 2008. En: Pastos, clave en la gestión de los territorios. R.C. de la SEEP, Córdoba. 589-595
- Farruggia A., Martin B., Baumont R., Prache S., Doreau M., Hoste H. y Durand D. 2010. INRA Productions Animales 21: 181-200
- Intxaurrendieta, J.M., Mangado, J.M., Lasarte, J.M., Mújika, I. y Erburu, J.A. 2012. En: Nuevos retos de la ganadería extensiva. R.C. de la SEEP, Navarra. 265-285.
- Prince, H., Bunce, R.G.H y Jongman, R. 2012. J. for Nat. Conserv., 20: 162-169.
- Redbo, I. y Nordblad, A. 1997. Appl. Anim. Behav. Sci. 53: 193-204.

**Agradecimientos:** Este trabajo se enmarca dentro del Proyecto INIA RTA 2009-129



**Figura 1.** Diagramas de caja de las cantidades aportadas de cada tipo de alimento por las ganaderías de Camaleño, expresadas en kg de materia seca por UGM y día de estabulación. Para cada tipo de alimento sólo se representan las ganaderías que lo utilizaron. El rectángulo señala el rango intercuartil (RIC), la línea horizontal gruesa la mediana, y las verticales discontinuas el primer cuartil  $-1,5 \times \text{RIC}$  y el tercer cuartil  $+1,5 \times \text{RIC}$ .



**Figura 2.** Diagramas de caja de variables características de cuatro tipos de ganaderías de Camaleño según los tipos de forrajes utilizados (H: sólo heno; HS: heno y silo; HF: heno y forraje comprado; HSF: heno, silo y forraje comprado). Las letras encima de las cajas se refieren a la prueba post-hoc de comparaciones múltiples de Tukey. Letras diferentes entre tipos de ganaderías señalan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), con un intervalo de confianza del 95%.

## WINTER FEEDING OF EXTENSIVE CATTLE LIVESTOCK SYSTEMS IN THE PICOS DE EUROPA MOUNTAINS

**ABSTRACT:** Extensive livestock farming systems in the mountains of northern Spain are low productive and highly dependent on CAP payments. These subsidies are still strongly correlated with farm size, which produces serious conflicts in land use under these harsh conditions. Winter feeding is one of the main limitations, which we studied interviewing a representative sample of farmers in the municipality of Camaleño (Cantabria). We quantified the amount and feed types employed during winter, as well as the length of the winter confinement, the farm size in livestock units and the amount of CAP payments. Hay from meadows was the main forage type used (98% of the farms and 75% of the total dry matter). Silage was used in half of the farms and bought forage in one third. After classifying the farms in four types according to these forage types (use only hay, hay+silage, hay+bought forage, and hay+silage+bought forage), we observed that the farm type using the three forages was clearly separated from the rest as being the largest and with longer confinement periods. We argue how higher CAP payments in this farm type may contribute to cope with these higher costs.

**Keywords:** hay from meadows, silage from meadows, CAP payments, farm size.



## COMPARACIÓN DE DOS DIETAS EN TERNEROS DE ENGORDE: DIETA CONVENCIONAL (PIENSO Y PAJA) vs. UNIFEED

Cortés, X., Mora, J., Oliva, P., Morazán, H., Seradj, A.R, Balcells, J., Villalba, D.  
Departament Producció Animal, ETSEA, Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida.  
xcorteslacruz@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

Una alternativa para mejorar el rendimiento económico y la calidad de la carne en el cebo de terneros es la inclusión de una mayor proporción de forrajes en la ración. El consumo de forraje puede incrementarse combinando pastoreo con diferentes niveles de suplementación de concentrados (Blanco *et al.* 2005), utilizando ensilados (maíz, Albertí *et al.* 1995) o mediante raciones completas mezcladas tipo *unifeed*. En este último grupo existen variaciones importantes en el tipo de ingredientes y composición química de la ración final. Es cierto también que en las raciones convencionales, basadas en pienso y paja, pueden existir también variaciones en su composición, pero su homogeneidad es mayor, especialmente en parámetros como la fibra. En la literatura existente podemos encontrar raciones tipo *unifeed* utilizadas para el cebo de terneros con proporciones de forraje que varían entre el 11% y el 100% y con ello sus niveles de fibra (FND, fibra neutro-detergente, del 19.7 al 39.4). El objetivo de este estudio es comparar los rendimientos de una mezcla *unifeed* obtenida exclusivamente con recursos de la propia explotación con una relación forraje concentrado del 60:40 con los rendimientos obtenidos con una ración convencional basada en pienso y paja ambos administrados *ad libitum*.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la granja Cal Sargaire de Almacelles (Lleida) del 26 de octubre de 2011 hasta el 14 de marzo de 2012. Las 25 terneras pasteras utilizadas eran cruzadas mayoritariamente *Charolais* y *Limousine*. Al inicio de la prueba se desparasitó a los animales (Ivomec® Merial) y se vacunó frente a las principales bacterias y virus respiratorios. Los animales, de edades comprendidas entre 8 y 8.5 meses de edad, se distribuyeron de forma aleatoria en dos lotes de 12 y 13 terneras cada uno. Un lote recibió la ración convencional (PIENSO) basada en pienso de cereales (80% cereal y 6% turtós proteicos) y paja *ad libitum*. El lote UNIFEED recibió una ración a base de forrajes, ensilado de alfalfa (d0 a d60) o de ray-grass (d60 a d120) (30%), girasol (28%) y *pastone* (ensilado de la mazorca completa de maíz en estado pastoso, 42%)

Durante la prueba (c/21 días) las terneras fueron pesadas, y su ganancia media diaria se estimó por regresión. Se pesó y muestreó la oferta y se tomaron muestras de sangre para la determinación de diferentes metabolitos (glucosa, urea, ácidos grasos no esterificados (AGNE)). En las dietas ofertadas se determinó la composición química (PB, EE y FB siguiendo los procedimientos AOAC, 1990). La FND, FAD y lignina ácido-detergente fueron también determinadas según Van Soest (1991). Los parámetros sanguíneos se determinaron (GernonStar, RAL/TRANSASIA, Dabhel, India) con los siguientes procedimientos: urea mediante el test Ureasa/glutamato deshidrogenada; AGNE con un kit comercial de acilo coenzima (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, Co. Antrim, UK) y glucosa mediante el test oxidasa/peroxidasa.

Tras el sacrificio (12-14 meses de vida) se controlaron los siguientes parámetros: peso de la canal en caliente, rendimiento de la canal, pH a las 24 horas y a los 7 días postsacrificio (TESTO 205 pH meter, Hampshire, Reino Unido), estado de engrasamiento, conformación (escala SEUROP), espesor de grasa subcutánea dorsal (costilla T10, mediante un calibre) y color de grasa (Minolta CM-2600d Konica Minolta Holdings, Inc., Osaka, Japón). En el despiece (7 días postsacrificio), se muestreó el músculo Longissimus dorsi (6 terneras/lote) para evaluar la calidad y la composición química de la carne determinando humedad, contenido en cenizas, proteína y grasa con la metodología AOAC (1990).

Los datos obtenidos se analizaron considerando un grupo homogéneo (un solo sexo, equilibrados en edad y tipo genético) mediante un análisis de la varianza unifactorial implementado mediante el procedimiento GLM del SAS. El modelo incluía el efecto tipo de ración (PIENSO vs. UNIFEED). Se considera como nivel de significación el 0.05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición del concentrado se mantuvo constante a lo largo del periodo experimental (PB: 17,2%; EE: 6,6%; FB: 8,9%) sin embargo la del UNIFEED no, así el contenido de PB varió (de 10,3% al 12,4%) del mismo modo que la FAD (del 11,3% al 30,3%) y ello fue así por las modificaciones realizadas en el forraje, cuando el ensilado de alfalfa fue sustituido por ray-grass, y por la variabilidad intrínseca de los ensilados (ray-grass vs. alfalfa). Pese a ello, la composición de nutrientes permitió mantener ritmos razonables de crecimiento. Prueba de ello es que la digestibilidad registrada fue similar a la obtenida con la ración convencional (91% vs. 87%, Mora et al., 2013).

Los consumos medios registrados (6,5 kg MS concentrado y 0,5 de paja en el PIENSO y 5,8 kg MS en el UNIFEED) durante la totalidad del periodo experimental con la ración UNIFEED fueron un 17% menores que los registrados con la ración PIENSO. Nuestros resultados no pudieron confirmar los obtenidos previamente por Casasús et al. (2012) en los que registraron mayores consumos en los animales que consumían raciones *unifeed*. Las diferencias en la composición química de ambas raciones, concretamente las menores concentraciones en FND de ensayo podrían justificar las diferencias registradas. Los animales que recibieron pienso obtuvieron crecimientos significativamente superiores en la fase inicial (d0 a d50), pero su crecimiento fue igual al del grupo UNIFEED posteriormente, con lo que la GMD global, reflejo el mayor consumo, y fue también superior en el lote convencional (tabla 1). En este caso, nuestros valores coinciden con los obtenidos por Casasús et al. (2012) quienes obtuvieron mayor ritmo de crecimiento (6-17%) en las terneras que ingirieron la ración convencional. En este sentido Villalba et al. (2010) sugieren que raciones forrajeras tipo *unifeed* que incluyan hasta un 60% de de forrajes de elevada calidad podrían permitir mantener ritmos de crecimiento similares a los registrados con las raciones convencionales (pienso + paja) En relación al nivel de glucosa en sangre, Kaneko et al. (2008) proponen rangos de glucosa plasmática en vacas entre los 45 y 75 mg/dl, valores que fueron inferiores registrados en nuestro ensayo (entre 100 y 120 mg/dl tanto para PIENSO como para UNIFEED). Los niveles de AGNE se sitúan en los rangos definidos para esta especie y sistema productivo aunque las concentraciones registradas en la ración UNIFEED fueron mayores a las registradas en la ración convencional (0,32 vs. 0,20;  $p < 0,05$ ) sin apreciarse a lo largo de la prueba problemas relacionados con deficiencias energéticas.

El nivel de proteína en la ración UNIFEED fue ligeramente inferior a los niveles propuestos por Ferret et al. (2008) (entre 14 y 15% de PB) y ello probablemente se reflejó en los bajos niveles plasmáticos de urea registrados si lo comparamos con los valores umbrales propuestos por Ndlovu et al. (2007). Las terneras que recibieron la ración convencional mostraron mayores niveles de urea plasmática ( $>28$  ng/ml), lo que podía sugerir en este caso un exceso de PB en dicha ración.

Coincidiendo con Villalba et al. (2010) no se apreciaron diferencias significativas en los rendimientos de la canal entre lotes, aunque otros autores han descrito un mayor rendimiento canal en los animales que ingirieron las raciones convencionales (Albertí, 1995; Eguinoa y Huguet, 2004). Sí se detectó un engrasamiento superior en este lote (3- vs. 2+;  $p < 0,05$ ), confirmando los datos publicados por Albertí (1995) y Casasús et al. (2012) y contrariamente a los de Villalba et al. (2010) quienes no pudieron observar diferencias en terneros alimentados con *unifeed*. La conformación de la canal en los dos lotes fue de "R" en la clasificación SEUROP. En ningún caso se observaron diferencias en el pH de la carne ni en el color de la grasa. Blanco et al. (2005) obtuvieron mayores pigmentaciones en los animales que consumían forrajes, principalmente al ingerir alfalfa. El color de la carne no se diferenció entre lotes, confirmando los resultados previos de Villalba et al. (2010) y Albertí (1995). En relación a la composición química de la carne (tabla 2), ambos lotes sólo se diferenciaron en el contenido en materia seca (MS) que fue superior en el lote convencional, aunque Zea et al. (2008) describen un menor engrasamiento en los animales alimentados con raciones forrajeras. En referencia a los costes de alimentación, la dieta UNIFEED resultó un 43% más económica que la ración PIENSO coincidiendo con Casasús et al. (2012) quienes calcularon que las raciones en base a forraje reducían el coste de alimentación (de un 25 a un 50 %) en relación a la alimentación con raciones concentradas. En nuestro caso el nivel de proteína del *unifeed* pudo condicionar los rendimientos productivos, por lo que se debe valorar si se compensan con el menor coste de la ración para una calidad de carne equivalente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Albertí, P., Sañudo, C. 1995. Bovis 63 ISSN 1130-4804 •AOAC. 1990. 15 Association of Official Analytical Chemists. •Blanco, M., Casasús, I., Delgado, I., Albertí, P., Joy, M. 2005 ITEA 26, 216-218. •Casasús, I., Ripoll, G., Albertí, P. 2012. ITEA. vol 108(2). 191-206. •Eguinoa, P., Huguet, J. 2004. Navarra Agraria. Marzo-abril pag. 62. •Ferret A, Calsamiglia, S, Bach, A, Devant, M, Fernández, C, García-Rebollar, P, 2008. Necesidades nutricionales para rumiantes de cebo (normas FEDNA). •Kaneko, J., Harvey, J., Bruss, M. 2008. Boston: Elsevier/Academic Press. •Mora, J., Oliva, P., Cortés, X., Morazán, H., Seradj, A.R., Villalba, D. Balcells, J. ITEA 2013 •Ndlovu, T., Chimoyo, M., Okoh, A., Muchenje, V., Dzama, K., Raats, J. 2007. African Journal of Biotech. Vol.6(24). pp 2727-2734. •Van Soest, P. 1991. Journal of Dairy Sci. vol. 74, pp 3583-3597. •Villalba, D., Molina, E., Cubiló, D., Blanco, M., Albertí, P., Joy, M., Casasús, I. 2010. Agroec.: 24-27. •Zea, J., Díaz, M. D., Carballo, J. A. 2008. Archivos de Zootecnia, vol. 57, núm. 220, pp. 471.

**Agradecimientos:** A la empresa **Carns Sargaire**. Trabajo financiado por el MICINN (INIA RTA 2010-57-C03-01).

**Tabla 1. Ganancia media y pesos inicial y final**

	PIENSO ± ee	UNIFEED ± ee	Significación
GMD (kg/d)	1,205 ± 0,048	0,965 ± 0,046	**
Peso inicial (kg)	230,4 ± 6,4	234,9 ± 6,1	NS
Peso final (kg)	374,1 ± 6,5	350,4 ± 6,2	*

(NS: No significativo; t; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001).

**Tabla 2. Calidad de la canal y composición química del *Longissimus dorsi***

	PIENSO ± ee	UNIFEED ± ee	Significación
Peso canal (kg)	216,18 ± 3,77	203,02 ± 3,77	*
Rendimiento (%)	56,01 ± 0,61	57,65 ± 0,61	NS
Espesor grasa (cm)	0,809 ± 0,012	0,808 ± 0,012	NS
Materia seca	28,7 ± 0,505	26,6 ± 0,505	*
Extracto Etéreo	10,9 ± 1,48	11,7 ± 1,48	NS

(NS: No significativo; t; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001).

## COMPARISON OF TWO BEEF FATTENING DIETS: CONCENTRATE AND STRAW vs. TOTAL MIXED RATION

**ABSTRACT:** A Total Mixed Ration (TMR, 60 % forage; 23 % NDF) has been compared with Control diet (commercial concentrate (93%) and straw (7%)). Twenty-five beef heifers weaned at 8 months (12 Control, 13 TMR) were controlled during a 120-day fattening period. Intake was controlled daily by diet. Individual weight was recorded every 21 days. At the same control days blood samples were taken and urea, glucose and non-esterified fatty acids (NEFA) were analysed. Carcass quality and meat color and composition were recorded at slaughter time. Intake was higher in the Control diet, and combined with a low protein level in the TMR (12% vs. 17%) produced a lower average daily gain (20%, p<0.05) in TMR. Glucose and NEFA levels indicated that TMR ration was adjusted for energy requirements of the animals but urea levels showed that TMR diet had some limitation in protein whereas Control diet had an excess. No relevant differences were detected in carcass quality except a slightly lower carcass fat. No differences in muscle or fat colour were detected. The use of on-farm forages in the TMR diet reduces the feeding cost by 43 % compared with the costs of the control diet.

**Keywords:** Beef fattening, Total Mixed Ration, Concentrates, carcass quality

## MODELIZACIÓN DEL BENEFICIO DE PRODUCCIÓN EN CUNICULTURA

Cartuche, L.<sup>1</sup>, Pascual, M.<sup>2</sup>, Gómez, E.A.<sup>2</sup>, Blasco, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46070 Valencia, España; <sup>2</sup> Centro de Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Polígono de la Esperanza 100, 12400 Segorbe, España.  
luicarm2@upv.es

### INTRODUCCIÓN

La información disponible sobre el coste de producción de la carne de conejo se obtiene normalmente demorada en el tiempo y procede de los resultados obtenidos en explotaciones con tamaños de explotación y manejos de producción muy diferentes (INTERCUN, 2006; INTERCUN, 2007; UPA, 2007; Rosell y Fluvia, 2008; Pascual et al., 2008; ITG, 2010; Serrano et al., 2011). Una aproximación diferente se obtiene construyendo una función de beneficio de una explotación (Armero y Blasco, 1992). El objetivo de este trabajo ha sido modelizar la función de beneficio de una granja tipo en base a las características de manejo actuales estudiando la distribución de los costes de producción.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las características de la explotación se definieron en base a las características más comunes en España según la Encuesta Nacional Cunicola (MARM, 2008), datos de la base de datos bdcuni y discusiones personales con varios expertos relevantes del sector (ver agradecimientos).

Se consideró como explotación tipo una explotación de 750 hembras reproductoras (1 UTH), banda única, inseminación artificial a los 11 días postparto, destete a los 35 días y sacrificio a los 63 días. La explotación contaba con dos naves idénticas con 750 jaulas polivalentes cada una para hembras reproductoras y engorde y con 105 jaulas de reposición cada una para hembras de reposición, recogida automática de estiércol y distribución mecánica del pienso mediante tornillo sinfin. Se consideró alimentación de las reproductoras *ad libitum* con pienso de reproductoras, alimentación del engorde *ad libitum* con pienso de engorde medicado de los 35 a 56 días y no medicado de 57 a 63 días de edad, y alimentación de la reposición con 140 g/día de pienso de reproductoras. Las hembras de reposición cruzadas se adquirían de una multiplicadora a los 63 días de edad. La tasa de reposición media se fijó en 120% y la primera inseminación a las 18 semanas de edad. El coste de la mano de obra propia se estableció como el doble del salario agrario mínimo nacional estimado en 2012 (estimación propia). El coste total de la inversión se estimó como el coste de construcción de la instalación más los intereses a dinero constante creados por un préstamo financiero al 6% (a partir de datos bancarios reales) a devolver en 10 años. La amortización de este capital se estimó asumiendo 30 años de vida útil y 15 años para las jaulas. El coste de oportunidad se calculó como la rentabilidad que se obtendría al invertir el dinero en un plazo fijo al 2.5% (a partir de datos bancarios reales). Los principales valores promedios utilizados para la estimación de los ingresos, costes y márgenes mediante la función de beneficio se muestran en la tabla 1. Los ingresos y costes considerados en la función de beneficio se pueden observar en la tabla 2. El *margen coste alimentación* se calculó como ingresos menos coste de alimentación, el *margen bruto* como ingresos menos costes variables, el *margen neto* como ingresos menos costes totales, el *margen neto familiar* como margen neto más la mano de obra propia, y el *margen neto empresarial* como margen neto menos el coste de oportunidad.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ingresos, costes variables, costes fijos, márgenes por hembra y año y por kg de peso vivo y el porcentaje que representa cada coste respecto al total calculado a partir de la función de beneficio (Cartuche et al., 2013; en preparación) se puede observar en la tabla 2 y 3. Los costes de mayor importancia fueron la alimentación y la mano de obra del cunicultor (45.2 y 13%, respectivamente). Los porcentajes obtenidos por Armero y Blasco (1992) para estos costes fueron del 49.6 y 22.1%, respectivamente. El coste de producción fue de 1.79 €/kg de conejo vivo, mientras que los ingresos por venta al matadero fueron de 1.81 €/kg conejo vivo. Esto dio lugar a un margen neto de 0.01 €/kg conejo vivo, y a un margen empresarial de -0.02€/kg de conejo vivo. Sin embargo, hay que destacar que dentro de los

costes fijos se incluyó el coste de la mano de obra del propio cunicultor (0.23 €/kg de conejo vivo), dando lugar a un margen neto familiar de 0.25 €/kg de conejo vivo producido. De esta manera el margen neto para la explotación tipo con 750 reproductoras se estima en 1216.8 €/año, mientras que el margen neto familiar se estima en 21250.8€/año (tabla 3). A estos márgenes habría que descontarles el impuesto sobre el beneficio.

**Tabla 1.** Valor promedio considerado y fuente de referencia para los principales parámetros de la función de beneficio.

Parámetro	Coste (€)	Fuente
Precio del conejo vivo (€/kg conejo vivo)	1.81	Media 2012 ASESCU <sup>1</sup>
Precio hembra cruzada (€/coneja de reemplazo)	9.00	Empresas del sector
Precio pienso engorde (€/kg pienso)	0.29	Media 2012 COAVRE <sup>2</sup>
Precio pienso blanco (€/kg pienso)	0.27	Media 2012 COAVRE <sup>2</sup>
Precio pienso reproductoras (€/kg pienso)	0.30	Media 2012 COAVRE <sup>2</sup>
Precio inseminación artificial (€/dosis aplicada)	1.00	Empresas del sector
Coste de salud reproductora (€/reproductora año)	11.33	A partir de Rosell y Fluvia, 2008 <sup>3</sup>
Mortalidad nacimiento- destete (%)	11.8	bdcuni <sup>4</sup>
Mortalidad destete- sacrificio (%)	7.1	bdcuni <sup>4</sup>
Mortalidad y eliminación de reposición (%)	9.2	bdcuni <sup>4</sup>
Ingestión de pienso engorde 35-63 días (g/día)	104.8	Orengo et al., 2009
Peso a sacrificio (kg)	2.20	bdcuni <sup>4</sup>
Nacidos vivos por parto	9.4	bdcuni <sup>4</sup>
Fertilidad real	78.20	bdcuni <sup>4</sup>

<sup>1</sup> www.asescu.com; <sup>2</sup> <http://coavre.blogspot.com.es/>, en piensos con coccidiostáticos sin antibióticos, con IVA, sin considerar transporte ni bonificaciones; <sup>3</sup> Media del año 2001 al 2007; <sup>4</sup> Media para explotaciones a banda única y 11 días postparto.

**Tabla 2.** Ingresos, costes, y porcentaje respecto al coste total en una explotación tipo estimados mediante la función de beneficio.

	€/hembra y año	€/kg peso vivo	% costes totales
<b>Ingresos</b>			
Venta de conejo vivo a matadero	207.71	1.81	
<b>Costes variables</b>			
Alimentación	93.23	0.81	45.2
Inseminación	8.69	0.08	4.2
Sanitarios	14.25	0.12	6.9
Reposición	11.79	0.10	5.7
<b>Total costes variables</b>	<b>127.96</b>	<b>1.11</b>	<b>62.1</b>
<b>Costes fijos</b>			
Mano de obra propia	26.71	0.23	13.0
Amortización	20.15	0.18	9.8
Agua, luz, teléfono, etc,	12.47	0.11	6.1
Coste de oportunidad	3.79	0.03	1.8
Seguro agrario, retirada cadáveres	0.65	0.01	0.3
Gestoría y asociación	0.73	0.01	0.4
Material nidos	1.93	0.02	0.9
Seguridad social	5.77	0.05	2.8
Mano de obra adicional	4.77	0.04	2.3
Aportación extensión de norma	1.17	0.01	0.6
<b>Total costes fijos</b>	<b>78.14</b>	<b>0.68</b>	<b>37.9</b>
<b>Coste total de producción</b>	<b>206.09</b>	<b>1.79</b>	

El bajo margen neto de producción obtenido se debe en parte a un elevado incremento en los últimos años del precio del pienso (aprox. un 33%, lo que representa un aumento del 15.2% de los costes) frente a un menor aumento del precio pagado por los mataderos (5.8% desde 2009 hasta 2012; COAVRE, ASESCU).

El coste de producción obtenido se encuentra dentro del rango de 1.23 a 2.05 €/kg conejo vivo observado por otros autores (INTERCUN, 2006 y 2007; UPA, 2007; Rosell y Fluvia, 2008; Pascual et al. 2008; ITG, 2010; Serrano, et al. 2011). Sin embargo, los costes de producción estimados son difícilmente comparables por diferentes motivos. En primer lugar, los costes publicados en otros trabajos son medias de resultados obtenidos en explotaciones con diferente tipo de manejo, factor que puede hacer variar en gran medida el coste de producción de la explotación (Rosell y Fluvia, 2008). Por otro lado, en el presente trabajo el coste de amortización fue considerado como el coste de amortizar el capital invertido en 30 años, mientras en algunos trabajos es considerado como el coste del reintegro del préstamo financiero únicamente durante el periodo de tiempo en que se realiza la devolución.

La función de beneficio permite disponer de una herramienta parametrizable que puede permitir estimar en tiempo real el coste de producción en nuestra situación concreta, permitiendo una más pronta toma de decisiones.

**Tabla 3.** Márgenes económicos en una explotación tipo estimados mediante la función de beneficio.

	€/hembra y año	€/kg peso vivo	€/expl. tipo y año
Margen coste alimentación	114.48	1.00	85858.46
Margen bruto	79.75	0.69	59810.66
Margen neto	1.62	0.01	1216.80
Margen neto familiar	28.33	0.25	21250.80
Margen empresarial	-2.17	-0.02	-1628.61

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a Oriol Rafel, Josep Ramón y Miriam Piles, de la Unidad de Cunicultura del IRTA, y a Ceferino Torres y Rafael Torres, del Departamento de Ciencia Animal de la UPV sus aportaciones y comentarios. El trabajo ha estado financiado por la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación de Ecuador y por la Secretaría de Estado de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armero & Blasco. 1992. V Congress of the World Rabbit Sci. Assoc. • INTERCUN. 2006. Boletín de Cunicultura: 144: 6-10. • INTERCUN. 2007. [www.asescu.com/ficheros/BalancIntercun.pdf](http://www.asescu.com/ficheros/BalancIntercun.pdf). • ITG. 2010. Boletín Informativo. Monogástricos. Boletín III, 157: 4-5. • MARM. 2008. [www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/2008\\_Cunicultura\\_Memoria\\_tcm7-14332.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/2008_Cunicultura_Memoria_tcm7-14332.pdf) • Orengo, J., Piles, M., Rafel, O., Ramon, J. & Gómez, E. A. 2009. J. Anim. Sci., 87: 1896-1905. • Pascual M., Gómez E.A., Serrano P. & INTERCUN. 2008. XXXIII Symposium de ASESCU, 56-59. • Rosell J. & Fluvia M. 2008. Cunicultura, 192: 9-13. • Serrano, P., Pascual, M. & Gómez, E.A. 2012. Boletín de Cunicultura, 168: 44-53. • UPA. 2007. [www.upa.es](http://www.upa.es).

#### MODELLING THE COST OF RABBIT MEAT PRODUCTION

**ABSTRACT:** The income function of a rabbitry with the most typical management techniques in Spain was performed to obtain the cost of production of rabbit meat. The variable costs (feed, insemination, health, replacement) rose the 62.1% of the total costs, and the fixed costs (e.g. labor, amortization, opportunity costs, administration taxes or social security) represented the 37.9% of the total costs. The main costs were feeding costs (45.2%) and labor cost (13.0%). The cost of production was 206.09 €/doe and year and 1.79 €/kg of rabbit alive, while income was 207.71 €/doe and year and 1.81€/kg of rabbit alive. This resulted in a net income of 0.01€/kg of rabbit alive, although the familiar net income, which includes the labor cost of the farmer, was 0.25€/kg of rabbit alive.

**Keywords:** rabbit cost production, income function.

## CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CALIDAD DEL POLLO

Cerqueira, J.O.L.<sup>1</sup>; Barbosa, S.F.<sup>1</sup>; Blanco-Penedo, I.<sup>2</sup>; Cantalapiedra J.<sup>3</sup>; Araújo, J.P.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. Email: [cerqueira@esa.ipv.pt](mailto:cerqueira@esa.ipv.pt)

<sup>2</sup>Subprograma Bienestar Animal, IRTA, Monells, Girona, España.

<sup>3</sup>Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España.

<sup>4</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo

### INTRODUCCIÓN

La incubación artificial proporciona a los huevos fértiles las mejores condiciones (temperatura, humedad, ventilación y volteo) para estimular el desarrollo embrionario del pollo hasta la eclosión. La incubación representa así uno de los capítulos más importantes en el desarrollo de la industria de aves de corral, tanto como una ciencia, así como un factor de producción de alimentos. Muchos son los factores que influyen en los resultados de la incubación, mediante la alteración de las condiciones del huevo, a veces causando anomalías en el pollo o incluso la muerte embrionaria. Interesa también tener en cuenta aspectos relacionados con las reproductoras (genotipo, selección, gestión y la edad de las aves), así como todo el proceso de la puesta hasta la entrada de los huevos en las incubadoras y consecuente eclosión (selección de huevos, desinfección, almacenamiento, factores físicos y volteo) (Moreno, 2003).

### MATERIAL Y METODOS

El estudio se ha realizado entre Marzo y Agosto de 2011, en la empresa PINTO BAR, localizada en Amares, Portugal. Para el mismo, se utilizaron huevos de 4 estirpes (Sasso, Hubber Redbru Mini, Cobb y Ross) repartidas en siete pabellones en distintas etapas de producción. Se determinó el peso del huevo a la incubación en dos bandejas (con 150 huevos) habiendo sido marcados para que pudieran ser identificados durante el estudio. Se monitorizaron también el peso del huevo en la transferencia, peso del pollo al nacimiento y el porcentaje de pérdidas de peso. Durante el proceso de incubación se llevó a evaluación las incubadoras de carga única y de carga múltiple. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS para Windows versión 19 (SPSS Inc.). Para evaluar los efectos de algunos factores se realizó un ANOVA y se compararon las medias con el test Tukey.

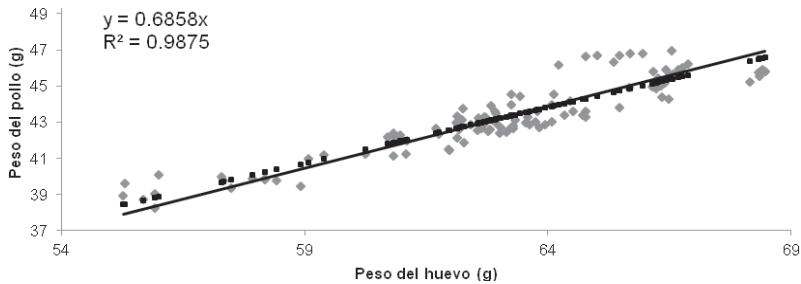
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha observado una elevada correlación (Figura 1) entre el peso del huevo y del pollo del día ( $R^2=0.98$ ), en que la variabilidad encontrada en el peso del pollo se debe casi por completo al peso del huevo. Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos por Llobet (1986). Se encontró un efecto de la estirpe ( $p<0.001$ ) en el peso del huevo a la incubación (Tabla 1). Con la estirpe Hubber Redbru Mini se observó un peso inferior del huevo (60.53g) y en cambio con la estirpe Cobb se observaron pesos superiores (65.56g). El tipo de incubadora utilizada (Tabla 2) también reveló diferencias ( $p<0.001$ ) en el peso del pollo, siendo menor en incubadoras de carga múltiple (42.55g) y más elevada en las de carga única (44.29g), en consonancia así con resultados de estudios previos (Cobb, 2008; Moreno *et al.*, 2003). La edad de las reproductoras tuvo también influencia en el peso del huevo a la incubación (Tabla 3), pues entre las 30 y 45 semanas se observaron pesos inferiores (59.99 - 62.64g), en comparación al periodo comprendido entre las 51 y 60 semanas (64.92 - 64.83g). La misma tendencia fue registrada por Llobet

(1986) y Card y Nesheim (1968), que indican que el peso de los huevos aumenta con la edad de la gallina. Sin embargo, el porcentaje más alto de eclosiones (84.2%) se produjo entre las 30-35 semanas de edad de las gallinas, disminuyendo hasta 76.2% entre las semanas 56 a 60 (Figura 2). Carbó (1985) refiere que el porcentaje de eclosiones sigue una curva paralela a la producción, una vez que alcanza su máximo en el pico de la puesta, disminuyendo después. Las reproductoras más viejas originan pollos más pesados con alguna problemática en la tasa de nacimiento.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carbó, C.B., 1985. El pollo de carne - Sistemas de explotación y técnicas de producción. Ediciones Mundi-Prensa, 4ª Ed., Madrid., 351 pp. • Card, L.E. e Nesheim, M.C., 1968. Producción Avícola. España. p. 61-81. • Cobb, 2008. Guía de Manejo de Incubación. URL: <http://www.cobb-vantress.com/Products/Cobb500Literature.aspx> . Consultado en Octubre de 2012. • Llobet, J.A.C. y Gondolbeu, V.S., 1986. Manual Practico de Avicultura. Real Escuela Oficial y Superior de Avicultura, 2ª Ed., España, 248 pp. • Moreno, J.C.A., Llobet, J.A.C., García, E.C., Infiesta, P.C., Barral, A.D., Martín, E.G., García, R.L. y Sanz, R.M.A., 2003. Reproducción e incubación en avicultura. Real Escuela de Avicultura, 1ªEd., España, 597 pp.



**Figura 1:** Correlación entre el peso del huevo y peso del pollo.

**Tabla 1:** Efecto de la estirpe en el peso del huevo a la incubación (g).

Estirpe	N	Media±DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
Sasso	4500	62.88 <sup>a</sup> ±0.95	61.0	64.8	1.51
Hubber	4500	60.53 <sup>b</sup> ±2.97	55.3	63.9	4.91
Cobb	4500	65.56 <sup>c</sup> ±2.31	60.2	68.5	3.52
Ross	2250	62.54 <sup>a</sup> ±3.67	55.3	66.6	5.87
Sig.		***			
Total	15750	62.93±3.11	55.3	68.5	4.94

Sig.: Nivel de significación: \*\*\* P<0.001; a≠b≠c para P<0.001

**Tabla 2:** Efecto de la incubadora en el peso del pollo (g).

Tipo incubadora	N	Media±DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
Carga múltiple	10200	42.55 <sup>a</sup> ±1.66	38.3	46.0	3.90
Carga única	5550	44.29 <sup>b</sup> ±2.32	39.6	47.0	5.24
Sig.		***			
Total	15750	43.16±2.08	38.3	47.0	4.82

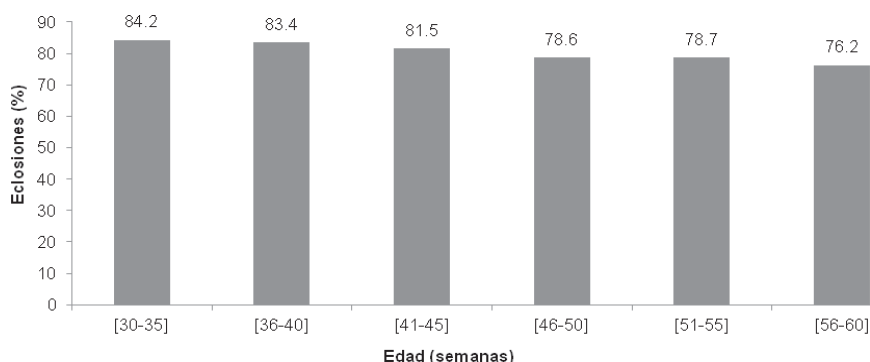
Sig.: Nivel de significación: \*\*\* P<0.001; a≠b para P<0.001



**Tabla 3:** Efecto de la edad de la reproductora en el peso del huevo a incubación (g).

Idade	N	Média±DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
30-35	1350	61.76 <sup>ab</sup> ±4.00	55.3	66.2	6.48
36-40	2400	59.99 <sup>a</sup> ±4.43	55.3	66.9	7.38
41-45	3000	62.64 <sup>abc</sup> ±2.65	58.4	66.6	4.23
46-50	4350	63.02 <sup>bc</sup> ±1.53	60.7	66.0	2.43
51-55	2550	64.92 <sup>c</sup> ±2.14	62.6	68.5	3.30
56-60	2100	64.83 <sup>c</sup> ±1.80	62.9	68.4	2.78
Sig.		***			
Total	15750	62.93±3.11	55.3	68.5	4.94

Sig.: Nivel de significación: \*\*\* P<0.001; a≠b≠c para P<0.001



**Figura 2** – Porcentaje de eclosiones por rangos de edad de las reproductoras.

## CONTRIBUTION TO THE STUDY OF FACTORS AFFECTING THE QUALITY OF CHICKS

**ABSTRACT:** We studied several factors that might influence the quality of chicks such as egg weight at incubation, transfer and types of incubators, strains (Hubber Redbru Mini, Sasso, Ross and Cobb) at various stages of production and distributed in seven facilities. There was a high correlation ( $R^2=0.98$ ) between the weight of the egg and chicks. There were differences ( $P<0.001$ ) among strains for weight of egg at incubation. The Hubber strain showed the lowest weight (60.53 g) and Cobb had the highest weight (65.56 g). The multiple load incubators revealed lower chicks weight (42.55 g), and single load incubators greater chicks weight (44.29 g). The age of hens was significant ( $P<0.001$ ) for egg weight at incubation, with lower weight (59.99 to 62.64 g) between 30 and 35 weeks of productive life. Older hens originated heavier chicks with some loss in hatchability rate.

**Keywords:** Strains, Weight egg, Incubation, Weight chicks.

## COMPORTAMIENTO DEL GANADO EN MANEJO SILVOPASTORAL

Mangado, J.M., Vergara, I., Asiain, J. y Villanueva, M.  
INTIA S.A. Avda. Serapio Huici, 22. Edif. Peritos. 31610 Villava (Navarra).  
[jmangado@intiasa.es](mailto:jmangado@intiasa.es)

### INTRODUCCIÓN

El silvopastoralismo es una forma ancestral de manejo del terreno que supone un incremento de su productividad, de la biodiversidad y de la sostenibilidad de la tierra. Este manejo tiene incidencia sobre la producción de materias con valor de mercado (madera, leña, carne, pequeños frutos, miel, hongos, resina, etc.) así como sobre otras funciones no productivas, con demanda creciente por la sociedad, como son la prevención de incendios, el reciclaje de fertilidad, el control de la erosión, la mejora de la calidad paisajística, de la biodiversidad, de la transitabilidad de los montes, etc. Desde una perspectiva social estas prácticas contribuyen a mejorar las condiciones sociales de las áreas rurales, especialmente de las más deprimidas, generando actividad económica, vertebrando la población y conservando un valiosísimo acervo cultural (tradiciones, conocimientos, pequeñas industrias, razas autóctonas, lenguaje, etc.) (Iturriaga, 2009).

Son muchos los factores que inciden sobre la práctica del silvopastoralismo (clima, suelo, orografía, biogeografía, vegetación, especies ganaderas, tradición en su práctica) que hacen que sea muy diversa su optimización, no existiendo recomendaciones globales sino adaptadas a las condiciones ecológicas, en sentido amplio, del entorno en el que se practican. En este sentido la producción científica en el campo del silvopastoralismo es limitada y por ello se planteó desde INTIA un Proyecto con el objetivo de conocer las posibilidades productivas, las afecciones sobre la masa vegetal y el comportamiento del ganado equino de una raza autóctona en manejo silvopastoral sobre repoblaciones aclaradas de *Pinus nigra* en el área submediterránea. En esta comunicación se aportan las metodologías empleadas y los resultados obtenidos para la mejora del conocimiento de la etología del ganado en este manejo.

### ANTECEDENTES

A mediados del siglo XX el desarrollo industrial y el retraso en la adopción de tecnologías de producción en el sector primario provocó fuertes flujos migratorios de las áreas rurales, sobre todo de las de limitaciones más acusadas, hacia las urbanas. A mediados del siglo XX, ante el peligro de abandono de áreas extensas, la Diputación Foral de Navarra adoptó políticas para la adquisición de entidades locales deshabitadas y de su base territorial, siendo uno de los casos la compra de 8 núcleos de población abandonados, próximos entre sí, con los que se integró la finca de "Sabaiza", con una superficie de 3333,81 ha, que pasó a formar parte del Patrimonio Forestal de Navarra. Posteriormente se decidió la repoblación de la mayor parte de la finca con *Pinus nigra* en masas puras, o mezcladas con *Pinus sylvestris*, hasta alcanzar las 2972 ha (89 % de la superficie).

En la década de los 70 del siglo pasado se localizó en esta finca el rebaño para la conservación de la pureza racial y la posible difusión de la raza equina "jaca navarra", catalogada como autóctona en peligro de extinción. Para facilitar su manejo se roturaron 50 ha para la implantación de pastizales y se construyeron establos, almacenes y otras infraestructuras ganaderas. Desde la última década de los 90 del siglo pasado la gestión de este rebaño está encomendada a INTIA.

### MATERIAL Y MÉTODOS

La finca de Sabaiza se sitúa en la transición entre las regiones biogeográficas eurosiberiana (sector cántabro-euskaldún) y mediterránea (sector castellano-cantábrico). Con una orientación general meridional y un gradiente altitudinal entre los 500 y los 1037 m., tiene una orografía complicada, surcada por multitud de barrancos. La temperatura media anual es de 13,3°C, con precipitaciones anuales de 650 mm y ETP de 730 mm. El período de aridez estival es de 50-60 días en Julio-Agosto.

La vegetación potencial de las áreas de mayor altitud (> 900 m) es la serie pirenaica de los hayedos submesofíticos neutrófilos (*Buxo sempervirentis-Fago sylvaticae* S.). Por debajo de ella la vegetación potencial pertenece a la serie pirenaica occidental y navarro-alavesa de los robles pubescentes (*Roso arvensis-Quercu pubescentis* S.) (Loidi y Báscones, 2006).

En ambas situaciones, sobre todo en la segunda, se actuó en las décadas 50-60 del siglo pasado con repoblaciones masivas de *Pinus nigra* y *Pinus sylvestris* con densidades de 1000 a 1400 pies por hectárea. Al inicio del siglo XXI se comenzó el aclareo de esas masas densas para alcanzar densidades de 300-400 pies/ha retirando los fustes de valor económico pero dejando sobre el terreno los restos de poda.

Desde los años 70 del siglo pasado se maneja en esta finca el rebaño de conservación de equino de raza "jaca navarra", autóctona y en peligro de extinción, con un manejo silvopastoral sobre la totalidad de la finca. Su censo se ha ido incrementando hasta alcanzar en la actualidad las 236 cabezas (197 ♀ adultas y 26 ♀ de reposición y 11 ♂ adultos y 2 ♂ de reposición).

En 2011 se inició sobre esa finca un proyecto para conocer la capacidad de carga ganadera de superficies de estas características, la evolución de la flora pascícola y forestal y el comportamiento del ganado en este tipo de manejo. Para ello se eligió una parcela de 50 ha y se cercó perimetralmente. El pinar aclarado ocupa la mayor parte de su superficie, siendo también significativa la presencia de formaciones muy densas de boj (*Buxus sempervirens*), con alturas que superan los 3 m de altura y que ocupan las áreas que por su pendiente, escasez de suelo o afloramientos de roca no pudieron ser repobladas en su día. Además dispone de un pastizal de 3000 m<sup>2</sup> que se puede gestionar de forma independiente.

La parcela elegida tiene una planta relativamente rectangular y para lograr que el ganado transite por su totalidad se dispusieron puntos de interés en los cuatro vértices (1 punto de agua, 2 puntos de sal, 1 punto elevado donde sopla el viento).

Anualmente se pastorean con un lote de 10 yeguas adultas, destetadas y con diagnóstico de gestación confirmado por ecografía, que se introducen a mediados de Junio. Periódicamente se controla su peso vivo y se retiran los animales del pasto cuando tras la evolución ascendente-descendente de su peso vivo alcanzan un peso similar al de entrada.

En 2012 se dispuso sobre un animal un equipo de posicionamiento GPS SPOT® protegido por una carcasa y colocado sobre un collarón contrapesado para mantenerlo en posición cenital. El peso final del conjunto es de 1,25 kg. El equipo funciona con seis pilas de litio de 1,5 V AA y está programado para enviar una señal cada 2 horas (12 posiciones/día). Su duración en condiciones óptimas es de 2 meses ( $\pm$  750 posiciones). Se contrató con una empresa un servidor para el registro y la visualización de los posicionamientos en google maps a través de la web. El posicionamiento y el envío de la información es vía satélite.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la parcela de ensayo la densidad de *Pinus nigra* es de 400 pies/ha, con un área basimétrica de 48-82 cm, una altura media de 8-16 m y una cabida cubierta de 70-100%. El estrato arbustivo lo forman *Buxus sempervirens*, *Juniperus communis*, *Rubus sp.*, *Rosa sp.*, *Prunus spinosa*, etc. y el herbáceo *Brachypodium rupestre*, *Carex flacca*, *Helictotrichon cantabricum*, *Avenula bromoides*, *Festuca gr. rubra*, etc. Las coberturas por estratos son: arbustivo 5-15%, herbáceo 5-26%, restos de poda 25-75% y suelo desnudo 0-45%.

En 2012 el período de pastoreo fue de 182 días (19/06 a 18/12) con un peso de entrada de 391 $\pm$ 15,6 kg y de salida 387 $\pm$ 12,2 kg.

El equipo GPS estuvo operativo durante 90 días completos, con los correspondientes cambios de baterías, con un número de posiciones posibles de 1129. El número de registros fue de 819 (72,5%) y de ellos 802 válidos (97,9%). Un juego completo de pilas duró 589 posiciones (49 días) siendo 473 (80,3%) el número de registros válidos. En Sabaiza Aguilar *et al.* (2009) encuentran posiciones válidas del 45% de las posibles utilizando la red GSM de telefonía móvil para el envío de los datos. Los pastizales apropiados para un manejo extensivo ocupan entornos, en general, con problemas de cobertura de telefonía móvil, por lo que el uso de dispositivos de localización y envío de la información vía satélite mejora el rendimiento de las posiciones enviadas.

Agosto fue el mes con menor número de posiciones (60,9% de las posibles). En él, por tramos horarios, el menor número de posiciones se alcanza en los tramos de 12-14 y 14-16 horas (36% y 28% respectivamente), que son las centrales de un mes con t<sup>a</sup> máximas superiores a 28 °C en la mayor parte de los días. En esos momentos los animales se refugian dentro de masas de boj muy densas, que impiden la comunicación con el satélite, saliendo a media tarde para continuar el pastoreo.

En la Figura 1 se presenta el número total de posicionamientos obtenidos, observándose que los animales exploran la totalidad de la parcela durante la temporada de pastoreo. En la Figura 2 se representa la parcela con la distribución de los puntos de interés y el desplazamiento y recorrido en un día de pastoreo. Todos los días visitan un punto de interés como mínimo y nunca permanecen en la misma posición durante más de 2 horas seguidas. Con el objetivo de conocer la influencia de la época de pastoreo sobre los desplazamientos del ganado se compararon los recorridos de los animales en tres periodos: inicio de pastoreo (Agosto), media estación (Septiembre-Octubre), final de pastoreo (Noviembre-Diciembre) resultando desplazamientos de 2057, 2108 y 1343 m. respectivamente sin diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,066$  Duncan).

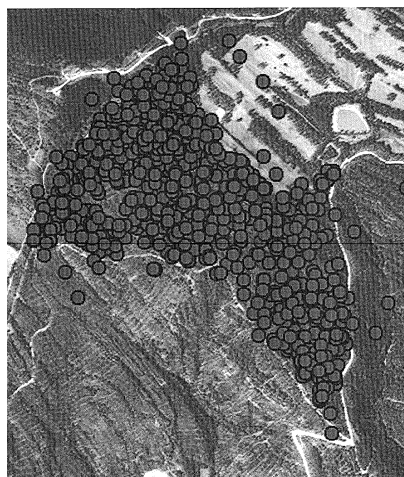


Figura 1.- Nº total de posicionamientos

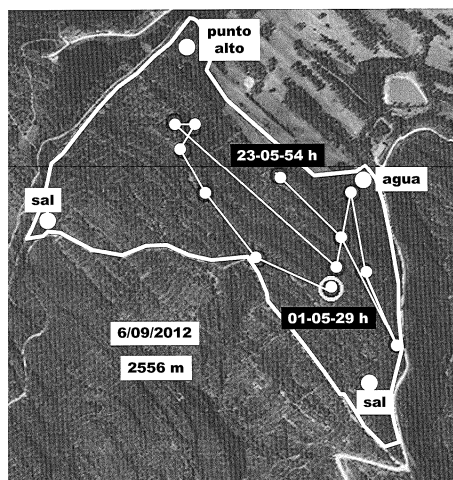


Figura 2.- Puntos de interés y recorrido

En conclusión, los equipos GPS adaptados a animales domésticos en manejo extensivo son herramientas de interés para conocer el comportamiento del ganado incluso en situaciones de pastos arbolados con alta cabida cubierta y sin cobertura de telefonía móvil.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, M., Iturriaga, I., Villanueva, M., Pérez de Muniain, A. y Maeztu, F. 2009. Aplicación de una herramienta tecnológica para el seguimiento del ganado en pastoreo libre. Actas de la XLVIII reunión de la SEEP pp. 495-501. 15-18 Junio, Huesca (España).
- Iturriaga, I. 2009. Memoria beca de silvopastoralismo. Finca de Sabaiza. ITG Ganadero 70 pp. (inédito).
- Loidi, J. y Báscones, J.C. 2006. Memoria del mapa de series de vegetación de Navarra. Gobierno de Navarra 111 pp. Pamplona (España).

**Agradecimientos:** “Proyectos piloto de manejo silvopastoral: multifuncionalidad y visión integradora”(Navarra, País Vasco). Financiado por el MARM (Red Rural Nacional).

#### LIVESTOCK BEHAVIOR IN SILVOPASTORAL SYSTEMS

**ABSTRACT:** To understand the behavior of horses grazing under clarified masses of *Pinus nigra* in the sub-Mediterranean area of Navarra, a GPS tracking device was placed on a mare and sent satellite positioning data every two hours. In this paper we present the performance of the device and data on the movement and behavior of the animals for a grazing period of five months on a plot of 50 ha. Under these conditions the device had a battery life of 50 days with 80% valid positions. Animals move an average of 1800 m per day, and do not stay in the same place more than two hours. In the central hours of the day, with maximum temperatures above 30°C, animals take refuge under dense areas of *Buxus sempervirens*.

**Keywords:** GPS, *Pinus nigra*, horses, sub-Mediterranean area

## CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE EXPLOTACIONES CAPRINAS APURIMEÑAS PERUANAS

Gómez N.C.<sup>1,2,4\*</sup>, Bustinza R.H.<sup>3</sup>, Ferrando A.<sup>1</sup>, Jordana J.<sup>1</sup> y Milán M.J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Av. Arenas 121, Abancay, Perú.

<sup>3</sup>Médico Veterinario de la Municipalidad Provincial de Abancay, Perú.

<sup>4</sup>Becario Internacional de la Fundación Ford. \*gomezurviola@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN

La crianza de ganado caprino en la región Apurímac de Perú con una altitud media de 2900 msnm se realiza en sistemas de subsistencia. Este tipo de sistemas que no gravitan en las economías regionales o nacionales, son relevantes por que satisfacen necesidades esenciales de alimentación, ocupación, asentamiento, y formación del espíritu productivo en los capricultores (Maubecín, 1983). La caracterización estructural de las explotaciones agrarias, es útil para conocer la realidad y mejorar la planificación, así como realizar una gestión más eficiente de los diferentes sistemas productivos (Valerio et al., 2004). Asimismo también nos permite determinar el uso de los recursos y el nivel tecnológico implementado en relación a los diferentes aspectos que inciden en el proceso productivo (infraestructuras, manejo de la reproducción, alimentación y sanidad, entre otros) (Valerio et al., 2010), además de ser el punto de partida para posteriores estudios sobre los sistemas de producción. Sustentado en lo anterior el objetivo del presente trabajo consiste en realizar una caracterización estructural de las explotaciones caprinas de la región Apurímac de Perú.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos se obtuvieron a través de encuestas directas a propietarios de explotaciones caprinas ubicadas en 5 provincias de la región Apurímac: Abancay, Andahuaylas, Chincheros, Aymaraes y Grau (Figura 1). La selección del ámbito de estudio se realizó en función del censo caprino y la accesibilidad geográfica (Bolaños, 1999). La encuesta se estructuró en ocho apartados y 45 ítems con sus respectivas subpreguntas abiertas y/o cerradas de la siguiente manera: 1. Características y situación de la explotación (5); 2. Estructura de los rebaños (4); 3. Manejo reproductivo del rebaño (9); 4. Manejo productivo (11); 5. Instalaciones (2); 6. Sanidad (3); 7. Aspectos laborales (2); 8. Otros aspectos (9). Para la realización del cuestionario se tuvieron en cuenta las recomendaciones propuestas por FAO (2012), así como otros trabajos previos con objetivos parecidos (Milán y Caja, 1999; Vargas, 2003; Milán et al., 2006). El cuestionario elaborado se validó inicialmente en un reducido número de criadores, tras realizar los ajustes necesarios fue aplicado entre los meses de noviembre de 2011 y abril de 2012 en 75 explotaciones seleccionadas aleatoriamente, 15 en cada una de las provincias mencionadas. Tras introducir los datos en una base de datos se procedió al análisis descriptivo-analítico, a través de estadísticos descriptivos en el caso de las variables cuantitativas y distribución de frecuencias en las variables cualitativas (Carné et al., 2007). Asimismo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) respecto al tamaño del rebaño. Por el alto grado de dispersión de algunas variables, se calcularon intervalos de clase de acuerdo a la fórmula de Sturges (Sturges, 1926). La base de datos y los análisis estadísticos fueron realizados con la hoja de cálculo EXCEL y el programa SPSS v. 20 (SPSS inc, Chicago, Illinois, USA).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal como se observa en la Tabla 1, el tamaño promedio de los rebaños es reducido (13,6 animales), compuesto por 1 macho (7,6%) y 6,3 hembras (45,9%) mayores de un año, así como de 6,4 (46,6%) animales en crecimiento menores de un año. Existe diferencia significativa entre provincias respecto al número de machos ( $P < 0,01$ ) y hembras ( $P < 0,05$ )

mayores de 1 año presentes en cada explotación. Un 68% de los productores manifiesta que se ha producido una disminución del número de cabras en las explotaciones durante los últimos cinco años (Tabla 2). La orientación productiva de la cabra apurimeña, es leche y carne en un 84% de los casos. La totalidad de explotaciones son de tipo familiar siendo la edad promedio de la persona que gestiona la explotación de 49 años (Tabla 1) y es mujer en un 50,7% de los casos. El número de trabajadores que concentra cada explotación dedicada a la crianza de cabras varía de 1 a 4 trabajadores, aunque lo más frecuente es encontrar 2 (40%) o 3 (40%) trabajadores. El nivel de estudios de los criadores de cabras es como sigue: sin estudios (20,2%), primaria (40,4%), secundaria (36,6%) y superior (2,7%). Los productores que mencionan que pretenden continuar criando cabras representan el 81,3%. Las explotaciones se hallan situadas en promedio entre 1 a 6 km de los núcleos urbanos (68%), siendo el acceso geográfico principalmente por caminos afirmados (Tabla 2); Los propietarios venden sus caprinos principalmente a un intermediario (65,33%). Además de cabras, en las explotaciones se han encontrado otras especies, predominan en cantidad promedio los cuyes (18,7 cabezas), aves (11,4 cabezas), ovinos (5,9 cabezas), vacunos (5,7 cabezas), equinos (2,1 cabezas), porcinos (1,7 cabezas) y en algún caso alpacas (en las explotaciones de la provincia de Grau) y asnos (en Abancay y Chincheros). En ningún caso se utilizan registros productivos o reproductivos, muy parecido a lo que ocurre en la Región Noroeste de la República Dominicana (Valerio et al., 2010). La primera cubrición es natural no restringida, produciéndose el primer parto entre los 12 y 18 meses de edad. El régimen de tenencia de tierra que prevalece en todas las explotaciones es el de tipo comunal (90,7%) (Tabla 2) y en todos los casos el ganado está sin estabular. Únicamente en un 40% de las explotaciones se hicieron inversiones en los últimos cinco años, en infraestructura (37,3%), pastos (1,3%) y compra de reproductores (1,3%). Excepcionalmente en algunas explotaciones realizan la desparasitación interna (28%) y externa (18,7%).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bolaños, O., 1999. Ministerio de agricultura y ganadería. XI Congreso Nacional Agronómico / I Congreso Nacional de Extensión. Costa Rica.
- Carné, S., Roig, N. & Jordana, J., 2007. Arch. Zootec. 56 (213): 43-54.
- FAO, 2012. Directrices FAO: Producción y sanidad animal. No. 7. Roma.
- Maubecín, R.A., 1983. IDIA Suplemento, 39: 45-51.
- Milán, M.J. & Caja, G., 1999. ITEA, 95A:91-107.
- Milán, M.J., Bartolomé, J., Quintanilla, R., García-Cachán, M.D., Espejo, M., Herráiz, P.L., Sánchez-Recio, J.M. & Piedrafita, J., 2006. Livest. Sci., 99: 197-209.
- Sturges, H. 1926. J. Amer. Stat. Assoc., 21 (153): 65-66.
- Valerio, D., García, A., Acero de la Cruz, R., Castaldo, A., Perea, J. & Martos, J., 2004. DT 1, Vol. 1. Universidad de Córdoba.
- Valerio, D., García, A., Acero, R., Perea, J., Tapia, M. & Romero, M., 2010. Arch. Zootec. 59 (227): 333-343.
- Vargas, S., 2003. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba.

**Tabla 1. Valores medios y desviación estándar de algunas variables estructurales cuantitativas en relación a las explotaciones caprinas apurimeñas.**

	Media general	Provincias				
		Abancay	Andahuaylas	Chincheros	Aymaraes	Grau
Número de caprinos por explotación	13,6±10,6	11,9±10,4	20,8±15,4	7,7±5,4	12,9±7,9	14,9±7,2
Edad del propietario (años)	48,6±13,7	49,5±16,1	48,0±12,8	49,0±13,3	52,2±13,6	44,2±13,1
Número de trabajadores por explotación	2,4±0,8	2,4±0,9	2,4±0,6	2,3±0,8	2,5±1,1	2,6±0,6
Horas dedicadas por los trabajadores/explotación/día	8,5±1,6	8,2±1,3	9,0±1,7	8,3±1,2	8,0±2,2	9,2±1,3
Edad al primer parto (meses)	13,6±1,3	13,6±1,2	13,67±1,1	13,5±1,8	13,7±1,2	13,4±1,1
Litros de leche ordeñada de una cabra/día*	1,0±0,6	1,1±0,8	0,9±0,8	0,9±0,4	1,1±0,5	1,0±0,4
Kilogramos de carne producido por animal adulto	15,6±2,7	15,3±2,0	16,4±3,1	15,5±3,4	15,9±2,4	14,7±2,5

\* Se considera solo a los que efectivamente manifiestan que ordeñan.

**Tabla 2. Porcentaje de explotaciones caprinas apurimeñas que cumplen una característica determinada.**

	Total (%)	Provincias				
		Abancay	Andahuaylas	Chincheros	Aymaraes	Grau
Explotaciones que desean asociarse	89,3	73,3	93,3	93,3	86,7	100,0
Acceso por camino afirmado	56,0	13,3	100,0	46,7	73,3	46,7
Uso de energía eléctrica	60,0	60,0	100,0	73,3	53,3	13,3
Uso de agua del servicio público	68,0	73,3	100,0	73,3	80,0	13,3
Disminución de cabras en las explotaciones en los últimos cinco años	68,0	100,0	26,7	73,3	80,0	60,0
Tenencia de tierra de uso comunal	90,7	100,0	66,7	93,3	93,3	100,0
Superficie (0,5-4,4 ha) de uso comunal donde la explotación se desarrolla	70,7	100,0	46,7	66,7	73,3	66,7
Poseen corrales de madera, troncos y ramas	56,0	66,7	46,7	80,0	46,7	40,0
Continuidad de la explotación	81,3	66,7	93,3	86,7	60,0	100,0



**Figura 1. Localización de las cinco provincias estudiadas**

### STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF APURIMEÑA PERUVIAN GOAT FARMS

**ABSTRACT:** This research shows the results of a survey made on owners of 75 apurimeña goat farms in 5 provinces from Perú. The herd average size is 13.6 animals. Average herd structure consists of adult animals (> 1 year) [males 1.0 (7.6%) and females 6.3 (45.9%)] and growing animals (<1 year) [6.4 (46.6%)]. The flocks are managed in extensive system. Feeding depends basically on grazing. Moreover, farms are predominantly managed by two or three workers, and average age of the holders is 49 years. 81.3% of the producers will continue raising goats. However, in 68% of farms, goat population has decreased in the last five years. This reality justifies that public institutions worry more on supporting and investing money in this sector.

**Keywords:** Production systems, genetic resources.

## **INFLUENCIA DE DIVERSOS FACTORES SOBRE EL CRECIMIENTO DE CORDEROS DE RAZA ALCARREÑA**

Palacios, C.<sup>1</sup>, Álvarez, S, Colmenar, L. y Abecia, J.A.

<sup>1</sup>Area Producción Animal. Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales. Universidad de Salamanca. Avda. Filiberto Villalobos, 119. 37007. Salamanca. [carlospalacios@usal.es](mailto:carlospalacios@usal.es)

### **INTRODUCCION**

La raza Alcarreña es una raza autóctona en peligro de extinción, según el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España, originaria de la zona que le da el nombre, la Alcarria, en las provincias de Cuenca y Guadalajara. Como muchas otras razas de este tipo, se caracteriza por su adaptación al medio y por tener un modelo de producción sostenible. Para su conservación, en 1998 se creó la Asociación de Ganaderos de Raza Ovina Alcarreña (AGRAL), que impulsó la puesta en marcha del Libro Genealógico, aprobado por Orden de 23 de enero de 2005 de la Consejería de Agricultura de Castilla-La Mancha. Así mismo, por resolución del 28 de diciembre de 2011 se aprobó el Programa de Conservación de la Raza Ovina Alcarreña. Su estándar racial se encuentra definido, pero para poder conservar la raza y definir y estandarizar sus productos, es preciso conocer sus características productivas. El objetivo del presente trabajo es presentar la información sobre este aspecto, en concreto sobre pesos al nacimiento, al mes y al destete, así como la velocidad de crecimiento en este periodo.

### **MATERIAL Y METODOS**

Se han utilizado 1001 registros de los años 2010 y 2011 de una ganadería de la raza Alcarreña inscrita en el libro genealógico de la raza, localizada en La Frontera, Cuenca, donde se realizaron pesadas de manera sistemática, utilizando un dinamómetro, a todos los corderos de la granja, registrándose el peso vivo al nacimiento (PN) y los pesos a los 30 (P30) y 45 días (P45), momento del destete. Se han calculado las ganancias medias diarias del nacimiento a los 30 días (GN-30), de los 30 a los 45 días (G30-45) y del nacimiento a los 45 días (GN-45). Los valores se han comparado por GLM, siendo los efectos fijos el sexo (macho y hembra), el tipo de parto (simple, doble o triple), la edad de la madre (de 1 a >6 años) y el mes de parto (enero, abril, agosto o diciembre). Al no haber diferencias entre años, este factor no ha sido incluido en el modelo. En caso de detectarse diferencias significativas las medias de las subclases fueron analizadas con la prueba de DMS. Las medias se acompañan del E.S.

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Los valores registrados y su comparación se exponen en la Tabla 1. El PN medio ( $3,49\pm 0,04$  kg), no fue afectado por ninguna de las variables estudiadas, con valores de 3,5 kg para los machos y de 3,3 kg para las hembras, aunque sin diferencias significativas. En general son menores pesos que los resultados obtenidos por Palacios et al. (2009) para una población más escasa de animales Alcarreños (4,22 kg). Consideramos que estos valores obtenidos se ajustan mejor a la realidad de la raza, al contemplar dos años y varias épocas de nacimiento. Los resultados del peso al nacimiento sitúan a los corderos neonatos alcarreños próximos a los pesos de los corderos de la raza Guirra con 3,36-4,00 kg (Rodríguez, 2002) y los de la raza Ojinegra con 3,30-3,90 kg (Arrufat, 1982). Lejos de los pesos al nacimiento de razas entrefinas con mayores conformaciones cárnicas como la Merina (3,80-4,90 kg; Vijil et al., 1984) o la Segureña (4,34 kg; Marcos et al., 2001). En cuanto al peso a los 30 días, la media obtenida es de  $9,54\pm 0,06$  kg, inferior a los publicados para las razas Gallega (10,4 kg; Palacios, et al., 2009) y Segureña (10 kg; Marcos et al., 2001). La comercialización de los corderos Alcarreños se realiza cuando estos alcanzan los 12 kg en el mercado de "Lechazos", compitiendo con animales de razas que a los 30 días tienen unos 10,5 kg, pero con un mayor grado de engrasamiento y buena conformación, como en el caso de los animales del tronco Churro. Los corderos Alcarreños tienen un crecimiento lento en estas edades lo que les impide conseguir buenas calidades



para esta categoría comercializadora (Revilla et al., 2011). El tipo de parto y la edad de la madre afectaron de manera significativa al P30, al igual que ocurrió en los corderos de raza Lacaune de aptitud cárnica (Jounou et al., 2004) y en la Churra Gallega Bragançana (Jimenez et al., 2005). De este modo, los corderos de parto simple fueron significativamente más pesados a esa edad que los de parto doble ( $p < 0,001$ ) y aquellos procedentes del primer parto de la oveja presentaron un P30 significativamente inferior que el resto de las edades estudiadas ( $p < 0,01$ ).

El P45 medio ( $12,78 \pm 0,08$  kg) mostró valores bajos respecto a otras razas de aptitud cárnica, aún en el caso de ser variedades rústicas y de sistemas extensivos, con un diferencial medio de 3-4 kg, lo que les obliga a estar más días en el cebadero para alcanzar pesos competitivos con animales de esas razas (Revilla et al., 2011). El P45 fue modificado de manera significativa por el tipo de parto y el mes de paridera, siendo de nuevo los corderos de parto simple los que alcanzaron el mayor P45 ( $p < 0,05$ ) y los nacidos en agosto y diciembre frente a las otras dos parideras ( $p < 0,05$ ). En los corderos Lacaune de aptitud cárnica (Jounou et al., 2004) y en la Churra Gallega Bragançana (Jimenez et al., 2005) el efecto del tipo de parto es significativo durante todo el crecimiento del cordero hasta el destete.

La ganancia media desde el nacimiento a los 30 días ( $202 \pm 2$  g/d) no fue afectada por ninguno de los factores estudiados, obteniendo resultados similares a los del anterior estudio con corderos Alcarreños y en el mismo rango de corderos de razas Segureña, Ojinegra y Cartera (Palacios et al., 2009).

La G30-45 media ( $183 \pm 6$  g/d) fue afectada por el tipo de parto, de modo que los corderos nacidos en enero y abril crecieron significativamente menos que los corderos de agosto y diciembre ( $p < 0,0001$ ). Los mayores pesos obtenidos a los 45 días en estas dos parideras son el resultado del aumento de crecimiento que experimentan los corderos a partir del mes de vida. Supera los 165 g/d de crecimiento de la oveja Gallega (Adán et al., 2010).

La GN-45 media durante todo el periodo estudiado fue  $195 \pm 3$  g/d. En estos días los animales se seleccionan para realizar destetes con destino a cebadero en el caso de los más desarrollados, destinándose a lechazos los menos desarrollados. Son crecimientos menores que los corderos Manchegos (289,4 g/d; Molina et al., 1997) o Lacaune de carne (239 g/d; Jounou et al., 2004) y menores que los de nuestro primer estudio (Palacios et al., 2009). Tanto la edad de la madre como el mes de paridera afectaron de manera significativa a GN-45, observándose las menores ganancias en corderos hijos de madres de más de 6 años ( $p < 0,001$ ) y en la paridera de abril en comparación con agosto y diciembre ( $p < 0,05$ ).

En conclusión, y según el modelo estadístico aplicado, el sexo no modificó los parámetros de crecimiento de los corderos de raza Alcarreña. El tipo de parto solo afecta significativamente a partir de los 30 días de vida, siendo el peso vivo en ese momento mayor en los corderos de parto simple. Los animales nacidos de ovejas primíparas obtuvieron menores pesos a los 30 días que el resto y los que nacieron en las parideras de agosto y diciembre obtuvieron mayores pesos al destete (45 días) que los nacidos en el primer semestre del año.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adán, S., Fernández, M., Domínguez, B., Rivero, C.J., Justo, J.R., Arias, A., García-Fontán, M.C., Lorenzo, J.M., Lama, J.J., López, C. & Franco, D. 2010. XXXV SEOC pp 440-445
- Arrufat, A. 1982. VII SEOC pp 441-446
- Jounou, R., Molina, E., Villalba, D. & Boleda, J.L. 2004. XXIX SEOC pp 222-223
- Jiménez Badillo, M. R., Cadavez, V., Rodrigues, S., Delfa, R., Teixeira, A. & Sañudo, C. 2005. XXX SEOC pp 369-371
- Marcos, J., Cano, T., Alcalde, M.J., Peña, F., Domenech, V., García, A., Herrera, M. Rodero, E., Valera, M. & Alcalá, A. 2001. XXVI SEOC pp 941-949
- Molina, A., Gomez, C., Fernandez, C., Gallego, L. 1998. XXI SEOC. pp 739-744
- Palacios, C., Colmenar, L.M. & Martinez, O. 2009. XXXIV SEOC pp 568-572
- Revilla, I., A.M., Lurueña-Martínez, M.A. & Palacios, C. 2011. XIV J Prod. Anim., pp 688-690
- Rodríguez, M., Puchades, S., Martí, J.V., Peris, C., Peris, B. & Fernández, N. 2002 XXVII SEOC pp 907-912
- Vijil, E., Ruiz-Poveda, J. & Ciudad, C. 1984. IX SEOC pp 109-143.

**Agradecimientos:** A Jesús Herbás, ganadero que recoge la información y que con su paciencia y constancia permite realizar nuestro trabajo. A la Asociación de Criadores de Raza Ovina Alcarreña.

## EFFECT OF SEVERAL FACTORS ON GROWTH PARAMETERS OF ALCARREÑA LAMBS

The aim of this work was to characterize some growth parameters of Alcarreña, an endangered Spanish sheep breed, such as live weight at lambing, at 30 and 45 days, and average daily gain. Sex, age of the mother, type of lambing and season were considered in the model. A total number of 1001 records from 2010 and 2011 were obtained in a commercial farm in Cuenca. Mean live weight at lambing, at 30 and at 45 d (weaning) were, respectively, 3.49±0.04, 9.54±0.06 kg and) 12.78±0.08 kg. Mean daily gain from lambing to 30 d was 202±2 g/d, from 30 to 45 d 183±6 g/d and from lambing to weaning 195±3 g/d. Single lambs were heavier at lambing than twins or triplets ( $p<0.001$ ). Lambs from first lambing ewes were lighter at 30 d ( $p<0,05$ ) and those born on August or December were heavier at weaning ( $p<0.05$ ) than the rest of lambing periods.

**Keywords:** Alcarreña, lambs, growth, live weight

**Tabla 1. Peso al nacimiento (PN), a los 30 (P30) y 45 días (P45) (kg) y ganancias medias diarias (g/d) del nacimiento a los 30 días (GN-30), de los 30 a los 45 días (G30-45) y del nacimiento a los 45 días (GN-45), de corderos de raza Alcarreña, en función del sexo, tipo de parto, edad de la madre (años) y mes de parto.**

Efecto	n	PN	P30	P45	GN-30	G30-45	GN-45
<b>Sexo</b>							
Macho	478	3,50	9,35	12,76	207	188	0,201
Hembra	523	3,30	9,08	12,23	197	202	0,190
<b>Tipo parto</b>							
Simple	673	3,57	9,75 <sup>a</sup>	13,18 <sup>a</sup>	209	191	203 <sup>a</sup>
Doble	315	3,23	8,64 <sup>b</sup>	11,84 <sup>b</sup>	187	170	181 <sup>b</sup>
Triple	13	3,25	9,00	11,83 <sup>b</sup>	191	80	154
<b>Edad madre</b>							
1	84	3,22	8,41 <sup>a</sup>	11,89	186	179	184
2	212	3,45	9,15 <sup>b</sup>	12,38	204	176	194 <sup>a</sup>
3	225	3,39	9,54 <sup>b</sup>	12,67	211	193	205 <sup>a</sup>
4	166	3,49	9,69 <sup>b</sup>	13,09	208	195	204 <sup>a</sup>
5	212	3,46	9,30 <sup>b</sup>	12,65	192	220	201 <sup>a</sup>
>6	102	3,32	9,12 <sup>b</sup>	12,12	198	95	164 <sup>b</sup>
<b>Mes parto</b>							
Enero	149	3,23	8,96	12,11 <sup>a</sup>	189	195 <sup>a</sup>	190
Abril	456	3,34	9,19	12,02 <sup>a</sup>	206	132 <sup>a</sup>	181 <sup>a</sup>
Agosto	299	3,46	9,25	12,92 <sup>b</sup>	201	240 <sup>b</sup>	214 <sup>b</sup>
Diciembre	97	3,60	9,54	13,16 <sup>b</sup>	205	246 <sup>b</sup>	219 <sup>b</sup>
Error medio	1001	0,04	0,06	0,08	0,01	0,01	0,01

Diferentes índices (a,b) representan diferencias significativas entre  $<0,05$  y  $p<0,001$

## **CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO DE CABRITOS MURCIANO GRANADINOS PUROS Y PROCEDENTES DEL CRUCE CON SEMENTALES ESPECIALIZADOS CÁRNICOS DE LA RAZA BOER. PRIMEROS RESULTADOS.**

Pérez-Baena, I.<sup>1</sup>, Dorantes, J.A.<sup>1</sup>, Sánchez-Quinche, A.<sup>1</sup>, Gutiérrez, A.<sup>1</sup>,  
Fernández, N.<sup>1</sup>, Rodríguez, M.<sup>1</sup>, Gómez, E.A.<sup>2</sup>, y Peris, C.<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Institut de Ciència i Tecnologia Animal, Universitat Politècnica de València.

C/ Camí de Vera, s/n. 46022 (València) \*cperis@dca.upv.es

<sup>2</sup>CITA-IVIA. Centro de Investigación y Tecnología Animal.

Apdo. 187. 12400 Segorbe (Castellón)

### **INTRODUCCIÓN**

En las principales especies explotadas en producción animal se realizan cruces entre razas o líneas genéticas con el objetivo de mejorar las características de crecimiento de los animales de abasto. En ganado caprino lechero no se suelen realizar cruzamientos, siendo las más frecuentes las explotaciones que producen animales en pureza. La participación de las explotaciones de caprino lechero en programas de mejora genética con objetivos de selección relacionados únicamente con la producción y calidad de la leche, está provocando un empeoramiento de las características cárnicas de los cabritos producidos.

La raza murciano-granadina (MG) es la de mayor censo entre las razas caprinas españolas de aptitud láctea. Los cabritos MG se comercializan entre 7 y 9 kg de peso vivo (PV) y suelen tener una bajas velocidades de crecimiento (100-120 g/d). De entre las razas caprinas especializadas en la producción de carne destaca la raza Boer (BO), valorada como una de las mejores razas de aptitud cárnica a nivel mundial. De hecho, se considera que el verdadero potencial de esta raza radica en que sus sementales sean utilizados en cruzamientos terminales con otras razas (Van Niekirk y Cassey, 1988).

El objetivo de este trabajo es analizar las características de crecimiento de cabritos MG puros y los procedentes del cruce entre cabras MG y sementales de la raza BO.

### **MATERIAL Y METODOS**

Este estudio se ha llevado a cabo en la granja experimental de pequeños rumiantes del Institut de Ciència i Tecnologia Animal de la Universitat Politècnica de València. Se ha evaluado el peso al nacimiento (PN), crecimiento (GMD) e índice de conversión (IC) durante la lactancia artificial (LA), de cabritos MG puros (MGxMG; n=30) y cabritos cruzados de cabras MG y machos sementales BO (BOxMG, n=10). Los cabritos recién nacidos pasaron un periodo de encalostrado y adaptación al sistema de LA de 4 días. Se constituyeron grupos experimentales de tres animales, de peso similar, en función de la raza y el sexo, y se alojaron en cubículos independientes (0,96 m<sup>2</sup>/cubículo). Los grupos fueron alimentados durante todo el periodo experimental con un factorreemplazante *ad libitum* de alta calidad (Nantamilk Supreme, Nanta España S.A.) ofrecido en 2 tomas diarias (9:00 y 18:00 horas) a una concentración de 170 g/l durante las 2 primeras semanas y 190 g/l desde la segunda semana hasta su sacrificio. Este último se llevó a cabo cuando los cabritos alcanzaron los 9 Kg de PV, o bien cuando llegaron a las 9 semanas de vida (lo que antes sucediera). Diariamente (8:00 h) se pesó el rehúsado lácteo de cada cubículo y se analizó por duplicado su materia seca (MS). Durante el periodo experimental se realizaron 2 controles (8:00 h) semanales del peso de cada cabrito, y, a partir de ellos, se estimaron los pesos y GMD a cada semana de edad, así como los días de edad en que cada cabrito alcanzó los 9 Kg de PV. Las variables de peso y GMD se analizaron estadísticamente con un modelo que contempló efectos fijos Raza, Sexo, Día, sus interacciones dobles y el efecto aleatorio del animal. En el análisis estadístico de las variables de peso a 9 Kg y el IC tan solo se consideraron los efectos fijos de la Raza, Sexo y su interacción. En caso del IC global se consideró sólo el efecto fijo de Raza.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra la evolución del peso semanal y la GMD desde el nacimiento (PN) de los cabritos MGxMG y BOxMG. El PN fue un 33% superior ( $P<0,01$ ) en los BOxMG ( $3,28\pm 0,24$  kg) que en los MGxMG ( $2,46\pm 0,13$  kg). El peso al nacimiento medio de los cabritos cruzados resultó inferior al obtenido por Goonerwardene *et al.* (1998) en cabritos cruzados entre machos BO con razas lecheras de tamaño adulto superior a la raza MG como son: Spanish goat (SG; 3,48 Kg de PN), Alpina (AL: 3,95 Kg) y Saanen (SA: 4,09 Kg). Sin embargo, el PN fue superior al obtenido por Premasundeba *et al.*, (1998) para cabritos provenientes del cruce de BO con la raza Jamnapari de tamaño adulto similar a la MG (2,69 Kg). Los valores de PN obtenidos para los cabritos MG puros están en el rango de lo publicado por otros autores ( $2,44\pm 0,14$  Kg, Fuentes-García *et al.*, 1988;  $2,7\pm 0,3$  Kg, Sanz, 2005).

**Tabla 1.** Evolución semanal del peso (Kg) y la ganancia media diaria (g/día) de cabritos murciano granadinos puros y cabritos procedente de hembras murciano granadinas cruzadas con machos Boer.

	Peso (kg)			GMD <sup>5</sup> (g/d)		
	BO <sup>2</sup> x MG <sup>3</sup>	MG x MG	Niv. Sig. <sup>4</sup>	BO x MG	MG x MG	Niv. Sig.
<b>PN<sup>1</sup></b>	3,28 ± 0,24	2,46 ± 0,14	**	-	-	
<b>7 días</b>	3,97 ± 0,24	2,93 ± 0,14	***	94,0 ± 14,6	66,9 ± 8,4	ns
<b>14 días</b>	5,18 ± 0,24	3,88 ± 0,14	***	169,1 ± 14,6	135 ± 8,4	*
<b>21 días</b>	6,41 ± 0,24	4,69 ± 0,14	***	170,9 ± 14,6	115,7 ± 8,4	**
<b>28 días</b>	7,69 ± 0,24	5,6 ± 0,14	***	186,1 ± 15,4	130,9 ± 8,4	**
<b>35 días</b>	8,64 ± 0,29	6,56 ± 0,14	***	196,6 ± 22,9	136,5 ± 8,4	*
<b>42 días</b>	-	7,56 ± 0,14		-	155 ± 8,8	
<b>49 días</b>	-	8,21 ± 0,15		-	143,2 ± 10,2	

<sup>1</sup>PN, Peso al nacimiento; <sup>2</sup>BO, Raza Boer; <sup>3</sup>MG, Raza murciano-granadina; <sup>4</sup>Niv. Sig., Nivel de significación estadística, ns: no significativo ( $P>0,05$ ); \* ( $P<0,05$ ); \*\* ( $P<0,01$ ); \*\*\* ( $P<0,001$ ); <sup>5</sup>GMD: Ganancia media diaria.

Los valores medios de la GMD desde el nacimiento hasta el sacrificio, son superiores ( $P<0,001$ ) en los cabritos BOxMG ( $163\pm 7,3$  g/d) que en los MGxMG ( $128\pm 3,9$  g/d). Estos últimos resultados coinciden con los obtenidos por Sanz (2005) en cabritos MG puros criados también en lactancia artificial (123 g/día), y son superiores a los crecimientos obtenidos por Goonerwardene *et al.* (1998) en cruces BOxSG (119 g/d), BOxAl (146 g/d) y BOxSA (127 g/d). El efecto del sexo fue significativo para la variables PN y GMD ( $P<0,05$ ), mientras que la interacción Raza X Sexo no resultó significativa en ambas variables. Debido a que los cabritos BOxMG presentaron mayor PN y GMD, la edad media con la que alcanzaron los 9 Kg de PV fue inferior ( $35,4\pm 2,96$  días) que en los cabritos MGxMG ( $52,6\pm 1,57$  días), de modo que el periodo de lactancia artificial disminuyó en 17,2 días. Como era de esperar, el IC fue menor ( $P<0,05$ ) en los cabritos BOxMG ( $1,36\pm 0,068$  Kg de MS de lactoreemplazante por Kg de PV) que en los MGxMG ( $1,53\pm 0,037$  Kg).

El hecho de que en este estudio se hayan observado mejoras relevantes en las características de crecimiento (PN, GMD e IC) de los cabritos cruzados (cabras Murciano-Granadina X machos cárnicos de raza Boer), respecto a los cabritos murciano granadinos puros, sugiere que podría ser económicamente interesante para los ganaderos realizar este cruzamiento. Por tanto, es necesario realizar nuevos trabajos, con mayores efectivos, en los que además se estudien las variables de la canal y calidad de la carne.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Fuentes, F., Gonzalo, C., Herrera, M., Escobar, S., Quiles, A. 1988. Crecimiento en cabritos de raza murciana granadina. Archivos de zootecnia, 37(138):155. • Goonewardene, L. A., Day, P. A., Patrick, N., Scheer, H. D., Patrick, D., Suleiman, A. 1998. A preliminary evaluation of growth and carcass traits in Alpine and Boer goat crosses. Canadian Journal Animal Science. 78:229-232. • Premasundeba, A. S., Ravindran, V., De Silva, G. P. L., Jeyalingavatkani, S. 1998. Crossbreeding Trials with Boer Goats in Sri Lanka: Effects on the Birth Weights of Kids. Der Tropenlandwirt, Beitrage zur tropischen Landwirtschaft und veterinarmedizin. 99. Jahrgang. S. 43-48. • Sanz, B. 2005. Tipo de alimentación, modo de encalostrar y estacionalidad de la paridera como factores condicionantes del crecimiento de los cabritos lechales de la raza Luciano-granadina. XXX Jornadas Científicas y IX Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. P. 236-238. • Van Niekerk, W. A., Casey, N. H. 1988. The Boer Goat. II. Growth, Nutrient Requeriments, Carcass an Meat quality. Small Ruminant Research 1(4): 355-368.

**Agradecimientos:** Los autores quieren agradecer a D. José María Bello Dronda (Nanta España S.A.) su colaboración.

### **GROWTH TRAITS OF MURCIANO-GRANADINA PUREBRED KIDS AND BOER x MURCIANO-GRANADINA CROSSBRED KIDS. FIRST RESULTS**

**ABSTRACT:** This study analyses growth traits in Murciano Granadina (MG) purebred kids comparing with Boer (BO) x MG crossbred kids. Crossbreeding in dairy goats is unusual. Selection for milk yield could get worse several growth traits . The MG kids are marketed between 7 and 9 kg live weight. In this study, kids were fed with a commercial milk replacer (Nantamilk Supreme, Nanta España S.A.). Animals were slaughtered at 9 kg or when they were 9 weeks old. Birth weight was 33% higher in crossbred kids. Daily gain was 128 g/d in purebred kids comparing with 163 g/d in the crossbred ones. BOxMG reached the commercial weight 17 days before (35 vs. 52 d) and the feed conversion ratio shown the best efficiency in converting milk replacer in liveweight (1,36 vs. 1,53 kg/kg). Crossbreeding Murciano Granadina goats with Boer bucks could improve straightforward the growth traits of young kids, consuming less milk replacer and reaching the commercial weight more than two weeks before.

**Keywords:** Murciano-Granadina, Boer, crossbreeding, growth traits.

## IDENTIFICACIÓN DE DROMEDARIOS MEDIANTE MARCAS AL FUEGO, CROTALES PLÁSTICOS Y BOLOS ELECTRÓNICOS

Caja, G.<sup>1</sup>, Díaz-Medina, E.<sup>2</sup>, Cabrera, S.<sup>2</sup>, Amann, O.<sup>2</sup>, Salama, O.H.<sup>3</sup>, El-Shafei, M.H.<sup>3</sup>, El-Sayed, H.<sup>3</sup>, Salama, A.A.K.<sup>1,3</sup>, Aljumaah, R.S.<sup>4</sup>, Ayadi, M.<sup>4</sup> y Alshaikh, M.A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

<sup>2</sup>Oasis Park-Museo del Campo Majorero, La Lajita, Fuerteventura; <sup>3</sup>Animal Production Research Institute (APRI), Dokki, Giza, Egipto; <sup>4</sup>College of Food and Agriculture Sciences, King Saud University (KSU), Riyadh, Arabia Saudí. [gerardo.caja@uab.es](mailto:gerardo.caja@uab.es)

### INTRODUCCIÓN

La población mundial de camélidos es de  $20,2 \times 10^6$  animales, de los cuales 7.300 se localizan en Europa (FAOSTAT, 2013). El dromedario (*Camelus dromedarius* L.) es una especie ganadera de interés dada su resistencia a la aridez, capacidad de trabajo y demanda de sus productos para el consumo tradicional y étnico. Se estima que en España hay unos 2.000 dromedarios, la mayor parte localizados en las islas de Fuerteventura y Lanzarote (Canarias). El “Camello Canario” (*C. dromedarius*) ha sido reconocido como raza autóctona española (Orden AAA/251/2012) y existe un creciente interés en el estudio de su peculiar fisiología y en las propiedades funcionales de su leche (Agrawal et al., 2011).

Los dromedarios son una especie longeva (30-40 años) y que presenta capas con escasas diferencias entre individuos por lo que, para su identificación (ID) individual, resulta imprescindible el uso de marcas permanentes. El método tradicional de ID en los dromedarios es la marca al fuego (“washm”), aplicada en zonas corporales sin lana (p. ej. junto al ojo o la oreja, carrillo, cuello, muslo). Sin embargo, estas marcas son de poca utilidad en programas nacionales y no son aceptables para los actuales estándares de ID, registro de movimientos y bienestar animal. Recientemente Salama et al. (2012) han indicado que los bolos ruminales (Caja et al., 1999) tienen elevadas retenciones y pueden ser una alternativa de interés en dromedarios.

El propósito de este trabajo fue evaluar los resultados de diferentes sistemas de ID de dromedarios (al fuego, crotales plásticos y bolos electrónicos), a medio plazo y en 3 localizaciones geográficas características de su producción (Egipto, Canarias y Arabia).

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron 3 experiencias coordinadas, llevadas a cabo por distintos equipos de investigación, utilizando un total de 477 dromedarios de distintas razas, edades, localización geográfica y condiciones de explotación.

**Exp.1 (Egipto):** Se utilizaron 83 dromedarios de ordeño de raza Magrebí de la Camel Experimental Station del APRI (Marsa Matrouh, Matrouh Governorate, Egipto), de edad media  $5,7 \pm 0,5$  años (1,1-13,8) y alojados en estabulación libre. Una parte de ellos ( $n = 45$ ) mostraba marcas al fuego en el muslo (1-3 dígitos, 20 cm de alto), realizadas al año de edad, y que se utilizaron para evaluar la legibilidad de las marcas al final del experimento. Todos los animales fueron ID con crotales rectangulares de poliuretano (2 alas,  $15 \times 50$  mm, 3 g; grabados con laser, 3 dígitos), en la oreja izquierda, y con bolos electrónicos (**Tabla 1**) de diferentes dimensiones y materiales de distinta gravedad específica (ligeros,  $GE < 2$ ; y pesados,  $GE > 3$ ): **B1** ( $n = 20$  y 17), **B2** ( $n = 0$  y 16) y **B4** ( $n = 15$  y 15), respectivamente. La legibilidad de los dispositivos de ID se evaluó a 1, 2, 7, 14, 21, 32, 61 d, y a intervalos de 1-2 meses, hasta los 1,5 años. Los bolos se leyeron con equipos de mano Gesreader 2S (Rumitag, Esplugas de Llobregat, Barcelona) y 3S (Datamars, Bedano, Suiza) y antenas bastón. Los crotales y bolos perdidos no fueron reemplazados hasta el final del experimento.

**Exp.2 (Canarias):** 304 dromedarios de raza Canaria del núcleo zoológico Oasis Park (La Lajita, Fuerteventura), mantenidos en parques de ejercicio según edades (jóvenes en cría o destetados  $< 2$  años –guelfos, de recría y de 2-4 años –majalulos–, hembras en cría, ordeño y gestantes a término, sementales), en pastoreo (majalulos, hembras vacías y a inicio de gestación) o sometidos a trabajo en caravanas (machos castrados y hembras no reproductoras), fueron identificados con crotales tipo botón de poliuretano ( $28,5$  mm  $\varnothing$ , 3,5 g,

**Tabla 1.** Características de los bolos utilizados para la identificación electrónica<sup>1</sup> de camellos

Tipo de bolo		Material ligero ( $GE^2 < 2.0$ )		Material pesado ( $GE > 3.0$ )	
Tamaño	Clave	Peso (g)	Volumen (mL)	Peso (g)	Volumen (mL)
Pequeños	B1	12,7 ± 0,1 <sup>3</sup>	8,5 ± 0,1	20,1 ± 0,2 <sup>4</sup>	5,2 ± 0,1
Medianos	B2	-	-	51,4 ± 0,1 <sup>5</sup>	14,3 ± 0,1
Regulares	B3	-	-	65,2 ± 0,1 <sup>4</sup>	21,0 ± 0,1
Estándar	B4	33,3 ± 0,3 <sup>3</sup>	22,1 ± 0,1	75,1 ± 0,3 <sup>4</sup>	22,4 ± 0,1
Grandes	B5	-	-	82,1 ± 0,2 <sup>4</sup>	22,8 ± 0,1

<sup>1</sup>Equipados con un transpondedor half-duplex de 32 × 3,8 mm (Ri-Trp-RR2B-06, Tiris, Almelo, Holanda). <sup>2</sup>Gravedad específica. <sup>3</sup>Prototipos de plástico-cemento. <sup>4</sup>Cerámicos fabricados por Rumitag (Esplugues de Llobregat, Barcelona). <sup>5</sup>Cerámicos fabricados por Innoceramics (Teramo, Italia).

Allflex, Madrid) y bolos cerámicos de material pesado ( $GE > 3$ ) y de distintos tipos: B1 (n = 53), B3 (n = 28), B4 (n = 137) y B5 (n = 86). Los bolos B1 y B2 se aplicaron en gulfos de < 1 mes de edad, usando los restantes a partir de esa edad y >90 kg PV. Los bolos B5 fueron aplicados exclusivamente en adultos. Los crotales perdidos no fueron sustituidos, controlándose su retención al final del experimento. Para la lectura de los bolos se utilizó un Gesreader 3S (Datamars) con antena bastón a diferentes tiempos post-aplicación (1, 7, 14, 30, 45, 60, 90, 180, 360 y 720 d) durante 2 años.

**Exp.3 (Arabia Saudí):** Se utilizaron 90 dromedarios de razas Maghatir (blanca, n = 37) y Majahim (negra, n = 53) de las explotaciones Al Watanía (Al Jouf, Arabia Saudí; n = 40) y Camel and Rangeland Research Center (Al Jouf, n = 50), de edades comprendidas entre 1-15 años, destinados al ordeño y mantenidos en condiciones de semi-estabulación, que se identificaron con bolos tipo B4 de material pesado ( $GE > 3$ ). Los bolos fueron leídos mediante un Gesreader 3S (Datamars) con antena de bastón a 1, 30, 90, 180 y 270 d.

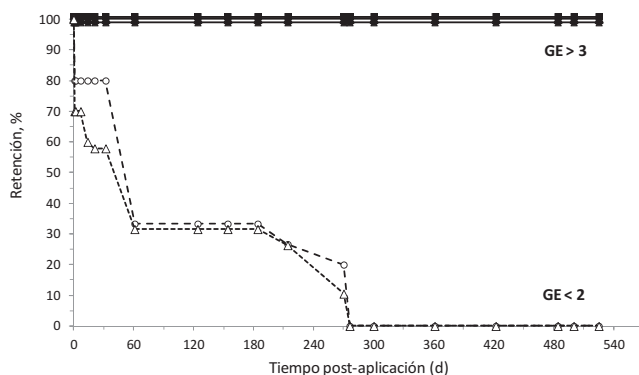
Todas las aplicaciones se realizaron en invierno-primavera por personal previamente entrenado. Los datos de ID electrónica se descargaron a un PC utilizando el programa Rumisoft (Datamars). Los resultados de retención de dispositivos se analizaron mediante el PROC CATMOD de SAS v.9.1, utilizando un modelo Logit con un método de estimación de máxima verosimilitud. Las diferencias entre medias se declaran significativas a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Marcas al fuego:** El 18% de los dromedarios de la Exp.1 mostró signos de problemas de cicatrización de las marcas, con formación de queloide que desfiguraba los dígitos. Por otro lado, la lectura de las marcas en el invierno necesitó el esquileo del muslo y sólo un 38% de los dígitos marcados pudieron leerse correctamente, lo que disuadió de su utilización.

**Crotales visuales:** Los valores de retención de los crotales rectangulares utilizados en la Exp.1 fueron del 66,0%, con un valor medio anual de pérdidas durante el primer año de aproximadamente 20%. En la Exp.2 la retención fue del 81,1%, superior a la anterior ( $P < 0.05$ ), aunque debe destacarse que en este caso los crotales fueron de tipo botón y sólo se aplicaron a animales adultos. Las pérdidas de crotales se asociaron a roturas de la oreja, especialmente pequeña y fina en los dromedarios, o a problemas de cicatrización y mordeduras entre animales. Por otro lado, se encontraron dificultades de lectura de los crotales, dada la elevación de la oreja respecto al suelo y la longitud y movilidad del cuello.

**Bolos electrónicos:** No se presentaron bajas o accidentes durante la aplicación de los bolos en ninguna de las experiencias, tanto en animales adultos como jóvenes. En la Exp.2 no se encontraron problemas en la aplicación de B1 en la primera semana de vida, aunque 2 gulfos de aproximadamente 70 kg PV sufrieron una obstrucción con B4 y necesitaron la ayuda de una sonda esofágica para facilitar el paso de los bolos a través del hiato diafragmático. Tampoco se detectaron diferencias de comportamiento alimenticio o producciones tras la aplicación de los bolos en los animales en crecimiento y en ordeño. La retención de los bolos varió marcadamente según la GE (**Figura 1**), tal como se ha descrito en bovino (Ghirardi et al., 2006a), ovino (Ghirardi et al., 2006b) y caprino (Carné et al., 2011)



**Figura 1.** Retención de bolos en dromedarios según tipo y gravedad específica: Ligeros (GE <2: △, B1; ○, B4) y Pesados (GE > 3: ▲, B1; ●, B2; ■, B4).

Los bolos fabricados con materiales pesados se retuvieron al 100%, independientemente de su volumen y peso (12-75 g). Por el contrario, los bolos fabricados con materiales ligeros fueron perdidos tempranamente, no se detectándose ninguno a más de 8 meses (Figura 1). La falta de relación entre el tamaño del bolo y su retención, permitió la aplicación de bolos de materiales pesados a edades tempranas, tal como se realizó en la Exp.2 a partir de la primera semana de edad (B1) o de un peso >70 kg (B2 y B3), aunque los 2 casos de bloqueo esofágico recomendaron postponer la aplicación a los >90 d y >90 kg PV. Únicamente se detectaron 3 bolos perdidos durante la Exp.2 (2 B1 y 1 B3) que fueron reaplicados al final del experimento, resultando una retención media del 99,0% en los 2 años experimentales. Las mayores retenciones se obtuvieron con bolos de mayor tamaño (B4 y B5, 100%;  $P > 0,05$ ), que resultaron mas altas ( $P < 0,05$ ) que en los pequeños (B1, 96,2; B3, 96,4;  $P > 0,05$ ). Los resultados se confirmaron en Exp.3, en la que no hubo pérdidas de B4 (100% retención), aunque su lectura no resultó posible en 5 hembras a final de gestación. En consecuencia, se recomienda el uso de bolos electrónicos, para la ID de dromedarios.

**Agradecimientos:** Agencia Española de Cooperación y Desarrollo (PCI A/025331/09), Museo del Campo Mayorero y Deanship of Scientific Research de la King Saud University.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrawal, R. P., Jain., S., Shah, S., Chopra, A. & Agarwal, V. 2011. *Europ. J. Clin. Nutr.* 65:1048–1052.
- Caja, G., Conill, C., Nehring, R. & Ribó, O. 1999. *Comput. Electron. Agric.* 24:45–63.
- Carné, S., Caja, G., Ghirardi, J. J. & Salama, A. A. K. 2011. *J. Dairy Sci.* 94:716–726.
- Ghirardi, J. J., Caja, G., Garín, D., Casellas, J. & Hernández-Jover, M. 2006a. *J. Animal Sci.* 84:2260–2268.
- Ghirardi, J. J., Caja G., Garín D., Hernández-Jover M., Ribó O. & Casellas, J. 2006b. *J. Animal Sci.* 84:2865–2872.
- Salama, O. H., Caja, G., El-Sayed, H., El-Shafei, M. H., Salama, A. A. K. & Ayadi, M. 2012. *Proc. 3<sup>rd</sup> ISOCARD, Muscat, Oman.*

#### CAMEL IDENTIFICATION BY BRANDING, EAR TAGS AND ELECTRONIC BOLUSES

**ABSTRACT:** A total of 487 dromedaries from Egypt, Spain and Saudi Arabia were used for comparing the retention and readability of iron brands, plastic ear tags and different type of electronic boluses (low and high specific gravity) at mid-term and under different conditions. Only 38% branding marks were fully readable and 66-81% ear tags were retained. Bolus retention varied dramatically according to their specific gravity and materials >3 should be used for achieving high retention rates. Under practical conditions >99% retention can be obtained in dromedaries applying boluses of high specific gravity after 90 d or 90 kg BW.

**Key words:** camel identification, ear tag, branding, bolus, radiofrequency, transponder.



## IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE TRAZABILIDAD PARA LA CADENA PORCINA BASADO EN CROTALES ELECTRÓNICOS Y MARCADORES MOLECULARES

Grassi, P.<sup>1</sup>, Caja, G.<sup>1</sup>, Mocket, J.H.<sup>1</sup>, Costa, A.<sup>1</sup>, Soler, J.<sup>2</sup>, Gispert, M.<sup>2</sup>, Tibau, J.<sup>2</sup>, Rojas-Olivares, M.A.<sup>1</sup> y Sánchez, A.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Monells, Girona. [gerardo.caja@uab.es](mailto:gerardo.caja@uab.es)

### INTRODUCCIÓN

La trazabilidad es un elemento fundamental para la protección de la salud humana y animal (Cheek, 2006) que tiene especial importancia en el caso de la cadena de producción porcina. Los esquemas de trazabilidad necesitan usar dispositivos de identificación (ID) que sean permanentes y fiables, que permitan el manejo automatizado de la información, así como de su custodia y verificación.

La cadena porcina, dadas sus características especiales, tiene muchas dificultades para mantener la ID individual de los cerdos hasta el final, por lo que actualmente utiliza, con resultados diversos, la trazabilidad en lote mediante tatuajes y crotales. Como alternativa, Hernández-Jover (2006) y Caja et al. (2008) utilizaron la ID electrónica (transpondedores intraperitoneales) y marcadores genéticos (microsatélites) para implementar la trazabilidad individual en porcino, con resultados satisfactorios (95.1%). Sin embargo, la evolución tecnológica de los crotales electrónicos ha permitido mejorar sus resultados en condiciones de granja (Babot et al., 2006) y matadero (Santamarina et al., 2007), lo que resulta preferible para la industria porcina.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el uso de crotales electrónicos de distintas tecnologías ISO (full-duplex B, **FDX-B**; half-duplex, **HDX**), junto con el de microsatélites de ADN, para la implementación de un sistema de trazabilidad para la industria porcina.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron 3 experiencias con un total de 1.540 cerdos para comparar los resultados, en condiciones de granja y matadero, de 3 tipos de crotales electrónicos de doble botón plástico disponibles en el mercado. Los crotales correspondieron a:

- **EF1** (FDX-B; 2,6 g, 23,2 × 12,2 mm; Combi E23, OS ID, Østerdalen, Noruega).
- **EF2** (FDX-B; 4,2 g, 27,9 × 13,5 mm; EI3002ID, Felixcán, Albacete, España).
- **EH** (HDX; 4,4 g, 27,3 × 12,5 mm; HP, Allflex Europe, Vitré, Francia).

**Exp. 1:** Se identificaron al nacimiento con crotales EF1 un total de 1.033 lechones cruzados de ambos sexos. La cría y engorde se realizaron en condiciones comerciales hasta los 100 kg de peso vivo (**PV**) y los cerdos se sacrificaron en un matadero comercial situado a 20 km de distancia. El transporte se realizó en camiones especializados.

**Exp. 2:** Un lote de 133 lechones similares a los de la Exp.1, recién destetados (28 d) se desplazaron a la granja experimental del IRTA (Monells, Girona), donde fueron identificados con crotales EH. El sacrificio se realizó a 100 kg PV en el propio matadero de IRTA (<1 km).

**Exp. 3:** Un lote de 374 lechones destetados (28 d), similares a los de las Exp. 1 y 2, fueron identificados con 3 tipos de crotales (EF1, n = 151; EF2, n = 140; EH, n = 162). De ellos, 79 cerdos se identificaron con 2 crotales. Los cerdos se engordaron hasta 100 kg PV en la granja y condiciones de la Exp.1 y se sacrificaron en 3 mataderos comerciales (40-70 km).

Para auditar la trazabilidad, se tomaron 183 biopsias de tejido de la oreja en una muestra aleatoria de lechones en el momento de identificación en granja, usando crotales TypiFix (Hilgertshausen-Tandern, Dachau, Alemania) y se guardaron a temperatura ambiente. Por otro lado, en matadero, se tomaron 97 muestras de canales que se guardaron en tubos Eppendorf Safe-Lock de 1,5 ml (Ibérica, Madrid, España) que se congelaron. Las muestras se utilizaron para auditar el sistema de trazabilidad mediante el análisis (SVGM, Servei Veterinari de Genètica Molecular de la UAB) de un panel de 12 microsatélites de ADN, escogidos por su informatividad (ISAG, 2012). Los datos de ID electrónica se descargaron a PCs utilizando programas específicos de los lectores utilizados. Los resultados de retención de dispositivos se analizaron mediante el PROC CATMOD de SAS v.9.1, utilizando un modelo Logit con un método de estimación de máxima verosimilitud. Las diferencias entre medias se declaran significativas a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de trazabilidad en condiciones de granja, transporte y matadero se han resumido en la **Tabla 1**. Las pérdidas en granja con los EF1 aplicados al nacimiento en la Exp. 1, superaron los valores señalados por Babot et al. (2006), así como el mínimo requerido por ICAR para su uso oficial (>98%). Consecuentemente las pérdidas en la línea de matanza fueron muy elevadas, superiores a las indicadas por Santamarina et al. (2007), lo que supuso una trazabilidad global <53% y desaconsejó el uso de los EF1 a efectos de trazabilidad porcina.

Por el contrario, los datos de la Exp. 2 con EH, correspondiente a condiciones experimentales, fueron satisfactorios alcanzando el mayor valor de trazabilidad global (97,7%) de los 3 experimentos (Tabla 1).

La comparación de la trazabilidad global de los 3 tipos de crotales en la Exp. 3 varió entre 64,4-92,1% según el tipo de crotal (Tabla 1,  $P < 0,05$ ) y tecnología (FDX-B < HDX; 67,8 vs. 92,1%, respectivamente;  $P < 0,001$ ), confirmando los resultados de la Exp. 1 y 2, aunque los valores EF1 y EF2 (misma tecnología FDX-B) no difirieron entre sí ( $P = 0,429$ ).

A lo largo de las 3 experiencias, los valores de pérdidas y fallos electrónicos obtenidos en granja (1,5-7,5%) fueron superiores a los publicados por Huiskes et al. (2000; 0,16%), Babot et al. (2006; 1,7-2,7%) y Burose et al. (2009; 2,6%), para diferentes tipos de crotales en cerdos de engorde y en granjas intensivas. Durante el transporte, las pérdidas se situaron en un rango amplio (0-5,3%), que incluyó los valores previamente señalados por Babot et al. (2006; 1,3-1,4 %), Hernández-Jover (2006; 0,7-2,0%) y Gosálvez et al. (2007; 0%). En matadero, las pérdidas de crotales FDX-B fueron superiores a los publicados por Gosálvez et al. (2007) y Santamarina et al. (2007). Estos resultados ponen de manifiesto que los crotales utilizados, a excepción de EH, no mostraron las esperadas mejoras tecnológicas.

**Tabla 1.** Resultados de la trazabilidad de cerdos de engorde según el tipo de crotal electrónico (EF, full-duplex B; EH, half-duplex) y condiciones experimentales utilizadas

Ítem	Exp.1		Exp.2		Exp.3	
	EF1	EH	EF1	EF2	EH	
<b>En granja</b>						
Destetados, n	933	133	151	140	162	
Vendidos, n (%)	171 (18,3)	0	30 (19,9)	33 (23,6)	44 (27,2)	
Mortalidad, n (%)	43 (4,6)	2 (1,5)	2 (1,3)	0	4 (2,5)	
Controlados, n [1]	719	131	119	107	114	
Fallos electrónicos, n (%)	–	–	6 (5,0)	6 (5,6)	1 (0,9)	
Perdidos, n (%)	45 (6,3)	2 (1,5)	0 (0,0)	2 (1,9)	1 (0,9)	
Leíbles, n (%) [2]	674 (93,7)	129 (98,5)	113 (95,0)	99 (92,5)	112 (98,2)	
<b>Transporte</b>						
Inicio, n [3]	674	129	113	99	112	
Fallos electrónicos, n (%)	–	–	4 (3,5)	3 (3,0)	1 (0,9)	
Perdidos, n (%)	20 (3,0)	0	2 (1,8)	2 (2,0)	1 (0,9)	
Leíbles, n (%) [4]	654 (97,0)	129 (100)	107 (94,7)	94 (94,9)	110 (98,2)	
<b>Matadero</b>						
Inicio, n (%) [5]	654	129	107	94	110	
No controlados, n (%)	3 (0,5)	0	12 (0,1)	20 (0,2)	22 (0,2)	
Controlados, n (%)	651	129	95	74	88	
Fallos electrónicos, n (%)	–	–	6 (6,3)	4 (5,4)	0	
Perdidos, n (%)	273 (41,9)	1 (0,8)	21 (22,1)	10 (13,5)	4 (4,5)	
Leíbles, n (%) [6]	378 (58,1)	128 (99,2)	68 (71,6)	60 (81,1)	84 (95,5)	
<b>Trazabilidad, %</b>						
En granja [2/1]	93,7 <sup>a</sup>	98,5 <sup>b</sup>	95,0 <sup>ab</sup>	92,5 <sup>a</sup>	98,2 <sup>b</sup>	
Transporte [4/3]	97,0 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>	94,7 <sup>c</sup>	94,9 <sup>d</sup>	98,2 <sup>e</sup>	
Matadero [6/5]	58,1 <sup>a</sup>	99,2 <sup>b</sup>	71,6 <sup>c</sup>	81,1 <sup>c</sup>	95,5 <sup>b</sup>	
Global [6/5×2/1×4/3]	52,8 <sup>a</sup>	97,7 <sup>b</sup>	64,4 <sup>ac</sup>	71,2 <sup>c</sup>	92,1 <sup>d</sup>	

<sup>a,b,...,d</sup> Letras distintas en la misma línea indican diferencias a  $P < 0,05$ .

**Tabla 2.** Muestras biológicas recogidas y analizadas para la auditoría de trazabilidad

Ítem	Tejido	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Total
Muestras recogidas					
En granja, n	Oreja	30	56	97	183
En matadero, n	Canal	18	56	23	97
Muestras analizadas, n [1]		18	56	21	95
Fallos de amplificación, n [2]		1	0	1	2
No coincidentes, n		2	1	2	5
Coincidentes, n [3]		15	55	18	88
Coincidencia de muestras,% [3/(1 2)]		88,2 <sup>a</sup>	98,2 <sup>b</sup>	90,0 <sup>a</sup>	94,6
Cumplimiento, % [3/1]		83,3 <sup>a</sup>	98,2 <sup>b</sup>	85,7 <sup>a</sup>	92,6

<sup>a,b</sup> Letras distintas en la misma línea indican diferencias a  $P < 0.05$ .

Los resultados de auditoría mediante el análisis de microsátélites de ADN se ha resumido en la **Tabla 2**. Aunque 2 muestras (1,1%) no amplificaron, el valor medio de coincidencia en las muestras amplificadas fue del 94,6% (88,2-98,2%), ligeramente inferior al obtenido por Hernández-Jover (2006; 96%) con transpondedores intraperitoneales.

En conclusión, los resultados de trazabilidad global obtenidos en nuestros experimentos desde la granja hasta la canal, mostraron una gran variación (52,8-97,7%) según el tipo de crotales utilizados, condiciones de producción y de sacrificio. Las pérdidas y fallos electrónicos durante el sacrificio se identificaron como la causa más importante de pérdida de la trazabilidad desde la granja hasta la canal. Al comparar las tecnologías, los crotales HDX mostraron menos fallos electrónicos que los FDX-B, resultando así más eficaces en el proceso de trazabilidad. Finalmente, a efectos de implementación práctica, todo parece indicar que pueden lograrse valores de trazabilidad >98% en granja y >95% en matadero si se utilizan crotales bien diseñados, lo que permitiría un >93% trazabilidad individual global.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Babot, D., Hernández-Jover, M., Caja, G., Santamarina, C. & Ghirardi, J. J. 2006. *J. Anim. Sci.* 84:2575-2581.
- Burose, F., Jungbluth, T. & Zähler, M. 2009. Precision Livestock Farming. Wageningen, Holanda.
- Caja, G. (coordinador) et al. 2008. Project QLk1-2001-02229. Final Report. European Commission.
- Cheek, P. 2006. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.* 25:313-319.
- Gosálvez, L. F., Santamarina, C., Averós, X., Hernández-Jover, M., Caja, G. & Babot, D. 2007. *J. Anim. Sci.* 85:2746-2752.
- Hernández-Jover, M. 2006. PhD Thesis. Univ. Autónoma de Barcelona, Bellaterra.
- Huiskes, J. H., Binnendijk, G. P. & Diepstraten H. J. A. 2000. *Praktijkonderzoek Varkenshouderij*, Rosmalen, Holanda.
- ISAG. 2012. Guidelines. Comparison Test. ISAG species panels 2003. <http://www.isag.us/comptest.asp>.
- Santamarina, C., Hernández-Jover, M., Babot, D. & Caja, G. 2007. *J. Anim. Sci.* 85:497-502.

**Agradecimientos:** Gepork (Roda de Ter, Barcelona), Escorxador d'Avinyó, Escorxador Le Porc Gourmet, Escorxador de la Garrotxa, Escorxador Comarcal del Moianès y a David Gallardo (SVGM de la UAB) por los análisis de ADN.

### IMPLEMENTING A TRACEABILITY SYSTEM FOR THE PIG CHAIN BASED ON ELECTRONIC EAR TAGS AND MOLECULAR MARKERS

**ABSTRACT:** A total of 1,540 pigs were used in 3 experiments to study an individual traceability system based on electronic ear tags (3 types of full-duplex and half-duplex transponders) and genotyping (ear and carcass samples). Results of overall traceability, from farm to carcass, varied between 52.8 and 97.7%, with marked differences by ear tag type and experimental conditions. Auditing by microsattellites showed 83.3 to 98.2% ear and meat sample matching. In conclusion, the use of well designed half-duplex ear tags allowed obtaining >93% traceability, from farm to carcass and under commercial conditions, in the pig chain. Use of microsattellites allowed 95% confirmation of meat identity.

**Keywords:** traceability, electronic identification, transponder, electronic ear tag

## CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS Y RESULTADOS DE LECTURA DE DISTINTOS TIPOS DE CROTALES ELECTRÓNICOS UTILIZADOS EN IDENTIFICACIÓN ANIMAL

Grassi, P.<sup>1</sup>, Caja, G.<sup>1</sup>, Mocket, J.H.<sup>1</sup>, Xuriguera, H.<sup>2</sup>, González-Martín, S.<sup>2</sup>, Soler, J.<sup>3</sup>, Gispert, M.<sup>3</sup> y Tibau, J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

<sup>2</sup>DIOPMA, Universitat de Barcelona, Barcelona. <sup>3</sup>Institut de Recerca i Tecnologia

Agroalimentàries, Monells, Girona<sup>3</sup>. [gerardo.caja@uab.es](mailto:gerardo.caja@uab.es)

### INTRODUCCION

La rápida evolución tecnología de los dispositivos y equipos de radio frecuencia utilizados en identificación animal (Caja et al., 1997; Ruiz-García y Lunadei, 2010) y la generalización de su uso en muy diversas aplicaciones, necesita de la valoración de sus prestaciones técnicas para garantizar el 98% de eficacia de lectura recomendado por ICAR (2011) para su uso como dispositivos oficiales. No obstante, aunque existen pocos estudios publicados, Bryant et al. (2006) y Ryan et al. (2010) han señalado que ésta cifra no se alcanza en la práctica ganadera, para muchos dispositivos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar las características físicas y las distancias de lectura estática, en condiciones de laboratorio de referencia, de distintos tipos de crotales electrónicos que utilizan las dos tecnologías reconocidas por ISO (FDX-B, full-duplex B; HDX, half-duplex), y que se encuentran disponibles en el mercado español para su uso en animales.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Crotales electrónicos:** Se utilizaron 10 ejemplares de 5 tipos de crotales electrónicos de baja frecuencia y forma de botón, procedentes de partidas de fabricación diferentes y tomados al azar entre los utilizados en 3 experiencias de campo realizadas con ganado porcino (Grassi et al., 2013) y en los que el transpondedor se situó en la pieza hembra. Sus características nominales (tecnología de la interfase; peso, diámetro × altura de la cabeza; modelo, fabricante y país) fueron:

- **EF1.1** y **EF1.2** (FDX-B; 2,6 g, 23,2 × 12,2 mm; Combi E23, OS ID, Østerdalen, Noruega).
- **EF2.0** (FDX-B, 4,2 g, 27,9 × 13,5 mm; EI3002ID, Felixcán, Albacete, España).
- **EH1.1** y **EH1.2** (HDX; 4,4 g, 27,3 × 12,5 mm; HP, Allflex Europe, Vitré, Francia).

Las piezas macho utilizadas para cerrar los EF fueron iguales (2,1 g, pin de 24 mm y punta de latón; Felixcan) y similares a las de EH (1,9 g, pin de 25,5 mm y punta de latón; Allflex), lo que se realizó con una tenaza universal (Total tagger, Allflex Europe). Los transpondedores operaron 134,2 kHz de acuerdo con los estándares ISO 11784 y 11785. Los números de serie de los transpondedores incluía el código animal (1, traducido como A) y el código ICAR (2012) del fabricante (EF, 941 = Felixcan; EH, 982 = Allflex).

#### Ensayos de laboratorio:

**Dimensiones de las piezas hembras.** Se pesaron en una balanza de laboratorio (precisión, ± 0,01 g; BP3100P, Sartorius, Göttingen, Alemania) y midieron (diámetro exterior, altura del botón) con un pie de rey electrónico (precisión, ± 0,03 mm; Shaodong Feiyue Hardware Tools Factory, Yiwu, China).

**Fuerza de separación de los crotales cerrados.** Determinada mediante un test de tensión hasta la rotura con una máquina de prueba universal controlada por ordenador (PCM Mecmesin, Versatest load cell 2,5 Newtons; Mecmesin, West Sussex, Reino Unido).

**Distancias y mapas de lectura.** Las medidas se realizaron en una cámara Faraday (4 × 6,2 × 3,6 m; ETS Lindgren-Euroshield Oy, Eura, Finlandia), con la finalidad de reducir las interferencias electromagnéticas ambientales. Se midieron las distancias máximas y mínimas de lectura (desde el centro de la antena del transceptor hasta el centro del crotal), en condiciones de lectura estática y con orientaciones complementarias (favorable, en paralelo; desfavorable, perpendicular). Para ello se utilizaron 5 transceptores de mano, calibrados con transpondedores HDX y FDX-B de referencia, correspondientes a: 1) Gesreader Ges2S (Rumitag, Esplugues de Llobregat, Barcelona), 2) Gesreader Smart (Rumitag), 3) Mini Max (Datamars, Bedano, Suiza), 4) iMax Plus (Datamars), y 5) Psion Teklogix Workabout Pro3 (Psion España, Sant Cugat del Vallés, Barcelona). Para cada tipo

de crotal, se seleccionó el que daba mayores distancias de lectura, y se realizó un mapa de campo de lectura en 19 orientaciones radiales (0 a 180°, con 10° de intervalo). Los valores de fuerza de separación y distancias de lectura se analizaron mediante el PROC GLM de SAS v.9.1 y las diferencias se establecieron a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de medidas de los transpondedores se aproximaron a los valores nominales indicados por los fabricantes, con diferencias de escasa relevancia, pudiendo clasificarse como ligeros ( $< 3$  g: EF1.1 y EF1.2) o pesados ( $> 4$  g: EF2.0, EH1.1 y EH1.2), lo que puede tener efectos en su retención en animales jóvenes. Sin embargo, las fuerzas de separación de las piezas macho-hembra fueron semejantes en EF1.1 y EH1.1 ( $P > 0,05$ ) e inferiores al resto ( $P < 0,05$ ) y respecto al mínimo de 280 N exigido por ICAR (2011) para crotales oficiales, tal como se muestra en la **Tabla 1**. Las mayores fuerzas de separación se observaron en EF2.0 y EH1.2, que fueron semejantes entre ellos ( $P > 0,05$ ). Santamarina et al. (2007) y Carné et al. (2009) obtuvieron valores de fuerza de separación, en crotales de dimensiones parecidas a los usados en nuestro caso, entre los 296 y 307 N.

Los resultados de distancias de lectura para cada uno de los transeptores utilizados se han resumido en la Tabla 1. Debe señalarse que el MiniMax es un lector no-ISO y sólo está diseñado para la lectura de transpondedores FDX-B.

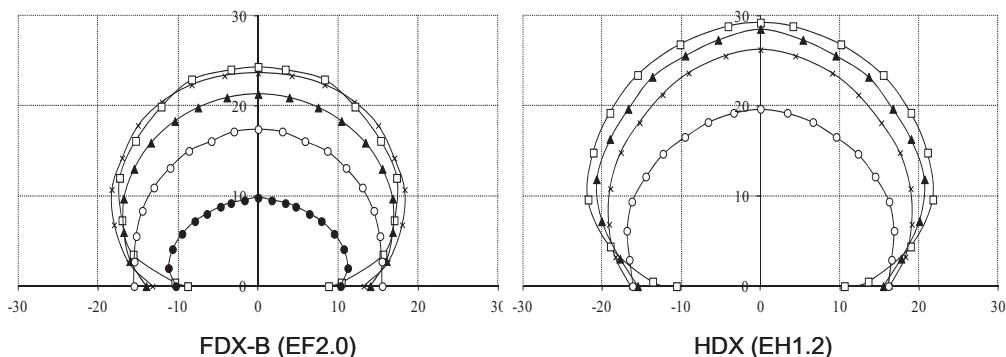
Como puede observarse en la Tabla 1, se obtuvieron grandes diferencias en la distancia de lectura según la tipo de crotal, tecnología y orientación respecto a la antena del transeptor. La orientación del crotal en posición paralela a la antena del transeptor, fue la mas favorable en todos los casos, variando entre 9,4 y 27,6 cm. Por el contrario, al orientar las antenas del transeptor y el crotal perpendicularmente, las distancias de lectura disminuyeron a aproximadamente la mitad, variando entre 4,4 y 14,4 cm. La legislación actual (CEE 933/2008, RD 1486/2009), requiere una distancia mínima de lectura  $> 12$  cm, lo que se cumplió en todos los casos, excepto para la combinación EF1.1 con Mini Max.

Las mayores distancias de lectura en la orientación favorable ( $P < 0,05$ ) se obtuvieron con IMax Plus y Gesreader Smart. Por el contrario, las menores distancias de lectura en la orientación desfavorable fueron más uniformes entre transeptores y dependientes de la tecnología, resultando mayores en el caso de HDX vs. FDX-B ( $P < 0,05$ ). En la **Figura 1** se han representado los mapas de lectura de los mejores crotales HDX vs. FDX-B.

**Tabla 1.** Distancias de lectura de crotales electrónicos con diferentes transeptores en condiciones estáticas y fuerzas de separación de las piezas macho-hembra

Tipo de transeptor y orientación de la antena	Tipo de crotal electrónico (Tecnología)				
	EF1.1 (FDX-B)	EF1.2 (FDX-B)	EF2.0 (FDX-B)	EH1.1 (HDX)	EH1.2 (HDX)
Distancias (mm):					
iMax Plus <sup>7</sup>					
Favorable	20,7 ± 0,1 <sup>aj</sup>	20,5 ± 0,3 <sup>aj</sup>	23,8 ± 0,2 <sup>bj</sup>	26,4 ± 0,2 <sup>cj</sup>	27,3 ± 0,2 <sup>cj</sup>
Desfavorable	5,0 ± 0,3 <sup>ajk</sup>	4,7 ± 0,4 <sup>ak</sup>	6,6 ± 0,2 <sup>ajk</sup>	14,4 ± 0,4 <sup>cj</sup>	8,4 ± 0,3 <sup>bj</sup>
Gesreader Smart <sup>8</sup>					
Favorable	20,8 ± 0,1 <sup>aj</sup>	22,2 ± 0,2 <sup>aj</sup>	24,1 ± 0,1 <sup>bj</sup>	27,6 ± 0,4 <sup>cj</sup>	27,3 ± 0,2 <sup>cj</sup>
Desfavorable	6,0 ± 0,2 <sup>aj</sup>	5,2 ± 0,3 <sup>ak</sup>	7,0 ± 0,5 <sup>bj</sup>	9,2 ± 0,6 <sup>cl</sup>	8,9 ± 0,3 <sup>cj</sup>
Gesreader Ges2S <sup>9</sup>					
Favorable	17,2 ± 0,2 <sup>ak</sup>	16,2 ± 0,7 <sup>ak</sup>	19,3 ± 0,1 <sup>bk</sup>	26,5 ± 0,2 <sup>dj</sup>	25,2 ± 0,3 <sup>ck</sup>
Desfavorable	5,5 ± 0,6 <sup>aj</sup>	5,4 ± 0,6 <sup>ak</sup>	5,0 ± 0,3 <sup>al</sup>	10,8 ± 0,4 <sup>ck</sup>	8,0 ± 0,5 <sup>bj</sup>
Mini Max <sup>10</sup>					
Favorable	9,4 ± 0,4 <sup>am</sup>	10,3 ± 0,1 <sup>am</sup>	10,7 ± 0,2 <sup>al</sup>	No leíble	No leíble
Desfavorable	4,4 ± 0,6 <sup>ak</sup>	5,0 ± 0,3 <sup>ak</sup>	5,8 ± 0,4 <sup>akl</sup>	-	-
Psion Workabout					
Favorable	15,0 ± 0,3 <sup>al</sup>	14,3 ± 1,1 <sup>al</sup>	17,8 ± 0,1 <sup>bk</sup>	19,5 ± 0,3 <sup>ck</sup>	18,8 ± 0,2 <sup>bl</sup>
Desfavorable	5,8 ± 0,2 <sup>aj</sup>	6,5 ± 0,5 <sup>aj</sup>	7,5 ± 0,2 <sup>bj</sup>	7,7 ± 0,3 <sup>bm</sup>	8,8 ± 0,2 <sup>bj</sup>
Fuerza (Newtons)	274 ± 6 <sup>a</sup>	307 ± 6 <sup>c</sup>	292 ± 4 <sup>b</sup>	279 ± 2 <sup>a</sup>	317 ± 4 <sup>c</sup>

<sup>a,b,...d</sup> Letras distintas en la misma línea indican diferencias a  $P < 0,05$ . <sup>j,k,...m</sup> Letras distintas en la misma columna y orientación de la antena indican diferencias a  $P < 0,05$ .



**Figura 1.** Mapas de lectura (cm) de crotales full-duplex B y half-duplex según el transceptor utilizado (×, iMax Plus, Datamars; ●, Mini Max, Datamars; □, Gesreader Smart, Rumitag; ▲, Gesreader Ges2S, Rumitag; ○, Psion Workabout, Psion España). Sólo se ha representado la mitad del campo de lectura.

No se encontraron áreas o puntos ciegos en los diagramas obtenidos, mostrando una uniformidad en la lectura de ambas tecnologías y la superioridad de HDX vs. FDX-B.

En conclusión se destacan las diferencias en la fuerza la separación de las piezas macho-hembra de los crotales, haciendo hincapié en la importancia del diseño del crotal y de su control de calidad, ya que puede ser un punto clave en relación a las pérdidas de identificadores en la práctica. En cuanto a los resultados de lectura, realizados en las mismas condiciones de referencia y sin interferencias, aunque se evidenció una importante interacción transpondedor × transceptor, se recomienda el uso de la tecnología HDX vs. por presentar valores superiores y mas uniformes de lectura que la FDX-B con los transceptores utilizados.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bryant, A. M., Blasi, D. A., Barnhardt, B. B., Epp, M. P. & Glaenger, S. J. 2006. *Beef Cattle Research, Report No. 959. Kansas State Univ., Manhattan, KY. pp. 33–37.*
- Caja, G., Barillet, F., Nehring, R., Marie, C., Conill, C., Ricard, E., Ribó, O., Lagriffoul, G., Peris, S., Aurel, M. R., Solanes, D. & Jacquin, M. 1997. *Options Méditerran. 33:43–58.*
- Carné, S., Gipson, T. A., Rovai, M., Merkel, R. C. & Caja, G. 2009. *J. Anim. Sci. 87:2419–2427.*
- ICAR. 2011. *International Agreement of Recording Practices: Guidelines, June 2010. Rome, Italy.*
- ICAR. 2012. *Animal Identification, [http://www.icar.org/pages/manufacturer\\_codes.htm](http://www.icar.org/pages/manufacturer_codes.htm).*
- Ruiz-García, L. & Lunadei, L. 2011. *Comput. Electron. Agric. 79:42–50.*
- Ryan, S. E., Blasi, D. A., Anglin, C. O., Bryant, A. M., Rickard, B. A., Anderson, M. P. & Fike, K. E. 2010. *J. Anim. Sci. 88:2514–2522.*

**Agradecimientos:** Proyecto MCINN AGL-2007-64541 del Plan Nacional I+D+i, Datamars (Bedano, Suiza) y Psion España (Sant Cugat, Barcelona, España) por la cesión de material de lectura y Adel Ait-Saidi (UAB) por el soporte técnico.

### TECHNICAL FEATURES AND READING PERFORMANCES OF DIFFERENT TYPES OF ELECTRONIC EAR TAGS USED FOR ANIMAL IDENTIFICATION

**ABSTRACT:** The dimensions and performances de 5 types of electronic ear tags used for pig identification were evaluated with 5 types of transceivers under static laboratory conditions. Obtained results showed insufficient opening resistance in 2 ear tags and marked differences in reading performances (4.4 to 27.6 cm) according to ear tag type, transceiver type used and orientation of their antennas. Half-duplex transponders showed greater reading performances than half-duplex B transponders for the transceivers used.

**Keywords:** electronic identification, transponder, transceiver, performance, reading.

## EFICACIA DE LECTURA DINÁMICA DE TRANSPONDEDORES DE DISTINTAS TECNOLOGÍAS EN GANADO OVINO EN CONDICIONES DE GRANJA

Ait-Saidi, A., Caja, G. y Mocket, J. H.

Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. E-mail: [gerardo.caja@uab.es](mailto:gerardo.caja@uab.es)

### INTRODUCCIÓN

La identificación electrónica (**e-ID**) de pequeños rumiantes mediante dispositivos de radiofrecuencia es un requisito obligatorio en la legislación europea (CE 21/2004, 933/2008 y 759/2009) y española (RD 947/2005 y 1486/2009). Su objetivo es facilitar la realización del inventario de los rebaños y permitir registrar individualmente los movimientos de los animales, lo que es obligatorio desde el inicio de 2011.

Por otro lado, la e-ID permite al ganadero conseguir beneficios adicionales a través de la automatización del manejo (p. ej., puertas de selección) y el control de producciones (p. ej., control lechero, pesos, etc...) para la gestión y mejora ganadera. Para ello resulta imprescindible la lectura de los dispositivos e-ID en condiciones dinámicas, lo que no siempre se consigue con los equipos disponibles en el mercado. En la actualidad se ha autorizado el uso de transpondedores oficiales en forma de bolos, crotales o inyectables de tecnologías ISO (half-duplex, **HDX**; full-duplex, **FDX-B**) que cumplan la norma UNE68402:2005. Sin embargo, aunque la retención de los bolos resulta superior a la de los crotales en ovino (Ghirardi et al., 2006), los resultados de lectura de los dispositivos disponibles en el mercado español no son homogéneos y dependen del lector utilizado, tal como han puesto de manifiesto Eguinoa y Sáez (2006) en ovino y Carné et al. (2010) en caprino. Por otro lado, se desconoce si existen interacciones entre tecnologías para leer dispositivos HDX y FDX-B simultáneamente con los nuevos tipos de lectores optimizados.

El objetivo de este trabajo fue valorar la capacidad de lectura dinámica, en condiciones de manga de manejo en granja, de diferentes tipos de dispositivos de e-ID utilizando 2 lectores fijos en ganado ovino en poblaciones de dispositivos e-ID únicas o mezcladas.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 240 ovejas de 3 razas (Manchega, **MN**; Lacaune, **LC**; Ripollesa, **RI**) y diferentes edades (8-72 meses) de la granja experimental del Servei de Granges i Camps Experimentals (SGCE) de la Universitat Autònoma de Barcelona (Bellaterra).

**Transpondedores:** Las ovejas fueron identificadas con un único dispositivo elegido entre 2 tipos (bolo ruminal y crotal electrónico) y 2 tecnologías (HDX y FDX-B), creando 4 grupos:

- Grupo A (n = 103): ovejas MN y LC con bolos oficiales (20 g y 56 × 11 mm; 75 g y 69 × 21 mm; Rumitag; Esplugues de Llobregat, Barcelona) conteniendo transpondedores HDX de 32 mm.
- Grupo B (n = 33): ovejas MN y LC con bolos experimentales (20 g; Datamars, Bedano, Suiza) conteniendo transpondedores FDX-B de 32 mm.
- Grupo C (n = 27): ovejas MN y LC con crotales e-ID (botón de 28 mm diámetro y transpondedores HDX (Allflex-Azasa, Madrid).
- Grupo D (n = 77): ovejas RI con crotales e-ID (botón de 28 mm diámetro y transpondedores FDX-B (Datamars).

**Transceptores:** Se utilizaron 2 lectores fijos comerciales denominados Lector I y Lector II (Datamars, Bedano, Suiza) optimizados para leer a 125 o 134,2 kHz transpondedores HDX y FDX-B, de acuerdo con las normas ISO 11784 y 11785. Los lectores se conectaron a antenas de tipo marco y dimensiones específicas para cada lector (Lector I, 66 × 86 mm; Lector II, 58 × 108 mm) y se colocaron verticalmente en el lado izquierdo de una manga de manejo de 50 cm de ancho. Por otro lado, los lectores se conectaron en serie (RS232) a un ordenador portátil que registró el número total de lecturas en condiciones dinámicas (**DRN**) de cada uno de los dispositivos de e-ID. Para ello se utilizó un programa desarrollado con Microsoft Visual Basic 6.0 (LicaSoft2F.vbp, J-H. Mocket comunicación personal).

Se realizaron 5 repeticiones de lectura de cada grupo de animales marcados con un tipo de dispositivo (A, B, C y D), o sus mezclas (AB, CD, AC, BD y ABCD), con cada uno de los lectores, totalizando 90 lecturas en un periodo de 60 d. Al inicio y final del experimento se

comprobó el funcionamiento de todos los dispositivos e-ID mediante su lectura estática con un lector de mano (SmartReader, Rumitag) para confirmar su funcionamiento y retención. La eficacia de lectura dinámica (**DRE**) se calculó como: (Nº de dispositivos leídos/Nº de dispositivos presentes) x 100. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el PROC CATMOD de SAS v. 9.2 mediante un modelo Logit con un método de estimación de máxima verosimilitud. Las diferencias entre medias se declaran significativas a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La velocidad de paso de las ovejas en la manga condicionó el número de veces que pudieron leerse los dispositivos de e-ID. En nuestro caso, varió entre 0,5-1,1 m/s (para longitudes estimadas del cuerpo de las ovejas de 0,8 m) y fue, como media, similar en ambos transeptores (0,8 m/s). Conill et al. (2000), Eguinoa y Sáez (2006) y Ghirardi et al. (2006) calcularon velocidades de paso entre 0,8 y 1 oveja/s, lo que resultó similar al valor obtenido en nuestro caso. Los resultados de DRE y DRN se resumen en la **Tabla 1**.

Respecto a las lecturas en grupos de ovejas con un único dispositivo de e-ID, los valores fueron en general elevados (>93%) y no se observaron diferencias entre lectores ( $P > 0,05$ ), excepto para los bolos FDX-B (grupo B) con el Lector I, que fue marcadamente deficiente (25,3%;  $P < 0,01$ ), pero no con el Lector II (97,3%). Estos resultados no pueden ser atribuidos a la tecnología, sino a los propios transpondedores FDX-B contenidos en los bolos que presentan una menor distancia de lectura también en condiciones estáticas (Lector I vs. II, 86 vs. 110 cm). La menor DRE de los bolos FDX-B con el Lector I también se observó al mezclar tecnologías (39,3%) y dispositivos (25,8%). En comparación, las mismas lecturas mezcladas fueron satisfactorias con el Lector II (>95,8%), lo que indica que este lector presentó una capacidad de lectura optimizada para ambas tecnologías.

En el peor escenario, con todos los tipos de dispositivos y las dos tecnologías mezcladas, los bolos FDX-B fueron los menos leídos (56,7%;  $P < 0,01$ ). Sin embargo, la lectura de los crotales FDX-B resultó medianamente satisfactoria (90,3%) y, la de los dispositivos HDX (bolos y crotales), superior al resto y mas elevada (94,5%;  $P < 0,01$ ).

En relación al número de lecturas válidas al paso de las ovejas frente a las antenas, los valores DRN variaron entre 2,1 y 8,2 lecturas/oveja, lo que indica que debe exigirse un valor

**Tabla 1.** Resultados de lecturas dinámicas de distintos tipos de dispositivos y tecnologías e-ID en ganado ovino condiciones de granja

Población de dispositivos a leer	Dispositivo e-ID	Tecnología RFID	Grupo	Transceptor						
				Lector I (antena, 66 × 86 mm)			Lector II (antena, 58 × 108 mm)			
				Ovejas, n	DRE ± ES <sup>1</sup> , % <sup>1</sup>	DRN ± ES <sup>2</sup>	Ovejas, n	DRE ± ES <sup>1</sup> , % <sup>1</sup>	DRN ± ES <sup>2</sup>	
Única (no mezcla)	Bolo	HDX	A	43	100 ± 0	5,4 ± 0,7	43	100 ± 0	8,0 ± 0,2	
		FDX-B	B	30	25,3 ± 3,0	2,1 ± 0,3	30	97,3 ± 3,0	4,0 ± 0,5	
	Crotal	HDX	C	22	92,7 ± 3,4	2,8 ± 0,2	26	93,8 ± 1,1	4,0 ± 0,7	
		FDX-B	D	77	97,2 ± 1,5	2,9 ± 0,2	78	98,1 ± 0,6	3,9 ± 0,5	
Mixta	Mezcla de tecnologías	Bolo	HDX	A	103	100 ± 0	6,6 ± 0,3	99	99,0 ± 1,1	4,9 ± 0,6
			FDX-B	B	30	39,3 ± 3,4	3,1 ± 0,4	33	95,8 ± 1,7	3,3 ± 0,3
		Crotal	HDX	C	27	94,1 ± 1,7	5,8 ± 0,3	27	95,6 ± 0,8	5,9 ± 0,3
			FDX-B	D	26	92,3 ± 2,7	4,4 ± 0,3	26	95,4 ± 3,4	4,6 ± 0,4
	Mezcla de dispositivos	Bolo	HDX	A	27	100 ± 0	7,4 ± 0,2	30	100 ± 0	8,2 ± 0,5
			Crotal	C	26	96,9 ± 2,1	6,5 ± 0,5	26	96,9 ± 2,5	6,9 ± 0,5
		Bolo	FDX-B	B	31	25,8 ± 1,1	3,3 ± 0,4	31	96,8 ± 0,0	4,6 ± 0,6
			Crotal	D	26	98,5 ± 1,7	3,1 ± 0,3	25	96,8 ± 0,9	4,5 ± 0,6
Mezcla de todos	Bolo	HDX	A	15	93,3 ± 0	7,3 ± 0,3	20	94,0 ± 2,1	7,4 ± 0,3	
		FDX-B	B	15	40,0 ± 2,4	4,2 ± 0,2	15	73,3 ± 0	6,3 ± 0,5	
	Crotal	HDX	C	15	98,7 ± 1,5	5,3 ± 0,8	15	92,0 ± 1,5	6,3 ± 0,6	
		FDX-B	D	10	92,0 ± 2,2	4,0 ± 0,5	14	88,6 ± 4,1	4,9 ± 0,2	

<sup>1</sup>: DRE = Eficacia de lectura dinámica = (Nº de dispositivos leídos / Nº de dispositivos presentes) × 100; <sup>2</sup>: DRN = Nº de lecturas efectivas en un pase frente a la antena.



DRN > 2, a una velocidad de paso de aproximadamente 1 m/s, para que los transpondedores sean eficazmente leídos en ganado ovino y caprino. Los valores DRN para cada uno de los dispositivos y tecnologías en poblaciones no mezcladas, mostraron los mayores resultados medios para los dos lectores en los bolos HDX ( $6,7 \pm 0,5$ ;  $P < 0,05$ ). Por el contrario, los menores DRN se obtuvieron para los crotales HDX y los bolos y crotales FDX-B con los dos lectores, que no se diferenciaron entre ellos ( $3,3 \pm 0,4$ ;  $P > 0,05$ ).

En la lectura de las tecnologías por separado, mezclando los bolos y crotales de cada una de ellas, los valores DRN medios para ambos lectores resultaron mayores en HDX vs. FDX-B ( $7,3 \pm 0,5$  vs.  $3,9 \pm 0,5$ ;  $P < 0,001$ ). Finalmente, para la población de todos los dispositivos e-ID mezclados, los mayores valores DRN se obtuvieron con los bolos HDX ( $7,4 \pm 0,3$ ;  $P < 0,001$ ), que además resultaron muy homogéneos, no presentando diferencias entre lectores. A la vista de estos resultados, la tecnología HDX mostró resultados mas elevados de DRE y DRN en todos los casos, pero las diferencias fueron especialmente marcadas cuando se utilizaron bolos. Las diferencias entre tecnologías fueron menores al utilizar crotales e-ID, aunque la superioridad de la HDX frente a la FDX-B se mantuvo al mezclar todos los dispositivos y tecnologías. Los bolos FDX-B no resultarían adecuados con algunos lectores, tanto solos como mezclados, pero sí lo sería utilizar exclusivamente crotales FDX-B.

En la práctica, no se observaron diferencias importantes entre lectores, así como tampoco al utilizar crotales o bolos de una sola tecnología. Los problemas de lectura surgieron en mezclar dispositivos y/o tecnologías, lo que ya se ha presentado en la práctica cuando se utilizan bolos HDX y FDX-B mezclados en salas de ordeño automatizadas de ovejas y cabras. En estos casos, para solucionar el problema de malas lecturas, se recomienda duplicar la e-ID de las ovejas identificadas con bolos FDX-B, añadiendo preferentemente un crotal HDX de numeración no oficial.

**Agradecimientos:** Trabajo realizado en el marco del convenio de investigación Datamars-UAB 2011.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carné, S., Caja, G., Rojas-Olivares, M. A. & Salama, A. A. K. 2010. *J. Dairy Sci.* 93:5157-5166.
- Conill, C., Caja, G., Nehring, R. & Ribó, O. 2000. *J. Anim. Sci.* 78:3001-3009.
- Eguinoa, P. & Sáez, J. L. 2006. *Navarra Agraria* 155:45-48.
- Ghirardi, J. J., Caja, G., Garin, D., Hernández-Jover, M., Ribó, O. & Casellas, J. 2006. *J. Anim. Sci.* 84:2865-2872.

#### DYNAMIC READING EFFICIENCY UNDER FARM CONDITIONS OF TRANSPONDERS OF DIFFERENT TECHNOLOGIES IN SHEEP

**ABSTRACT:** A total of 240 ewes, identified with electronic ear-tags and boluses of half-duplex and full-duplex B technologies, were used for studying the dynamic reading performances under on-farm conditions in sheep. Two optimized stationary transceivers of different features were used in a 50 cm management race-way. Ewes were separated in 4 groups according to identification device type and the dynamic readings performed in quintuplicate in unique or mixed groups. Sheep speed in front of the reader's antenna was 0.8 m/s (0.5-1.1). Reading efficiency varied between 25.3 and 100%, with small differences by reader and dramatic differences between devices. The greatest reading efficiency values were obtained with HDX boluses read single or mixed with HDX ear tags. For mixed readings no differences between HDX boluses and ear tags were found. On the contrary, FDX-B boluses showed the lower reading efficiency when read single or mixed with other devices in the case of one of the readers. Reading differences between technologies were smaller when HDX and FDX-B ear tags were compared. Although HDX devices were read satisfactorily in most cases and are recommended as the most convenient tool for applications (i.e., automated milk recording), we proposed to use double tagging with a second HDX ear tag (non-official) when observed reading problems in sheep populations that used mixed technologies.

**Keywords:** dynamic reading, radiofrequency, transponder, sheep.

## EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA UTILIZACIÓN DE LA IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA PARA EL CONTROL DE PRODUCCIONES EN GANADO OVINO

Ait-Saidi, A., Caja, G., Milán, M.J., Flores, C. y Salama, A.A.K.

Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. E-mail: [gerardo.caja@uab.es](mailto:gerardo.caja@uab.es)

### INTRODUCCIÓN

La utilización de la identificación electrónica (**e-ID**) por radio frecuencia ha demostrado ser una herramienta adecuada para reducir el coste y el tiempo de realización del control lechero en ganado caprino (Caja et al., 1999; Ait-Saidi et al., 2008) y ovino (Ait-Saidi et al., 2009, 2011), aumentando la exactitud de los datos recogidos. La e-ID de ovino y caprino es obligatoria para identificar individualmente a los animales y registrar sus movimientos desde 9 de julio de 2005 y 1 de enero de 2011, respectivamente, de acuerdo con la legislación europea (CE 21/2004, 933/2008 y 759/2009) y española (RD 947/2005 y 1486/2009).

Los estudios de rentabilidad de la utilización de la e-ID de ovino y caprino en España (Milán et al., 2005; Saa et al., 2005) pusieron de manifiesto sus ventajas en la gestión de inventarios y movimientos de ganado a nivel nacional, pero no valoraron los beneficios esperados a nivel de granja.

En el presente estudio se valoran los resultados productivos y económicos resultantes de utilizar la e-ID para la gestión de los libros de explotación en granjas de ovino lechero y de carne, incluyendo el registro de partos y el pesaje de las ovejas para la gestión técnica.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Registro de partos:** Se utilizaron 73 ovejas lecheras de raza Manchega y Lacaune y 80 de carne de raza Ripollés, del SGCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la Universitat Autònoma de Barcelona (Bellaterra), en las que se realizaron registros repetidos de partos mediante un sistema manual (**M**) y Semi-automático (**SA**) en el mismo día.

Los registros se realizaron en grupos de 7-10 ovejas con fechas próximas de parto y en 2 periodos distintos (**P1**, ovejas lecheras en diciembre; **P2**, ovejas de carne en septiembre del año siguiente). Los datos recogidos fueron: ID de la oveja, fecha y tipo de parto, ID del cordero, sexo, peso al nacer y observaciones. El sistema M utilizó la ID visual (5 últimos dígitos del crotal oficial de poliuretano, 38 x 33 mm; Azasa-Allflex, Madrid) y formularios en papel, mientras que el SA usó la e-ID de las ovejas (mini-bolos HDX de 20 g y 11 x 56 mm; Rumitag, Esplugues de Llobregat) y un lector de mano (SmartReader, Rumitag) con antena de bastón y entrada de datos por teclado en una aplicación pre-configurada para partos (software GesDef). La transferencia de datos se realizó, manualmente o mediante Bluetooth y software específico (SmartSoftware), a un PC inmediatamente después de la recogida.

**Control de pesos:** Se utilizaron 114 ovejas de raza Manchega y Lacaune y 102 de raza Ripollés del SGCE. El pesado se realizó, de forma M y automática (**AU**), en grupos de 20 ovejas manejadas con una manga de manejo acoplada a una balanza electrónica (Tru-Test SR2000, Auckland, Nueva Zelanda) conectada a un lector fijo F-210 (Rumitag) y en un total de 12 controles duplicados. El pesado lo realizaron, en todos los casos, 1 operador y 1 ayudante previamente entrenados. En M, se inmovilizó la oveja a la entrada de la báscula, se leyeron los 5 últimos dígitos del crotal oficial y se anotó en papel la ID y el peso de la oveja. Los datos se transfirieron a un PC manualmente. En AU, la e-ID de las ovejas fue leída al pasar por la antena (50 x 90 cm) del lector fijo y se recogió automáticamente en la misma balanza junto con el peso. Los datos se guardaron en la báscula y se transfirieron a un PC mediante conexión serie (RS232) y software específico (PesoyTir v.1.0, Rumitag).

**Estudio económico:** Se realizó un estudio de coste-beneficio, en diferentes escenarios y para 4 tipos de explotaciones con operaciones de manejo de referencia:

- 400 ovejas lecheras con 2 ordeños/d (**2x**) y control lechero oficial completo (**A4**): 1 inventario, 1 parto, 8 controles lecheros y 3 pesadas/año.
- 400 ovejas lecheras con 1 ordeño/d (**1x**) y/o control lechero alterno (**AT4**): 1 inventario, 1 parto, 4 controles lecheros y 3 pesadas/año.
- 700 ovejas de carne en condiciones extensivas: 1 inventario, 1 parto y 2 pesadas/año.
- 700 ovejas de carne en condiciones intensivas: 1 inventario, 1,5 partos y 3 pesadas/año.

Para el cálculo de costes del control lechero se utilizaron los datos obtenidos por Ait-Saidi et al. (2011). La vida útil de las ovejas varió según los sistemas de explotación (leche, 5 años; intensivo carne, 6 años; extensivo carne, 7 años). El precio de los lectores de mano (usados por ganaderos y controladores) fue de 400 € y, el lector fijo para el pesado de 1.300 €; su amortización se estimó en 5 años. Como opción de uso, se acordó que los lectores fijos se compartían entre 30 granjas. El coste de la mano de obra se fijó en 10 €/h (0,167 €/min). Como alternativa de modernización de los sistemas M, se eligió una recogida directa de datos sobre una PDA (Personal Digital Assistant; iPAQ h2200, Hewlett-Packard, Palo-Alto, California), en vez de en papel, que se consideró propiedad del ganadero (1 por granja, precio 300 €), realizando la transferencia a un PC mediante Bluetooth. Se incluyó además el coste de los bolos, al ser de uso obligatorio en España, pero no los lectores. Los tiempos se transformaron a escala decimal (60 s = 100) y los datos productivos se analizaron con PROC GLM de SAS v.9.1. Las medias se separaron con PDIFF a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tiempo necesario para el registro de partos fue menor en SA vs. M ( $0,74 \pm 0,04$  vs.  $0,95 \pm 0,05$  min/oveja;  $P < 0,001$ ) aunque, como consecuencia de la menor experiencia del operador en P1 y tratarse de ovejas de leche, los valores en P1 fueron mayores que en P2 con ovejas de carne ( $P < 0,05$ ), para ambos sistemas. Por otro lado, cerca del 50% de los crotales necesitaron limpieza (pañó mojado) para su lectura visual (0,2 min/crotal), lo que supuso un tercio de la diferencia entre sistemas. De acuerdo con el procedimiento empleado, la transferencia de datos fue más rápida en SA que M ( $0,06 \pm 0,01$  vs.  $0,54 \pm 0,01$  min/oveja  $P < 0,001$ ) y, como consecuencia, el tiempo total fue mayor en M vs. SA ( $1,49 \pm 0,05$  vs.  $0,80 \pm 0,04$  min/oveja;  $P < 0,001$ ). Los errores por transferencia de datos M fueron también menores en P2 vs. P1, pero no se observaron con SA en ambos períodos.

En relación al registro de pesos, los valores M y AU del mismo día se correlacionaron ( $r = 0,98$ ;  $P < 0,001$ ) y la duración del pesado de las ovejas de leche fue menor que en las de carne ( $0,32 \pm 0,02$  vs.  $0,36 \pm 0,02$  min/oveja;  $P < 0,05$ ), equivalentes a una velocidad de trabajo de 188 vs. 166 ovejas/h, respectivamente, lo que se relacionó con su docilidad. Como media, el pesado AU fue más rápido que M ( $0,23 \pm 0,01$  vs.  $0,44 \pm 0,03$  min/oveja;  $P < 0,001$ ), equivalentes a 261 vs. 136 ovejas/h, lo que supuso un ahorro de aproximadamente la mitad del tiempo, además del esfuerzo de inmovilización de las ovejas para la lectura de los crotales. Debe destacarse que, en este caso los crotales estaban limpios, por lo que debe esperarse una mayor diferencia en la práctica.

El resultado de costes con transferencia manual de datos no se presenta a continuación. Pese a los mayores tiempos del sistema M, los menores costes se obtuvieron con la PDA, tanto en el caso de las granjas de leche (-10,1%) como en las de carne (-8,5%), en parte como consecuencia de la importancia del ahorro en lectores de e-ID (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Análisis coste-beneficio de la implementación de la identificación electrónica (e-ID) para el registro de producciones en granjas ovinas

Item	Leche				Carne			
	AT4 (1x) <sup>3</sup>		A4 (2x) <sup>4</sup>		Extensivo		Intensivo	
	e-ID	PDA <sup>5</sup>	e-ID	PDA	e-ID	PDA	e-ID	PDA
Tamaño del rebaño	400	400	400	400	700	700	700	700
Costes e-ID <sup>1</sup>								
Bolos	0,280	0,280	0,280	0,280	0,200	0,200	0,233	0,233
Lectores	0,226	0,175	0,230	0,178	0,124	0,095	0,127	0,098
Total	0,506	0,455	0,510	0,458	0,324	0,295	0,360	0,331
Ahorros totales <sup>1</sup>	0,464	0,258	0,596	0,321	0,274	0,170	0,384	0,241
Beneficios del sistema								
Por oveja <sup>1</sup>	-0,042	-0,197	0,086	-0,137	-0,049	-0,125	0,024	-0,091
Por rebaño	-16,8	-78,9	34,4	-54,7	-34,4	-87,5	16,8	-63,4
Tasa de retorno <sup>2</sup> , %	-8,3	-43,4	16,9	-29,9	-15,2	-42,4	6,7	-27,3
Punto muerto, ovejas	491	-	283	-	1.162	-	590	-

<sup>1</sup>€/oveja y año. <sup>2</sup>(ahorro - coste)/coste. <sup>3</sup>Control lechero alterno ó 1 ordeño/d. <sup>4</sup>Control lechero oficial ó 2 ordeños/d. <sup>5</sup>Recogida manual de datos en una Personal Digital Assistant.

De acuerdo con los resultados resumidos en la Tabla 1, los costes anuales por oveja de utilización del sistema M con PDA representaron el 89,9 y 91,5% de los costes de implementación del sistema SA y AU, en las granjas de leche y carne, respectivamente. La ausencia de control lechero y el aumento del número de ovejas disminuyeron los costes anuales por oveja en las granjas de carne. Por otro lado, la frecuencia de controles (y en consecuencia el uso de los lectores) redujeron los costes anuales por oveja de la implementación de la e-ID.

Los ahorros relativos del uso de sistemas e-ID o PDA se estimaron a partir de las diferencias de tiempo total entre el sistema M y SA o AU obtenido para cada tipo de control, considerando también el número de controles realizados por año. Para los datos de ahorro de tiempos en el control lechero se utilizaron los datos de comparación de M y SA obtenidos previamente por Ait-Saidi et al. (2011), considerando que el sistema PDA únicamente reduce el tiempo de transferencia de los datos a 0,01 min/oveja.

En el caso de las explotaciones lecheras A4 (2x) y en las granjas intensivas de carne, los ahorros estimados cubrieron todos los costes de implementación de la e-ID, lo que produjo beneficios de 0,086 y 0,024 €/oveja, respectivamente. En estos casos la e-ID resultó mas beneficiosa que la realización de controles M con PDA. Sin embargo, en las granjas de carne en sistema extensivo, el ahorro estimado sólo cubrió el 84,8% de los costes.

La tasa de retorno (TR) de la implementación del sistema e-ID fue de 117 y 107% para granjas lecheras A4 (2x) y granjas intensivas de carne, respectivamente (Tabla 1). Los puntos muertos estimados para un beneficio cero se situaron entre 283-491 ovejas de leche y 590-1162 ovejas de carne. En los casos negativos, la utilización de la e-ID para otros usos (p. ej., programas de saneamiento, trazabilidad, etc...) o las ayudas institucionales para la modernización de explotaciones (p. ej., subvenciones a los bolos y lectores) contribuirían a compensar los mayores costes de implementación de la e-ID.

En conclusión, es posible cubrir el coste de los dispositivos y equipos de e-ID, total o parcialmente, con los ahorros obtenidos. Debe esperarse que las ventajas de la e-ID sean mayores con operadores experimentados, grandes rebaños y en condiciones intensivas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ait-Saidi, A., Caja, G., Carné, S., Salama, A. A. K. & Ghirardi, J. J. 2008. *J. Dairy Sci.* 91:1438-1442.
- Ait-Saidi, A., Caja, G., Carné, S. & Salama, A. A. K. 2009. *J. Anim. Sci.* Vol. 87, E-Suppl. 2/*J. Dairy Sci.* Vol. 92, E-Suppl. 1 Abstr. 488, p. 379.
- Ait-Saidi, A., Caja, G., Salama, A. A. K. & Milán, M. J. 2011. *XIV Jornadas AIDA Prod. Animal.* pp. 124-126.
- Caja, G., Peris, S., Conill, C., Nehring, R., Roca, R., Ribó, O. & Milán, M. J. 1999. *EAAP Publ. No.* 95:406-411.
- Milán, M. J., Saa, C., Caja, G. & Ghirardi, J. J. 2005. *Ganadería* 31:30-35.
- Saa, C., Milán, M. J., Caja, G. & Ghirardi, J. J. 2005. *J. Anim. Sci.* 83:1215-1225.

**Agradecimientos:** Proyecto MCINN AGL-2007-64541 del Plan Nacional I+D+i.

#### ECONOMIC EVALUATION OF IMPLEMENTING THE ELECTRONIC IDENTIFICATION FOR THE PERFORMANCE RECORDING OF SHEEP

**ABSTRACT:** Benefits of implementing electronic identification (e-ID) for performance recording of dairy and meat sheep (lambing, milk or weight recording data) were evaluated by comparing the costs of using visual ear tags and manual or pocket PC data collection vs. semi- or fully-automated data collection systems with electronic boluses and transceivers. Sheep farm scenarios were: 400 dairy ewes (twice- or once- daily milking) and 700 meat ewes (intensive or extensive). For the study conditions, benefits varied according to production purpose, recording frequency and flock size. Breaking point for the use e-ID under the current Spanish conditions ranged from 283 to 491 in dairy ewes and from 590 to 1,162 in meat ewes, but may result significantly lower if other management uses were included.

**Keywords:** electronic identification, precision system, performance recording, cost-benefit.

**COSTOS Y RENTABILIDAD DE LA INVERSIÓN EN TRAZABILIDAD BOVINA EN UN SISTEMA DE CICLO COMPLETO DE PRODUCCIÓN EN EL ESTADO DEL RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Nicoloso, C.S<sup>1</sup>; Silveira, V.C.P<sup>1</sup>.; Rosa, J.S.<sup>1</sup>; Ferraz, C.M.<sup>1</sup>; Vargas, A.F.C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Maria , Santa Maria, RS-Brasil.

[carolinanicoloso@hotmail.com](mailto:carolinanicoloso@hotmail.com)

<sup>2</sup>Fundação Maronna, Alegrete, RS- Brasil

**INTRODUCCIÓN**

El enfoque en los consumidores y la seguridad de los alimentos se ha vuelto más importante con la creciente internacionalización del comercio de carne vacuna, y las crisis sanitarias que se produjeron en los años 90. En este contexto se desarrolla el sistema brasileño de trazabilidad bovina.

En Brasil, para los productores de ganado vacuno, la trazabilidad ganadera todavía tiene muchas incertidumbres, sobre todo en lo que respecta a la comercialización, las garantías de comerciabilidad y nuevas prácticas que deben adoptarse dentro de la propiedad para que el sistema tenga un coste - beneficio razonable y compatible con el sistema de producción. Por lo tanto, conocer los costos que el sistema de trazabilidad bovina puede generar en un sistema de producción es esencial para el análisis de las opciones de gestión, además de análisis de inversiones, con su riqueza y las posibilidades de retorno, ya sea a través de ganancias financieras o por aumento de la eficiencia en la gestión del sistema de producción.

El objetivo de esta investigación fue determinar en una hacienda los costos de la trazabilidad bovina (Sisbov) en un sistema de ciclo completo de producción.

**MATERIAL Y MÉTODOS**

Esta investigación se llevó a cabo en la Estância do Vinte e Oito, en el período agosto 2010-agosto 2011. La Estância do Vinte e Oito es una hacienda de propiedad de la Fundación Maronna, ubicada en el municipio de Alegrete, provincia del Rio Grande do Sul y trabaja con sistema de producción de ciclo completo en la producción de ganado de carne. En 2010, aconteció la visita de los técnicos del Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento (MAPA) para auditar el sistema de trazabilidad, con el objeto de exportar su carne vacuna a la UE. Durante este período, se recogieron datos sobre todas las actividades específicamente relacionadas con la operación y mantenimiento de Sisbov en la Estância de Vinte e Oito.

El sistema de identificación animal utilizado es un pin numerada y un pendiente en ambas orejas y se recogen los datos que informaron actividad se desarrolló, el tiempo dedicado a la actividad, la fecha en que se produjo, el número de personas y el número de animales implicados. Se han recogido datos del sistema de producción, incluyendo datos de la manada, los tipos de gestiones, los índices, la estructura y los gastos de personal asalariado, así como los ingresos de datos para el período.

Como método de costeo se utilizó el costeo variable, donde los gastos se dividen en costos fijos y costos variables. La composición se basa en el modelo del costo propuesto por Conab (2010), que fue adaptado para permitir el análisis del coste del Sisbov, como se muestra a continuación:

**Costo variable**

<i>I- Costos implantación - SISBOV</i>	<i>II- Costos post implantación - SISBOV</i>	<i>III -Gastos financieros</i>
1-Chequeo de caravanas	1-Auditorías	1 – Anualidad de Certificación
2-Substitución de caravanas	2-Entrega de avisos y las hojas de cálculo	
3-Identificación de terneros	3-Conferencia de avisos	
4-Comunicación de identificación de terneros		
5-Preparación de Avisos y Hojas de cálculo		
6-Separación de la guía D.I.A		

Después de determinar los costos, ingresos y resultados financieros de lo Sisbov se realizaron cálculos de los ratios financieros: margen bruto y retorno sobre la inversión.

El margen bruto (MB) se puede obtener restando los ingresos brutos (IB) de Costos Variables (CV):  $MB = IB - CV$

La tasa de retorno de la inversión (TRI) se utiliza para con el propósito del monto que recibe cada cantidad invertida. En esta investigación se considera el Costo Variable:

$$TRI = \frac{IB - CV}{CV} \times 100$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los datos es posible calcular el costo de Sisbov (Tabla 1) en el sistema de producción específico de la Estância do Vinte e Oito, con el rebaño de ganado vacuno de 2184 animales, y sistema de producción de ciclo completo.

Actualmente, el ganadero recibe un "bonus" por los animales sacrificados en los mataderos exportadores, lo que genera un atractivo para el sistema, así que la pregunta central de la trazabilidad del ganado vacuno es el costo-beneficio de la adopción. La Tabla 2 muestra las relaciones de ingresos y resultados financieros obtenidos con Sisbov en la Estância do Vinte e Oito.

Es importante destacar que los costos presentados en la Tabla 1 y los resultados financieros que se presentan en la Tabla 2 se refieren solamente a adopción del Sisbov, no se consideró ningún otro costo o ingreso de la producción de ganado de carne. Los costes y las tasas de certificación, verificación y anualidad pueden variar con la certificación elegida, así como el costo del identificador del animal.

Los resultados que se presentan en la Tabla 2 representan la ganancia financiera, cuando se obtiene un pago por productos diferenciados - animal con trazabilidad. El margen bruto positivo indica que el sistema es gratificante y es económicamente viable, al menos en el corto plazo. Dado que la tasa de retorno de la inversión es el mejor indicador que expresa la relación costo-beneficio del sistema, de acuerdo con la Tabla 2, se puede decir que por cada R\$ 1,00 invertido, el sistema devuelve en la forma de ganancia R\$ 3,38. Este resultado muestra que si hay una compensación por los animales sacrificados que se rastrea, es posible que el Sisbov genere ganancias para la producción de ganado de carne. Por ello, representa una posible fuente de nuevas inversiones en el sistema de producción, como la adopción de tecnologías para reducir edad a lo sacrificio y el aumento consiguiente de la escala de producción. La retribución asociada a la capacidad de terminación de los animales tiene la capacidad de generar ingresos a un cierto nivel y este es un punto crítico del sistema, principalmente porque los pagos por estos productos diferenciados están condicionados a la oferta y la demanda del producto en el mercado. Para Martins y Lopes (2009), la amortización de los costos de esta tecnología (trazabilidad) puede venir a través de una mejor remuneración del producto, de acuerdo con lo deseado por la industria, o en la forma de ganancias en eficiencia productiva, basada en la gestión eficaz de la producción, que deben ser muy considerados.

Así Sisbov mostró la capacidad de generar beneficios en el sistema de producción estudiado, pero la relación costo-beneficio positiva se dio por los pagos diferenciados por el animal rastreado. Con la posibilidad de que en el futuro no haya una compensación adicional por el sacrificio de los animales con trazabilidad, las ganancias de eficiencia en la gestión deben ser consideradas para su posterior análisis en cuanto a su factibilidad de implementación.

Es necesario estudiar el Sisbov, su generación de costos, la rentabilidad y las variaciones en otros sistemas de producción para un análisis más preciso de sus posibles efectos económicos.

## REFERENCIAS

- CONAB. Metodologia de cálculo de custos de produção, 2010. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/custosproducaometodologia.pdf> Acesso em: Dez.2011. • MARTINS, F.M.; LOPES, M.A. Rastreabilidade Bovina no Brasil. Boletim técnico n 55. Editora Ufla. Lavras, 2009.

**Tabla 1.** Costos de lo Sisbov en la Estância do Vinte e Oito, Agosto de 2010 hasta Agosto de 2011, em Reales (R\$).

Discriminación	Valores (R\$)
<b>Costo Variable</b>	
<u>Gastos SISBOV</u>	
Chequeo de Caravanas	1.698,97
Substitución de pendientes	84,27
Identificación de Terneros	3.106,49
Comunicado de Terneros	280,85
Preparación de avisos	62,16
Separación de la guía D.I.A.	23,26
<u>Gastos Post SISBOV</u>	
Auditorias	2.237,61
Entrega de avisos	0,95
Conferencia de avisos	47,67
<u>Gastos Financieros</u>	
Anualidad de certificación	100,00
<b>TOTAL</b>	<b>7.642,23</b>
<b>COSTO/ANIMAL</b>	<b>3,49</b>

**Tabla 2.** Ingreso Bruto, Costo Variable, Margen Bruto y Retorno de la Inversión (R\$) del Sisbov en la Estância do Vinte e Oito, Agosto de 2010 hasta Agosto de 2011.

	Nº animales sacrificados	Total	Medio/animales sacrificados
Ingreso Bruto	404	33.545,34	83,03
Costo Variable	-	7.642,23*	13,44
Margen Bruto	-	25.903,11*	64,12
Retorno de La Inversión.	-	338,94%	-

\*Los Costos se refieren a lo rebaño total (2184 bovinos).

## **COSTS AND RETURN OF INVESTMENT OR BEEF CATTLE TRACEABILITY IN A FULL CYCLE SYSTEM PRODUCTION IN THE STATE OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL**

**ABSTRACT:** The growing internationalization in marketing requires the development of certification systems for beef, accepted worldwide, known as "cattle traceability systems." The process of deploying and maintaining traceability become operationally costly for farmers and costs should be accounted for. The objective of this research was to determine the costs of bovine traceability (Sisbov) in a complete beef cattle production system. Data were collected regarding the activity performed, time of activity, number of people and number of animals, as well as data on the herd, types of managements, indexes, structure, personnel, compensation costs and revenues for the period. With the costs and revenues from just the Sisbov the Gross Margin (GM) and Average Profitability (AP) were calculated. The total cost was R\$ 7,642.23 and the cost per animal of R\$ 3.49, for the herd of 2,184 cattle. The GM per animal slaughtered during the period was R\$ 64.12 and AP was 338.94%, demonstrating financial gain. It is necessary to study the Sisbov, its generation costs, profitability and changes in other production systems for more accurate analysis of its potential economic impact.

**Keywords:** traceability system, costs, return on investment.

## NIVELES DE AMONIACO Y CARACTERÍSTICAS DEL PURÍN EN UN CEBADERO PORCINO EN EL VALLE DEL EBRO. INFLUENCIA DE LA ORIENTACIÓN Y DE LA EXPOSICIÓN A LOS VIENTOS DOMINANTES

Alvarez-Rodriguez<sup>1</sup>, J., Guillén<sup>2</sup>, R., Babot<sup>1</sup>, D., Forcada<sup>3</sup>, F.

<sup>1</sup>Dpto. Producción Animal. Universidad de Lleida. Avda. Rovira Roure 191, 25198 Lleida.

<sup>2</sup>Grupo Jorge, S.L. Academia General Militar 52. 50015 Zaragoza. <sup>3</sup>Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza.  
[jalvarez@prodan.udl.cat](mailto:jalvarez@prodan.udl.cat)

### INTRODUCCIÓN

Un factor importante que caracteriza el medio ambiente en alojamientos porcinos es la concentración de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) en su interior y por tanto las potenciales emisiones del mismo desde las instalaciones intensivas. El  $\text{NH}_3$  se produce cuando se ponen en contacto la urea de la orina con la ureasa presente en las heces, formándose 2 moléculas de  $\text{NH}_3$  por cada molécula de urea (Mobley y Hausinger, 1989). En los cebaderos porcinos, dicha reacción tiene lugar tanto en la solera emparrillada como en las fosas de purines situadas debajo de la misma. En España, los cebaderos porcinos se caracterizan por tener emparrillado total o parcial de hormigón y ausencia total de paja para cama. Las emisiones de  $\text{NH}_3$  aumentan conforme lo hace la suciedad de la solera, siendo en general inferiores a las asociadas con el uso de paja, a no ser que la cantidad de paja aportada sea elevada, lo que favorece la asimilación de N en proteína microbiana estable reduciendo la emisión de  $\text{NH}_3$  (Gilhespy et al., 2009). La temperatura también influye en los niveles de  $\text{NH}_3$ , de manera directa favoreciendo la actividad ureasa y la volatilización desde el purín como de modo indirecto, pues influye en el comportamiento de descanso y tiene una relación directa con la suciedad de la solera (Huynh et al., 2005). También la ventilación aumenta las emisiones y reduce las concentraciones interiores de  $\text{NH}_3$  (Granier et al., 1996). El objetivo del presente estudio fue evaluar la dependencia de las condiciones ambientales que tienen los niveles de  $\text{NH}_3$  en el interior de una instalación de cebo porcino de dos naves en paralelo. También se evaluaron las características del purín a lo largo del periodo de cebo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los controles se realizaron en un cebadero porcino de 15 años de antigüedad ubicado a 2 km del municipio de Alcubierre (Huesca) ( $41^\circ 48' \text{ N}$ ,  $0^\circ 27' \text{ W}$ , 452 m s.n.d.m.). El cebadero constaba de 2 naves idénticas de  $840 \text{ m}^2$  de superficie con capacidad para alojar un total de 1040 cerdos. Cada nave tenía 2 pasillos y dos filas de corrales a ambos lados de ellos. En total, 4 filas por 20 corrales. Cada corral tenía unas dimensiones de  $3 \times 3 \text{ m}$ , solera de hormigón emparrillada en un 50% y estaba destinado a alojar 13 cerdos, con lo que la superficie final por animal era de  $0,69 \text{ m}^2$ , por encima de las recomendaciones de la Directiva 2008/120/CE relativa a las Normas Mínimas para la Protección de Cerdos, que refiere un mínimo de  $0,65 \text{ m}^2$  para cerdos de hasta 110 kg de peso final. Las dos naves estaban colocadas en paralelo, con 10 m de separación entre ellas. El eje longitudinal de ambas estaba orientado en sentido N-S, con lo que la nave 1 recibía en su fachada oeste directamente el cierzo, mientras que la nave 2 recibía en su fachada este el bochorno. Ambos edificios estaban equipados con 20 ventanas en cada fachada de  $2 \times 1 \text{ m}$ , de manera que se podían abrir en modo manual o automático (mediante control de temperatura) hasta en un 75% de su superficie total mediante persianas de guillotina. También se disponía de una cumbrera cenital de ventilación a lo largo de toda la cubierta con regulación manual y una máxima abertura de 50 cm.

Los animales entraron el 25 de febrero de 2012 en la nave 1 y el 29 del mismo mes en la nave 2. El peso medio a la entrada fue de 14,87 kg, y el de salida de 103,9, para una duración total de la crianza de 159 días. Los controles se realizaron cada 2 semanas desde el 12 de marzo en la nave 1 y del 19 en la nave 2. En total, 9 controles en cada nave, todos ellos a las 10:00, y además a las 17:00 desde el control 6. En cada control se realizaron 4 mediciones de  $\text{NH}_3$  en cada nave, 2 en cada uno de los pasillos, siendo el pasillo 1 el más



occidental en cada nave, recibiendo el cierzo, y el 2 el más oriental, recibiendo el bochorno. Las concentraciones de NH<sub>3</sub> se midieron utilizando un Monitor Multigas VRAE PGM-7840, con una resolución de 1 ppm y un rango de medición de 0 a 50 ppm. Además, se recogieron muestras de purín debajo del emparrillado en todos los puntos de medición, mezclándose todas las muestras de cada nave para medir la conductividad, temperatura y pH del purín utilizando un multimetro portátil Crison MM40. Las características del purín se midieron únicamente en los controles de la mañana.

Las concentraciones de NH<sub>3</sub> en el control de la mañana fueron analizadas mediante un ANOVA factorial 2x2 con la nave y el pasillo como factores, pero analizando por separado los 5 primeros controles (ventanas cerradas) de los 4 últimos (ventanas abiertas porque temperatura interior > 21 °C). Por lo que a las características del purín se refiere, éstas se analizaron mediante ANOVA factorial 2x2 con la nave (1 vs 2) y el periodo (hasta control 5 vs desde control 6) como factores.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Considerando el análisis factorial nave x pasillo, se ha detectado un efecto pasillo altamente significativo (P<0,01) sobre las concentraciones de NH<sub>3</sub>, independientemente de que las ventanas estuvieran más o menos abiertas, con niveles siempre superiores en el pasillo 2. Estos resultados muestran la importancia de la orientación de la nave sobre la renovación del aire, pues los pasillos de ambas naves más próximos a las fachadas donde incide el cierzo (pasillo 1) parecen tener una mejor renovación del aire y por tanto unos niveles de NH<sub>3</sub> significativamente inferiores que los pasillos más próximos a las fachadas en las que incide el bochorno (pasillo 2). Estas diferencias son importantes, de manera que las concentraciones de NH<sub>3</sub> prácticamente se duplican en el pasillo 2 frente a las recogidas en el pasillo 1.

**Tabla 1. Concentraciones medias (± error estándar) de NH<sub>3</sub> (ppm) en el control de la mañana antes de la apertura automática de ventanas (hasta control 5) y tras dicha apertura (desde control 6) en función de la nave y del pasillo.**

	Nave 1		Pasillo 2	Nave 2		
	n	Pasillo 1		n	Pasillo 1	Pasillo 2
NH <sub>3</sub> hasta control 5 (ppm)	10	10,4±1,6a	16,6±2,3b	10	11,9±2,0	18,3±3,8
NH <sub>3</sub> desde control 6 (ppm)	8	2,1±0,3c	4,0±0,8d	8	2,9±0,5a	4,7±0,7b

<sup>a,b</sup> Letras diferentes indican diferencias (P<0,05) entre pasillos de la misma nave.

<sup>c,d</sup> Letras diferentes indican diferencias (P=0,05) entre pasillos de la misma nave.

Entre el control 1 y 5, las ventanas estaban cerradas en el momento de los registros, con lo que la ventilación era muy reducida y los niveles de NH<sub>3</sub> en ese momento elevados, con picos de hasta 28 ppm en la nave 1 y 45 ppm en la 2, cifras importantes teniendo en cuenta que la CIGR (1984) recomienda que los niveles de NH<sub>3</sub> en alojamientos ganaderos no deberían superar las 20 ppm. Desde el control 6, con superior temperatura ambiente interior (>21 ° C), las ventanas estaban abiertas en el momento de la medición, con lo que los niveles son mucho más reducidos, no superándose el pico máximo de 10-11 ppm. Esto indica la buena eficacia de la ventilación natural a la hora de reducir significativamente los niveles de NH<sub>3</sub> en los cebaderos estudiados durante los meses de mayo y junio.

Desde el control 6, se realizó un análisis factorial 2x2 con el pasillo y la hora de control (mañana y tarde) como factores, dado que el efecto nave fue siempre no significativo. Se detectó de nuevo un efecto pasillo (P<0,05), de manera que los niveles de NH<sub>3</sub> fueron significativamente inferiores en los pasillos 1, más próximos a la fachada donde incide el cierzo, que en los pasillos 2 (2,9±0,4 vs 4,4±0,5 ppm; P<0,05), mostrando de nuevo la

influencia de la orientación sobre el ambiente interior en cebaderos como el descrito y la relación directa de las concentraciones de NH<sub>3</sub> con la temperatura ambiente (Philippe et al., 2007), también significativamente inferior en los pasillos 1 que en los 2 (23,3±0,4 vs 24,7±0,4°C; P<0,05). Por el contrario, no hubo efecto alguno de la hora de lectura (10 vs. 17 h), indicando las reducidas variaciones diarias de NH<sub>3</sub> cuando las ventanas permanecen abiertas todo el día.

El periodo de muestreo (hasta control 5 vs. desde control 6) tuvo un efecto significativo sobre todos los parámetros excepto el pH (7,7±0,1 vs 7,9±0,02; P>0,05), de manera que tanto la temperatura del purín (17,8±0,8 vs 25,1±0,4 °C; P<0,01) como la conductividad (32,8±1,8 vs 40,2±1,6 dS/m; P<0,01), fueron significativamente superiores en el segundo periodo de la fase de cebo. Estos resultados, excepto los relativos al pH, coinciden con lo señalado en la literatura, en el sentido de que conforme avanza el periodo de cebo se incrementan los valores de los parámetros anteriores (Moral et al., 2008; Hernández et al., 2011;), de manera que existe una relación positiva entre dicho aumento y las emisiones potenciales de NH<sub>3</sub> al ambiente.

En conclusión, los resultados del presente estudio muestran la importancia de la orientación en relación al viento de los cebaderos en el Valle del Ebro sobre las características ambientales en su interior, en particular sobre las concentraciones de NH<sub>3</sub>.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CIGR (1984). Report of working group on climatization of animal houses • Gilhespy, S.L., Webb, J., Chadwick, D.R. et al. 2009. Biosyst. Eng. 102: 180-189 • Granier, R., Guingand, N., Massabie, P. 1996. J. Rech. Porc. 28: 209-216 • Hernández, F., Martínez, S., López, C. et al. 2011. Animal 5: 1290-1298 • Huynh, T.T.T., Aarmink, A.J.A., Gerrits, W.J.J. et al. 2005. Appl. Anim. Behav. Sci. 91: 1-16 • Mobley, H.L.T., Hausinger, R.P. 1989. Microbiol. Rev. 53:85-108 • Moral, R., Pérez-Murcia, M.D., Pérez-Espinosa, A., et al. 2008. Waste Manage. 28:367-371 • Philippe, F.X., Laitat, M., Canart, B. et al. 2007. Livest. Sci. 111: 144-152.

### AMMONIA CONCENTRATIONS AND SLURRY CHARACTERISTICS IN A FINISHING PIG UNIT IN THE EBRO VALLEY. THE EFFECT OF THE GEOGRAPHICAL ORIENTATION AND THE EXPOSITION TO THE PREVAILING WINDS

**ABSTRACT:** This study evaluated whether the air NH<sub>3</sub> concentrations inside a typical pig finishing unit of two parallel buildings were influenced by the prevalent winds and by the location inside the buildings. The farm had two North-oriented equal buildings (1 and 2) 10 m away. West front of building 1 was lashed by prevailing N-W cold and dry wind. Each building had 2 corridors. Ventilation was natural, with inlets in both walls and outlets in the roof. NH<sub>3</sub> was recorded fortnightly at 10:00 (March-July). Additionally, 4 slurry samplings per building were taken on each control, and mixed for determination of conductivity, temperature and pH. Windows were closed during controls 1 to 5, and opened from control 6. There was a significant effect of the corridor on NH<sub>3</sub> concentrations, lower on corridor 1 than on 2 either up to control 5 (11.1±5.8 vs. 17.4±9.7 ppm; P<0.05) or from control 6 (2.9±0.4 vs. 4.4±0.5 ppm; P<0.05). Except for the pH, slurry parameters were lower in the first half of the fattening period than in the second half. These results highlight the significance of the prevalent winds from the Ebro Valley on the inside environmental parameters of pig facilities, particularly on NH<sub>3</sub> concentrations.

**Keywords:** ammonia, pig farms, slurry, environment

## **INFLUENCIA DE LA EPOCA DEL AÑO Y DE LA FASE PRODUCTIVA SOBRE EL VOLUMEN Y COMPOSICIÓN DE LOS PURINES DE CERDOS DE ENGORDE**

Babot<sup>1</sup>, D., Flores<sup>1</sup>, J., Coma<sup>2</sup>, J., Balcells<sup>1</sup>, J., Soldevila<sup>1</sup>, C., Alvarez-Rodríguez<sup>1</sup>, J.  
<sup>1</sup>Departament Producció Animal, Universitat de Lleida, Av. Rovira Roure, 191, 25198-Lleida (España)

<sup>2</sup>Grupo Vall Companys, Pol. Industrial El Segre, Parc. 410, 25191 Lleida (España)  
dbabot@prodan.udl.cat

### **INTRODUCCIÓN**

La producción porcina contribuye de forma importante a la producción de ganadería mundial y su liderazgo y expansión está condicionada por una correcta gestión medioambiental de los subproductos/residuos generados. Las deyecciones fecales y urinarias en forma de purín son el principal subproducto/residuo a gestionar dentro del marco legal vigente, por ello el objetivo del presente trabajo es analizar en condiciones de granja comercial el volumen y composición de los purines de cerdos de engorde y sus principales factores de variación.

### **MATERIAL Y METODOS**

Se han utilizado los datos procedentes de 11 granjas de engorde de porcino situadas en Cataluña y Aragón, con un total de 41512 cerdos híbridos (LandracexLarge-White)xPietrain entre los 19 y 100 kg de peso vivo. En cada granja los animales se alojaron en dos naves idénticas y se sometieron al mismo sistema de manejo y alimentación. Los grupos de 10-15 animales fueron alojados en corrales en los que disponían de una tolva circular para el suministro del pienso a voluntad y de un bebedero de cazoleta adicional. Los animales fueron alimentados siguiendo un sistema de tres fases (Fase 1: 20-40 kg; Fase 2: 40-70 kg y Fase 3: 70-100 kg) con diferentes niveles de proteína bruta (16,7, 15,6 y 14,8%, respectivamente) y de lisina total (1,18, 1,16 y 1,02 %, respectivamente). Las dietas fueron suplementadas con aminoácidos sintéticos (L-lisina, DL-metionina, L-treonina y L-triptófano) para cubrir los requerimientos nutricionales y el equilibrio de proteína ideal, así como con fitasas exógenas para mejorar la disponibilidad del fósforo en las materias primas (6-fitasa: 750 UI/kg, con niveles de fósforo total de 0,51, 0,43 y 0,42%). Los controles en cada nave fueron realizados durante dos ciclos de engorde consecutivos entre septiembre de 2010 y agosto de 2011, tomando registros de peso inicial y final de los cerdos, así como consumo de pienso y agua. La producción de purín se evaluó por balance de volumen en cada una de las fosas de cada nave, tomándose una muestra de purín al final de cada fase para determinar sus propiedades físico-químicas (n=96). Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS mediante el procedimiento GLM considerando como efectos fijos la época del año (otoño-invierno vs. primavera-verano) y la fase de crecimiento (20-40, 40-70 o 70-100 kg).

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

En la Tabla 1 se presentan los resultados de rendimientos productivos promedio de los animales controlados. Puede verse como el índice de conversión fue mayor en otoño-invierno (+0,1 kg pienso/kg carne) que en primavera-verano (P<0,05). El consumo de agua tendió a ser mayor (P>0,10) en la época de primavera-verano (3,9 ± 0,2 l/cerdo/día) que en la época de otoño-invierno (3,5 ± 0,2 l/cerdo/día) e incrementó con el progreso del ciclo de engorde (2,4, 3,9 y 5,2 ± 0,2 l/cerdo/día, P<0,05).

Los valores de volumen promedio (Tabla 2) han sido similares en las dos épocas estudiadas (P=0,81) y se encuentran entre los niveles normales referenciados (p.e. Fleming y Mordenti, 1993 y Levasseur, 1998), pero se sitúan en la zona de valores mínimos de volumen de purín producido, que va de 1,9 a 7,3 l/cerdo y día, según la revisión realizada por Babot et al., (2004). El valor medio obtenido (2,2 l/cerdo y día) estaría por debajo de los estándares de volumen que considera la administración en la actualidad (entorno a 5,0 l/cerdo/día; Decreto 136/2009, DOGC n° 5457:65858-65902). No se han detectado diferencias significativas en la materia seca (MS) del purín en función de la época o de la fase de producción. Los valores promedio obtenidos, entre 11,3% y 12,6%, se situarían en el rango alto en relación a los propuestos por DMAH (2006), con niveles del 1,06 a 14,3% de MS. La reducción en la dilución del purín respondería a una mejora en los sistemas de manejo relacionados con el uso de agua. En este sentido, la utilización de bebederos independientes del comedero (presentación de

alimento seco) induce un mayor desperdicio de agua y menor contenido de MS en los purines conforme avanza el ciclo de engorde (Alvarez-Rodriguez et al., 2013).

La época de engorde afectó de forma significativa a la densidad, la conductividad eléctrica, la temperatura del purín y la concentración de nitrógeno (Tabla 2). Así, en épocas de bajas temperaturas se generan purines con menor densidad y mayor concentración en nitrógeno orgánico y amoniacal. La mayor concentración de nitrógeno amoniacal en otoño-invierno puede explicarse por la menor temperatura del purín, que conllevaría una menor volatilización del nitrógeno en forma de amoníaco (Philippe et al., 2011) lo que también afecta a su valor fertilizante.

La fase de producción afectó de forma significativa a la conductividad, a la temperatura y a la concentración de nitrógeno y de fósforo del purín (Tabla 2). El incremento de temperatura del purín en la fase 3 (70-100 kg) y de su concentración de nitrógeno amoniacal en las fases 2 y 3 (40-100 kg) podría estar asociado con el mayor volumen de orina y excreción de nitrógeno urinario al aumentar la edad de los animales (Hernández et al., 2011). Hay que tener en cuenta también que la eficiencia en el uso del N tiende a reducirse con la edad de los animales (Dourmad et al., 1999). En el conjunto del periodo de crecimiento se obtiene una ingestión de N por cerdo de 5,3 kg y una excreción de este elemento en purín de 2,5 kg (48%), similar en ambas épocas.

La concentración de fósforo en purín se reduce en las fases 2 y 3 del engorde (40-100 kg de peso) ( $p < 0,05$ ), lo que supone a su vez un menor contenido de este elemento por unidad de volumen del purín. La formulación de las raciones utilizando la concentración estimada de fósforo digestible de cada materia prima y el uso del método factorial para determinar las necesidades de este elemento (Jondreville y Dourmad, 2005), así como la adición de fitasas microbianas, han contribuido de forma notable al ajuste de los aportes con las necesidades.

Puede concluirse que es necesario considerar los efectos de la época del año y la fase de crecimiento de los animales para valorar la composición de los purines con el objeto de afrontar una adecuada gestión agronómica de los mismos. El purín procedente del engorde en época cálida del año presenta un menor valor fertilizante en términos de contenido de nitrógeno amoniacal. El incremento de consumo de agua al avanzar el crecimiento de los animales no se tradujo en un mayor desperdicio de la misma, dado que la materia seca de los purines se mantuvo constante durante el ciclo de engorde.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Rodriguez, J., Hermida, B., Parera, J., Morazán, H., Balcells, J., Babot, D., 2013. Anim. Prod. Sci. (pub. Online) • DMAH. 2006. La ramadería intensiva: sector porcí. Altés arts gráficas, S.L. pp 107.
- Dourmad, J.Y., Guingand, N., Latimier, P., Sève, B. 1999. Liv. Prod. Sci. 58: 199-211.
- Fleming, G.A., Mordenti, A. 1993. The production of animal wastes. Environment Agriculture Stock Farming in Europe. Mantua (Italy).
- Hernandez, F., Martínez, S., López, C., Megías, M.D., López, M., Madrid, J. 2011. Animal, 5(8):1290-1298.
- Jondreville, C., Dourmad, J.Y., 2005. INRA Prod. Anim. 18(3):183-192.
- Levasseur, P. 1998. Techniporc 21 (4): 17-24.
- Philippe, F.X.; Cabaraux, J.F. Nicks, B. 2011. Agric. Ecos. Env. 141: 245-260.
- MARM, 2010. *Anuario de Estadística 2009*.

#### INFLUENCE OF PERIOD OF YEAR AND FEEDING PHASE ON THE YIELD AND COMPOSITION OF SLURRY FROM GROWING-FINISHING PIGS

**ABSTRACT:** A total of 11 pig farms (2 buildings each) raising (Landrace x Large-White) x Pietrain hybrids from 19 to 100 kg live-weight were used to study the effects of fattening period (cool vs. warm season) and feeding phase (1: 20-40 kg, 16.7% crude protein (CP); 2: 40-70 kg, 15.6% CP and 3: 70-100 kg, 14.8% CP) on productive performance, slurry yield and its composition during 2 consecutive growing-finishing periods. The feed conversion rate was greater in the cool than in warm period of year ( $P < 0.05$ ). The slurry yield and its dry matter content was similar between periods of year ( $P > 0.10$ ) but the cool period induced lower slurry density and greater organic and ammoniacal nitrogen content than the warm period ( $P < 0.05$ ). Water use by pigs and several slurry traits (electrical conductivity, temperature and ammoniacal nitrogen) increased as the fattening cycle progressed ( $P < 0.05$ ), whereas phosphorus content of slurry decreased ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** swine, excreta, manure, fertilizer value, environment

**Tabla 1.** Medias cuadráticas estimadas para el rendimiento técnico en la época 1 (otoño-invierno) y en la época 2 (primavera-verano)

Variable	Época 1	Significación	Variable	Época 1	Época 2	Significación
Duración engorde (días)	147,7 ± 3,4	NS	Índice conversión (kg/kg)	2,61 ± 0,04	2,50 ± 0,03	*
Peso inicial animales (kg)	20,0 ± 0,9	**	Bajas en engorde (%)	2,02 ± 0,46	2,48 ± 0,34	NS
Peso final animales (kg)	100,7 ± 0,8	NS	Uso de agua (l/cerdo/día)	3,5 ± 0,2	3,9 ± 0,1	NS

NS=>P>0,10, \*=>P<0,05, \*\*=>P<0,

**Tabla 2.** Medias cuadráticas ± error estándar de los valores analizados del purín

Composición	Otoño-invierno		Primavera-verano		Fase 1 (20-40 kg)		Fase 2 (40-70 kg)		Fase 3 (70-100 kg)		Época	Fase
	2,2 ± 0,2	2,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,3 ± 0,2 <sup>c</sup>	NS	***				
Volumen (l/cerdo/día)	2,2 ± 0,2	2,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,3 ± 0,2 <sup>c</sup>	NS	***				
<b>Composición</b>												
Materia seca (%)	11,7 ± 0,6	12,2 ± 0,4	12,6 ± 0,6	12,0 ± 0,6	11,3 ± 0,6	11,3 ± 0,6	NS	NS				
Densidad (kg/m <sup>3</sup> )	1041,5 ± 3,4 <sup>x</sup>	1052,9 ± 2,5 <sup>y</sup>	1049,8 ± 3,7	1047,3 ± 3,6	1044,5 ± 3,6	1044,5 ± 3,6	**	NS				
CE (dS/m)	35,0 ± 1,2 <sup>y</sup>	27,2 ± 0,8 <sup>x</sup>	27,7 ± 1,3 <sup>a</sup>	33,8 ± 1,3 <sup>b</sup>	31,7 ± 1,2 <sup>b</sup>	31,7 ± 1,2 <sup>b</sup>	***	***				
pH	7,58 ± 0,07	7,68 ± 0,05	7,58 ± 0,07	7,69 ± 0,07	7,62 ± 0,07	7,62 ± 0,07	NS	NS				
Temperatura (°C)	19,2 ± 0,6 <sup>x</sup>	24,3 ± 0,4 <sup>y</sup>	20,9 ± 0,6 <sup>a</sup>	21,0 ± 0,7 <sup>a</sup>	23,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	23,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	***	**				
Materia orgánica (g/kg MS)	777,2 ± 7,9	761,6 ± 5,8	763,9 ± 8,7	766,4 ± 8,5	777,9 ± 8,4	777,9 ± 8,4	NS	NS				
N orgánico (g/kg MS)	31,7 ± 1,0 <sup>y</sup>	28,9 ± 0,7 <sup>x</sup>	28,7 ± 1,1	30,8 ± 1,0	31,2 ± 1,0	31,2 ± 1,0	*	NS				
N amoniacal (g/kg MS)	37,1 ± 1,5 <sup>y</sup>	30,2 ± 1,1 <sup>x</sup>	27,1 ± 1,6 <sup>a</sup>	35,0 ± 1,6 <sup>b</sup>	38,8 ± 1,6 <sup>b</sup>	38,8 ± 1,6 <sup>b</sup>	***	***				
P (g/kg MS)	41,7 ± 1,2	43,5 ± 0,9	46,0 ± 1,3 <sup>b</sup>	42,0 ± 1,3 <sup>a</sup>	39,8 ± 1,3 <sup>a</sup>	39,8 ± 1,3 <sup>a</sup>	NS	***				
K (g/kg MS)	61,4 ± 3,2	64,5 ± 2,4	57,3 ± 3,5	64,3 ± 3,4	67,2 ± 3,4	67,2 ± 3,4	NS	NS				
<b>Valor fertilizante</b>												
N amoniacal (kg/m <sup>3</sup> )	4,4 ± 0,2 <sup>y</sup>	3,7 ± 0,1 <sup>x</sup>	3,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	**	**				
N total (kg/ m <sup>3</sup> )	8,2 ± 0,3	7,5 ± 0,3	7,4 ± 0,4	8,2 ± 0,4	8,0 ± 0,4	8,0 ± 0,4	NS	NS				
P (kg/ m <sup>3</sup> )	5,1 ± 0,4	5,7 ± 0,3	6,2 ± 0,4 <sup>b</sup>	5,3 ± 0,4 <sup>ab</sup>	4,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	4,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	NS	*				
K (kg/ m <sup>3</sup> )	7,3 ± 0,3	7,8 ± 0,2	7,4 ± 0,4	7,9 ± 0,4	7,4 ± 0,4	7,4 ± 0,4	NS	NS				

(NS>0,10; \*p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001). CE: conductividad eléctrica

(<sup>x,y</sup>)Indican diferencias significativas (P<0,05) entre épocas, (<sup>a,b,c</sup>)Indican diferencias significativas (P<0,05) entre fases

## EFFECTOS DEL NIVEL DE PROTEÍNA Y FIBRA DE LA RACIÓN SOBRE LA EMISIÓN DE GASES (NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O Y CH<sub>4</sub>) EN CERDAS LACTANTES

Medina, I., Álvarez-Rodríguez, J., Seradj, A.R., Morazán, H., Balcells J. y Babot, D.  
Departament Producció Animal. Universitat de Lleida. Av. Rovira Roure 191. 25198 Lleida  
E-mail: jalvarez@prodan.udl.cat

### INTRODUCCIÓN

La cerda reproductora afronta una elevada demanda de nutrientes derivada de su creciente productividad. Durante la lactación, se produce un desfase entre su capacidad de ingestión de alimento y las necesidades asociadas a la producción de leche, que conlleva una movilización de nutrientes desde las reservas corporales hacia esta función fisiológica. Por ello, las raciones en esta fase tienen una elevada concentración de energía y proteína, lo que puede reducir la digestibilidad y/o eficiencia de utilización de las mismas (Theil et al., 2004) e incrementar la emisión de gases nocivos para la salud y/o el medio ambiente (BREF, 2003). Una de las estrategias para reducir la excreción de nitrógeno (N) consiste en combinar un incremento de la calidad de la proteína (mediante la incorporación de aminoácidos sintéticos) y así reducir los niveles de proteína bruta (PB), junto con un incremento en el aporte de fibra digestible (FND) para mejorar el tránsito intestinal y modificar el patrón de excreción del nitrógeno de la orina a las heces (Morgan y Whittemore, 1988). En este ensayo, se planteó la hipótesis de que la combinación de niveles de proteína reducidos y fibra elevada permitirían reducir la emisión de gases (NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O y CH<sub>4</sub>) sin penalizar los resultados productivos de cerdas lactantes.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 cerdas primíparas híbridas (Landrace x Duroc Blanco) x Large-White (PIC Improvement Company, Cheshire, Reino Unido), alojadas individualmente desde la semana previa al parto (12,9±4,5 mm grasa subcutánea en P2) en salas de maternidad con ambiente controlado (20-25 °C). Tras el parto y una vez equilibradas las camadas (9,8±0,7 lechones) las cerdas se distribuyeron al azar en 4 dietas isoenergéticas (89,3% materia seca, MS; 3000 kcal EM/kg) con concentraciones de lisina total similares (0,95-1%) pero con dos niveles de PB (control, 15% vs. bajo, 12%) y fibra neutro-detergente (FND) (control, 18% vs. alta, 22%) siguiendo un diseño factorial 2 x 2 cruzado en cuadrado latino en 4 bloques al azar (36 días de lactación, 9 días de duración por fase). Cada periodo experimental constó de una fase de adaptación a la dieta (6 días) y una fase de medidas (3 días). Los piensos fueron formulados con aminoácidos sintéticos (L-lisina, L-treonina y L-triptófano) para cubrir los requerimientos nutricionales y el equilibrio de proteína ideal.

El primer día de lactación se ofrecieron 3 kg de pienso/cerda, y se adaptó posteriormente la oferta de pienso al consumo (+0,5 kg/día), hasta un máximo de 7 kg. Las dietas se ofrecieron mezcladas con agua (2:1), en 3 raciones/día (9, 13 y 18 h). Las cerdas tuvieron acceso de agua suplementaria *ad libitum*. Los lechones recibieron hierro dextrano (Dextrafer-200, Laboratorios Syva, León, España) y coccidiostático (Tratol, Pfizer Salud Animal, Alcobendas, España) en el 5º día de edad y se les suministraron 75 g/lechón al día de pienso iniciador (19,5 %PB, 1,4% lisina total, 6,2% grasa) en la 3ª fase (a partir del día 19 de lactación) y 200 g/lechón al día del mismo pienso en la 4ª fase.

Se controló diariamente durante la lactación el consumo de cada cerda a partir del peso del pienso ofrecido y rehusado. Se tomaron muestras (50 g) de alimento ofrecido (1 vez/semana) y rechazado (1 vez/día) para determinar su MS en estufa a 60 °C con ventilación forzada hasta peso constante. Así mismo, se midió diariamente el consumo de agua a través de contadores volumétricos individuales. Durante el periodo de medidas al final de cada fase (días 6 a 9), los animales se alojaron en cámaras de respiración individuales (1,85 m ancho x 2,2 m largo x 2 m altura inferior) que contaban con un sistema de ventilación forzada con un flujo de aire (79,5±4,1 m<sup>3</sup>/h) programado para mantener la temperatura entre 22-25 °C y la humedad relativa entre 55-65%. En dichas cámaras se alojaron simultáneamente madres y lechones y éstas permitían a su vez la recogida conjunta del purín [heces+orina]. Al inicio y final del periodo de medida de cada fase, se midió el peso vivo (PV) y el espesor de grasa subcutánea lumbar (P2) de cada cerda y el PV de sus lechones. Así mismo, se recogió diariamente el purín excretado y se midió *in situ* pH y conductividad eléctrica (CE) (MM40; Crison Instruments S.A., Alella, España).

La concentración ambiental de  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  y  $\text{CH}_4$  en las cámaras se determinó en los últimos 2 días de cada fase, con un equipo de fotoacústica (1412 Photoacoustic Field Gas-Monitor, Innova Airtech Instruments Type 7300, Ballerup, Dinamarca). El aire expulsado se muestreó de forma continua (16 ml/s; calibrados mediante Alltech Associates Inc., Illinois, EEUU.) mediante una bomba peristáltica (Model Minipuls 3, Gilson Inc, WI, EEUU), conectada a bolsas de plástico inertes que se vaciaron y muestrearon cada 3 h [de 9 am a 9 h pm] y 12 h [de 9 pm a 9 am]. La emisión de las deyecciones se midió en cámaras dinámicas [2 l, 0,05 m<sup>2</sup>] conectadas a un circuito de aire impulsado por una bomba peristáltica calibrada para un flujo constante (0,3 ml/s) donde se recogió en las bolsas de plástico herméticas, el muestreo fue análogo a las cámaras de respiración. La cantidad de purín incubado en las cámaras dinámicas fue proporcional a su producción diaria (cerda + lechones/kg) y la superficie de recogida (4,07 m<sup>2</sup>). La emisión (unidades; g/día) se estimó a partir del producto de la concentración (g/m<sup>3</sup>) por el caudal de aire (m<sup>3</sup>/día).

Los datos se analizaron con el procedimiento MIXED de SAS (versión 9.1., SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU), mediante un análisis de varianza que consideró como efectos fijos el nivel de proteína (normal vs. bajo) y de fibra (normal vs. alto), el bloque (lote 1 vs. lote 2) y sus interacciones dobles, y como efecto aleatorio la cerda.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cerdas alimentadas con la dieta control (niveles normales de PB y FND) mostraron mayores niveles de consumo que el resto (6,3 vs. 5,7±0,2 kg MS/día, P<0,05). Sin embargo, esto no se tradujo en diferencias en el peso o el espesor de grasa dorsal de las cerdas, que no se vieron afectados por el nivel de PB o FND de la dieta (181,2±5,2 vs. 176,3±5,0 kg, 8,9±0,6 vs. 8,4±0,6 mm, a inicio y fin de cada periodo experimental, P>0,10). Así mismo, el nivel de PB y de FND no afectó al consumo de agua de las cerdas (17,5±2,5 l/día, P>0,10). La ganancia media diaria de los lechones cuyas madres consumían la ración control en PB fue superior a los de aquellas que ingirieron las raciones con bajas concentraciones de PB (303 vs. 220±8 g/día, P=0,01), mientras que los lechones de las cerdas que consumían las raciones control en FND tendieron a ganar más peso que los de aquellas que ingirieron las raciones con elevadas concentraciones de FND (270 vs. 253±8 g/día, P=0,07).

La excreción de purín fue superior en las dietas control en PB que en las bajas en PB (2,52 vs. 2,07±0,2 kg MS, P=0,05), mientras que en nivel de FND no afectó a la cantidad de purín excretado (2,3±0,2 kg MS, P>0,10). En la misma línea, el pH del purín de aquellas cerdas que consumían las raciones control en PB fue superior al de aquellas que consumieron las que contenían una baja concentración en PB (7,3 vs. 6,3±0,3, P<0,05), aunque no se apreciaron diferencias asociadas al nivel de FND (6,8±0,3, P>0,10). La conductividad eléctrica (CE) del purín, como un índice de la concentración de macronutrientes del purín (Moral et al., 2005), fue inferior en las cerdas alimentadas con la dieta de baja concentración en PB y alta en FND que en el resto de raciones (10,8 vs. 13,8±1,2 dSU/m, P<0,05). La temperatura del purín no se vio alterada por el nivel de PB o de FND de la ración (19,9±0,5 °C, P>0,10).

En relación a la emisión entérica (ambiente) de  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  y  $\text{CH}_4$ , únicamente la emisión de  $\text{NH}_3$  se redujo (P<0,10) al reducirse la concentración de PB de la ración. Esta respuesta confirmaría los valores registrados en cerdos de engorde con una metodología similar (Morazán et al., 2013). La emisión de gases del purín (cámaras de incubación dinámicas) mostró variaciones asociadas con el nivel de PB y con la FND de la ración (Tabla 1). Así, el purín de los animales que ingirieron las raciones con una menor concentración de PB mostraron una mayor emisión de  $\text{NH}_3$  (P<0,10) y  $\text{N}_2\text{O}$  (P<0,001) que los purines provenientes de las raciones con un nivel PB control, mientras que los purines de aquellos animales que ingirieron las raciones con una elevada concentración de FND emitieron menos metano (P<0,001). Estos resultados no confirmarían la relación positiva entre ingestión de PB y emisión de  $\text{NH}_3$  (Portejoie et al., 2004) o entre fibra y metano (Jarret et al., 2012). Sin embargo, en incubaciones de purín realizadas a corto plazo, no se registraron variaciones en las emisiones de  $\text{NH}_3$  procedentes de raciones de características bromatológicas diferenciadas (Hernández et al., 2011), o en las condiciones de temperatura naturales de almacenamiento del purín en las fosas de deyecciones. En este sentido, Otto et al. (2003) indicaron que la reducción de la emisión de  $\text{NH}_3$  sería únicamente detectable cuando se reduce el nivel de PB de la ración hasta el óptimo de utilización del nitrógeno

ingerido. La emisión de gases procedente de las deyecciones fue irrelevante (entre el 0,13% del total para el caso del NH<sub>3</sub> y el N<sub>2</sub>O y el 0,92% del total en el caso del CH<sub>4</sub>). Probablemente, la recogida diaria no permitió la fermentación anaeróbica de la materia orgánica del purín que da lugar a una considerable producción de CH<sub>4</sub>, que puede llegar a representar el 25% de la emisión total en sala cuando el período de almacenamiento de las deyecciones es de 7 días (Morazán et al., 2013).

Los efectos de la PB y la FND de la dieta no interactúan en la emisión de gases (NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O y CH<sub>4</sub>). La reducción del nivel de PB fue más efectiva que el incremento de FND para modificar la emisión de gases entérica en cerdas lactantes.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto CICYT AGL 2010-20820. A.R. Seradj disfruta de una beca AGAUR FI-DGR 2013.

**Tabla 1.** Emisión de total gases entéricos (g/día; cámara respiración) y en las deyecciones (mg/día; cámaras de incubación dinámicas) procedentes de cerdas lactantes alimentadas con raciones formuladas con diferentes niveles de proteína bruta (PB) y fibra neutro-detergente (FND).

	PB		FND		Error estándar	Nivel de significación	
	Normal	Baja	Normal	Alta		PB	FND
<b>Ambiente (camaras de respiración)</b>							
NH <sub>3</sub>	1,40 <sup>a</sup>	1,11 <sup>b</sup>	1,37	1,14	0,15	0,07	NS
N <sub>2</sub> O	0,85	0,91	0,98	0,78	0,26	NS	NS
CH <sub>4</sub>	14,11	13,54	14,37	13,28	1,68	NS	NS
<b>Purín (cámaras de incubación dinámicas)</b>							
NH <sub>3</sub>	1,31 <sup>b</sup>	2,05 <sup>a</sup>	1,88	1,48	0,27	0,06	NS
N <sub>2</sub> O	0,46 <sup>b</sup>	1,65 <sup>a</sup>	1,27	0,84	0,36	***	NS
CH <sub>4</sub>	137,4	118,3	169,6 <sup>a</sup>	86,1 <sup>b</sup>	16,0	NS	***

Letra distinta en el mismo factor y fila indica diferencias significativas (P<0,10). La interacción entre PB y FND no afectó significativamente a ningún parámetro (P>0,10).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BREF. 2003. EU Commission, Spain • Hernández, F., Martínez, S., López, C., Megías, M.D., López, M. & Madrid, J. 2011. *Animal* 5(8): 1290-1298 • Jarret, G., Cerisuelo, A., Peu, P., Martínez, J. & Dourmad, J.Y. 2012. *Agric. Ecosys. Environ.* 160: 51-58 • Moral, R., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J. & Paredes, C. 2005. *Waste Management* 25: 719-725 • Morgan, C.A. & Whittemore, C.T. 1988. *Anim. Feed Sci. Technol.* 19: 185-189 • Morazán, H., Seradj, A.R., Contreras, D., Medina, I., Álvarez-Rodríguez, J., Babot, D. & Balcells, J. 2013. *AIDA* (en prensa) • Otto, E.R., Yokoyama, M., Hengemuehle, S., Bermuth, R.D., van Kempen, T. & Trotter, N.L. 2003. *J. Anim. Sci.* 81: 1754-1763 • Portejoie, S., Dourmad, J.Y., Martinez, J., & Lebreton, Y. 2004. *Liv. Prod. Sci.* 91: 45-55 • Theil, P.K., Jørgensen, H. & Jakobsen, K. 2004. *Liv. Prod. Sci.* 89: 265-276.

#### EFFECTS OF PROTEIN AND FIBRE LEVEL ON GASEOUS EMISSION (NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O AND CH<sub>4</sub>) FROM LACTATING SOWS

**ABSTRACT:** Eight primiparous lactating sows were used to assess the effect of protein (15 vs. 12% CP) and fibre (18 vs. 22% NDF) levels on gas emissions (NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O AND CH<sub>4</sub>) in a factorial crossed-over design (36 days of lactation, 9 days each phase). Sows provided 15% CP and 18% NDF showed greater feed intake than the rest (P<0.05), but their live-weight and backfat thickness did not differ among treatments (P>0.10). Only environmental NH<sub>3</sub> emission was reduced by decreasing dietary CP level (P<0.10) while N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> were least affected (P>0.10).

**Keywords:** swine, feed, diet, intake, slurry, environment.



## CUANTIFICACIÓN DE LA EMISIÓN DE CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O Y NH<sub>3</sub> EN GANADO PORCINO DE CEBO: EFECTO DEL NIVEL DE DE PROTEÍNA Y FIBRA DE LA RACIÓN

Morazán, H., Seradj, A.R., Contreras, D., Medina, I., Álvarez-Rodríguez, J., Babot, D., Balcells, J.

Departament de Producció Animal ETSEA, Universitat de Lleida. 25198 Lleida. España.  
E-mail: balcells@prodan.udl.cat

### INTRODUCCIÓN

La producción intensiva de ganado porcino en España se concentra en determinadas zonas geográficas y su desarrollo conlleva un impacto relevante a nivel medioambiental. La producción y gestión de deyecciones es el problema más acuciante, aunque la toxicidad medioambiental de ciertos gases emitidos cobra cada día mayor relevancia (Flotats y Campos, 2001). Por su importancia podemos destacar la emisión de amoníaco (NH<sub>3</sub>), metano (CH<sub>4</sub>) y óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), cuyo impacto se relaciona directa o indirectamente con el efecto invernadero (Blanes-Vidal et al., 2008). El metano se genera en los procesos de fermentación anaeróbica de carbohidratos en los compartimientos digestivos (Jørgensen et al., 2011) mientras que la degradación de la urea urinaria y deficiencias en el proceso de nitrificación de las deyecciones son las responsables de la emisión de NH<sub>3</sub> y N<sub>2</sub>O. En el presente trabajo se pretende cuantificar la emisión gaseosa en porcino (fase de cebo dividida en 3 periodos) y el impacto que, sobre dicha emisión, pueden ejercer algunas modificaciones en la composición de la ración (nivel de proteína y nivel de fibra).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron las instalaciones del CEP (Centre d'Estudis porcíns de Catalunya, Torrelameu s/n. Lleida) para albergar 64 híbridos Landrace x Large-White (Nucleus S.A.S, Le Rheu, Francia) (machos, distribuidos en cuatro módulos semi-emparrillados (16 animales/módulo) y éstos a su vez en 4 corrales (4 animales/corral). El período experimental (105 días) se dividió en tres fases de idéntica duración, 35 días (inicio el 27/3/2012), simulando el protocolo utilizado en granjas comerciales [Fase I (de 12 a 40 Kg); Fase II (41 a 70 Kg) y Fase III (71 a 105 Kg)]. Los cerdos de cada módulo recibieron raciones experimentales formuladas siguiendo las recomendaciones NRC (2012) en base a cereal, torta de soja como fuente de proteína bruta (PB) y pulpa de remolacha como fuente de fibra neutro-detergente (FND). Para cada fase experimental se formuló una ración control cuyos niveles de PB se redujeron progresivamente con la fase de crecimiento (18, 15,5 y 13,2% respectivamente para las fases I, II y III), y se utilizaron aminoácidos sintéticos (L-lisina, DL-metionina, L-treonina y L-triptófano) para cubrir los requerimientos nutricionales y el equilibrio de proteína ideal. Adicionalmente, en cada fase la ración control (CTR) se incrementó en un 2, 3,5 y 5%, respectivamente (Fase I, II y III) de PB (AP), de FND (AF) o de ambas (APAF). Semanalmente, se determinaron los ritmos de crecimiento a través de registros de peso individual, se registró la ingestión por corral (oferta-rehusado), mientras que la emisión de gases se cuantificó para cada módulo/fosa. Dentro de cada fase, 21 días se destinaron a la adaptación de los animales a las raciones experimentales y los últimos 14 a las determinaciones experimentales.

La emisión total (*Emisión en sala*) se determinó para cada módulo/fosa, que se gestionó como un compartimento estanco provisto de un sistema controlado de renovación de aire. Se estimó el flujo de aire a la entrada y salida (procedimiento AMCA, 1990) utilizando un anemómetro (Testo 425 tipo 5412983, Lenzkirch, Alemania) y se complementó con el muestreo continuo del aire de ambas fracciones, chimenea de extracción y entrada de aire. El muestreo se realizó mediante una bomba peristáltica (Gilson, Minipuls-3 Peristaltic Pump, SAS Francia; 16,5 ml/min [determinando el flujo mediante un medidor de flujo Digital Flow Check-HRTM Part No. 5700]) y el aire muestreado se almacenó en bolsas de material plástico inerte. La emisión se determinó durante 48 h consecutivas y se procedió al muestreo por duplicado de las bolsas cada 3 h a partir de las 9 am y cada 12 h a partir de las 9 pm. La cuantificación de la emisión de las deyecciones (*Emisión en fosa*), que se realizó de forma simultánea a la determinación de la emisión en sala, se realizó siempre tras 7 días de

almacenamiento del purín. La recolección de gases se realizó en campanas de flujo dinámicas [283 cm<sup>2</sup> Ø x 43 cm] con laterales semi-abiertos que permitían el intercambio del purín pero no de gases. Las campanas se ubicaron por duplicado en cada una de las fosas de deyecciones. El flujo de aire continuo (1 l/h o 3,5 ml/cm<sup>2</sup>/h) pretendió simular la ventilación natural de las deyecciones y se controló mediante la bomba peristáltica. El procedimiento de recogida de aire fue idéntico al descrito en la emisión en sala.

*Determinaciones químicas:* La cuantificación de los gases objeto del presente estudio se realizó mediante un analizador foto acústico estandarizado a 20 °C (INNOVA 1412 Photoacoustic Field Gas-Monitor Thermo). Los datos se analizaron como diseño en bloques al azar. El modelo incluyó: fase, nivel de proteína y fibra y sus interacciones como factores fijos, los días como medidas repetidas y los animales dentro de cada fase como efectos aleatorios. Los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico SAS (SAS 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La temperatura y humedad relativa media [25,1±0,84, 23,3±2,5 y 27,1±3,1 (°C); 50,3±8,2, 60,9±8 y 58,9±17,8 (% HR) para Fase I, II y III, respectivamente] se sitúan en el rango descrito para esta zona y época del año. El flujo o renovación de aire (m<sup>3</sup>/h) registrado como promedio para cada período de muestreo (n=4; módulos) fue de 336±25, 586±49 y 1427±216, para fases I, II y III, respectivamente. Las emisiones se cuantificaron en las tres fases de crecimiento cuando los animales registraron un peso medio de (33, 66 y 102 kg en las Fases I, II y III, respectivamente), los ritmos de crecimiento (846, 1073 y 981 g/d para las Fase I, II y III) así como las ingestiones (1,48, 2,54 y 2,97 kg/d para FI, II y III) se sitúan en los rangos descritos para esta especie en condiciones comerciales de explotación. El efecto del tratamiento experimental sobre la emisión de total de gases (emisión en sala) y la procedente de las deyecciones (emisión en fosa) se resumen, de forma respectiva, en las Tablas 1 y 2. La emisión de NH<sub>3</sub> osciló entre 26,2 y 51,8 mg/kgPV<sup>0,75</sup>, cuando la emisión diaria fue expresada en peso metabólico o por individuo (0,52 y 2,4 l/cerdo) y fue modificada de forma significativa por el tratamiento experimental. Así, la emisión de NH<sub>3</sub> (mg/kg PV<sup>0,75</sup>/día) varió con la fase de cebo (24 vs. 47 y 50 para las fases II, I y III, respectivamente), incrementó con el nivel de proteína (48,7 vs. 33,3 para AP y BP, respectivamente) y tendió a disminuir (P<0,1) con el de fibra (32,2 vs. 49,9 para AF y NF, respectivamente). Adicionalmente, es necesario señalar que el efecto de los factores principales (Proteína y Fibra) no fueron constantes e interaccionaron de forma significativa con la fase de crecimiento (Tabla 1). La emisión de NH<sub>3</sub> de las deyecciones (0,3, 0,13 y 0,09 % de la emisión total, en las FI, II y III, respectivamente) fue irrelevante. La emisión diaria de CH<sub>4</sub> osciló entre los 134,0 a 283,4 mg/kg PV<sup>0,75</sup> o entre los 4,1 y 13,9 l/animal/día. En este caso, la emisión en fosa (25 % de la emisión total) fue relevante y modificada por el tratamiento experimental. Si bien es cierto que la suplementación con fibra digestible (FND) incrementó la emisión total [incrementos porcentuales que variaron, respectivamente, entre el 14,6, 48 y 37% en relación a los registros de la ración CTR en las fases I, II y III respectivamente (P<0,05)], no obstante, cuando los valores se expresaron por unidad de PV<sup>0,75</sup> las diferencias fueron prácticamente irrelevantes. La relación positiva entre la ingestión de fibra digestible y la emisión entérica de metano ha sido descrita previamente (Jørgensen et al., 2011). La emisión de CH<sub>4</sub> de las deyecciones incrementó con la fase de crecimiento (6,7, 15,0 y 41,3 mg/PV<sup>0,75</sup> para las fases I, II y III, respectivamente) y dicha emisión interaccionó con el nivel de fibra de la ración (Interacción Fibra x fase; P<0,05), aún cuando éstas se expresaron en términos de PV<sup>0,75</sup> (factor directamente relacionado con los niveles de ingestión voluntaria) (Tabla 2). Tras el destete se apreció un ligero efecto de la proteína sobre la emisión de CH<sub>4</sub> que fue desapareciendo paulatinamente con el desarrollo de los animales (Interacción Proteína x Fase, P<0,05). La emisión diaria de N<sub>2</sub>O osciló entre los 0,03 a 0,38 mg/kg PV<sup>0,75</sup> o entre los 2,1<sup>-4</sup> a 6,8<sup>-3</sup> l/animal/día, y no se apreció una relación positiva con la concentración de proteína en la ración. Contrariamente, la emisión de N<sub>2</sub>O sí pareció relacionarse con la presencia o exceso de fibra digestible. Como sucedió con el amoníaco, la emisión de N<sub>2</sub>O procedente de las deyecciones fue despreciable.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• AMCA. 1990. Arlington Heights, Ill. Publication 203-90. • Blanes-Vidal, V., Hansen, M., Pedersen, S., Rom, H. 2008. Agric. Ecosyst. Environ. 124: 237-244. • Flotats, X., Campos, E. 2001. Retema 14 (81) 41-53. • Jørgensen, H., Theil, P., Bach, K. 2011. Planet Earth 2011. ISBN: 9533077338. • NRC. 2012. 11th Edition.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto CICYT, referencia AGL 2010-20820. Seradj, A.R. disfruta beca AGAUR FI-DGR 2013.

**Tabla 1.** Emisión (mg/kg PV<sup>0.75</sup>/día) total en sala de NH<sub>3</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O en cerdos en crecimiento determinado la emisión gaseosa en 3 fases (PV= 33, 66 y 102 kg)

Gas	Fase	Proteína (P)		Fibra (F)		Error estándar	Nivel significación				
		Alto	CTR	Alto	CTR		fase	P	F	P*fase	F*fase
NH <sub>3</sub>	F1	68,8 <sup>a,x</sup>	26,2 <sup>b,y</sup>	25,3 <sup>b,y</sup>	69,6 <sup>a,y</sup>	5,87	***	**	ns	***	***
	F2	26,5 <sup>y</sup>	22,0 <sup>y</sup>	23,1 <sup>y</sup>	25,4 <sup>y</sup>						
	F3	50,9 <sup>x</sup>	51,8 <sup>x</sup>	48,0 <sup>x</sup>	54,7 <sup>x</sup>						
CH <sub>4</sub>	F1	223,6	189,2	220,1	192,6	30,77	*	ns	ns	*	ns
	F2	162,2	170,8	198,9	134,0						
	F3	265,3	224,6	283,4	206,6						
N <sub>2</sub> O	F1	5,9	2,8 <sup>y</sup>	2,7 <sup>y</sup>	5,9	4,22	***	*	*	ns	0,07
	F2	9,1	11,9 <sup>y</sup>	8,8 <sup>y</sup>	12,2						
	F3	16,4 <sup>b</sup>	37,9 <sup>a,x</sup>	34,5 <sup>x</sup>	19,8						

**Tabla 2.** Emisión (mg/kg PV<sup>0.75</sup>/día) procedente de las deyecciones (Emisión en fosa) de NH<sub>3</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O en cerdos en crecimiento determinado la emisión gaseosa en 3 fases

Gas	Fase	Proteína (P)		Fibra (F)		Error estándar	Nivel significación				
		Alto	CTR	Alto	CTR		fase	P	F	P*fase	F*fase
<sup>s</sup> NH <sub>3</sub>	F1	16,2 <sup>x</sup>	10,4 <sup>x</sup>	10,4 <sup>x</sup>	16,2 <sup>x</sup>	1,52	***	ns	*	0,06	0,09
	F2	2,7 <sup>y</sup>	3,4 <sup>y</sup>	3,6 <sup>y</sup>	2,6 <sup>y</sup>						
	F3	4,1 <sup>y</sup>	4,8 <sup>xy</sup>	2,9 <sup>y</sup>	6,0 <sup>xy</sup>						
CH <sub>4</sub>	F1	11,8 <sup>y</sup>	1,6 <sup>z</sup>	2,9 <sup>z</sup>	10,6 <sup>y</sup>	2,82	***	ns	**	*	***
	F2	12,9 <sup>y</sup>	17,2 <sup>y</sup>	17,6 <sup>y</sup>	12,3 <sup>y</sup>						
	F3	38,9 <sup>x</sup>	43,9 <sup>x</sup>	31,8 <sup>b,x</sup>	50,1 <sup>a,x</sup>						
<sup>s</sup> N <sub>2</sub> O	F1	5,5 <sup>a</sup>	2,6 <sup>b</sup>	2,2 <sup>b</sup>	5,7 <sup>a</sup>	0,70	*	*	**	**	ns
	F2	2,7	4,0	2,7	4,0						
	F3	2,7	1,0	1,6	2,0						

<sup>s</sup>: valores x10<sup>2</sup>; ESM: error estándar de la media; F: efecto fibra; P: efecto proteína; F\*fase y P\*fase: efecto interacción fibra y proteína por fase; ns= no significativo P>0,1; \*= P<0,5; \*\*= P<0,01; \*\*\*= P<0,001; <sup>ab</sup> Medias en misma fila para el efecto proteína o fibra con diferente subíndice difieren estadísticamente (P<0,05); <sup>xyz</sup> Medias en la misma columna con diferente subíndice difieren entre fases (P<0,05).

## QUANTIFICATION OF CH<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub> AND N<sub>2</sub>O EMISSION FROM GROWING-FINISHING PIGS: THE EFFECT OF PROTEIN AND FIBRE LEVELS IN THEIR RATION

**ABSTRACT:** The objective was to evaluate the effect of the protein and fiber levels on the greenhouse gases emission from growing-finishing pigs and determining their origin (enteric or pit). 64 growing-finishing pigs were used in 3 phases of 35 days, fed 2 levels of protein and neutral-detergent fiber in each phase. The CH<sub>4</sub> emission from intensive commercial raising conditions varied from 0.2 to 0.3 l/kgPV<sup>0.75</sup>/day, which 1.3 to 25% originate from pits. The increase in fiber level caused an increase in total CH<sub>4</sub> emission, which was 14.6, 48 and 37% compared to normal fiber level in the first, second and third phase of study, respectively. The protein level did not change total and pit CH<sub>4</sub> emission, and NH<sub>3</sub> emission from the pits as well as the fiber level did not affect the total N<sub>2</sub>O emission. The N<sub>2</sub>O originated from the pits did not reach more than 1% of their total emissions.

**Keywords:** greenhouse gases, ammonia, methane, nitrous oxide, gas emission.

## LA GANADERÍA EN EL ENTORNO DE UNA ESTACIÓN DE ESQUÍ DEL PIRINEO. 1. DIAGNÓSTICO DE SITUACIÓN

Casasús I., Rodríguez-Sánchez J.A., Sanz A.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón.  
Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. icasasus@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

En algunas zonas de montaña la ganadería coexiste con estaciones de esquí que modifican las circunstancias socioeconómicas de su entorno, dando lugar a sinergias pero también a relaciones de competencia en ciertos aspectos. La simbiosis se basa en que el pastoreo de verano es un recurso fundamental para la alimentación de los rebaños, y la estación se beneficia del consumo del pasto por el ganado, que permite la conservación del manto nival en invierno; el antagonismo podría resultar de la competencia por usos de la tierra y mano de obra (Lasanta *et al.*, 2007). Aunque las estaciones se ubican en las zonas pastorales de mayor altitud (puertos que los rebaños aprovechan en verano (Casasús *et al.*, 2002)), su existencia puede influir en todo el sistema de producción.

Para determinar el efecto de una estación de esquí sobre los sistemas ganaderos desarrollados en su entorno, se llevó a cabo una encuesta estructurada a los ganaderos usuarios de pastos en una estación de esquí del Pirineo aragonés. En ella se recogieron aspectos relativos a la estructura del rebaño, base territorial, manejo del ganado y mano de obra, y se compararon con los observados en otras áreas similares.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el entorno de la estación de esquí de Aramón-Panticosa, ubicada entre los municipios de Panticosa y Hoz de Jaca (Huesca), en los que sólo el 2.5% de la población activa se dedica a la agricultura. De las 22 explotaciones ganaderas censadas, sólo el ganado vacuno y equino aprovechaba los pastos de verano del área de la estación de esquí (297 ha). Por ello, se realizó una encuesta estructurada mediante entrevista directa a los 10 titulares de explotaciones de vacuno y equino, considerando:

- *Factor trabajo*: características del titular, dedicación de la mano de obra.
- *Tamaño y estructura del rebaño*: censo de ganado y distribución por sexos y edades.
- *Uso del territorio*: superficies aprovechadas por el ganado, titularidad y tipo de pastos.
- *Manejo del rebaño e índices productivos*: alimentación, manejo reproductivo y rendimientos técnicos del rebaño en la campaña 2010-2011. Se cuestionó sobre el nº de partos, abortos, crías muertas, reposición propia y venta de animales para vida, cebo o sacrificio. A partir de estos datos se calcularon diversos índices:
  - fertilidad a término: nº de hembras paridas / nº de hembras en cubrición
  - tasa de abortos: nº abortos / (nº abortos + partos viables)
  - mortalidad de las crías: nº de crías muertas / nº de crías nacidas
  - tasa de reposición propia: nº de hembras de recría / nº de hembras del rebaño
  - productividad a la venta: nº de crías vendidas / nº de hembras del rebaño

Se ha realizado un análisis estadístico descriptivo, se presentan la media  $\pm$  desviación típica para las variables cuantitativas y las frecuencias en las categóricas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los rebaños de los 10 ganaderos encuestados sumaban un censo de 370 UGM de ganado vacuno y 132 UGM de ganado equino (de las que 314 eran vacas y 75 yeguas adultas). Seis rebaños eran exclusivamente de vacuno, 2 sólo de equino y el resto mixtos.

• *Factor trabajo*: Los titulares eran hombres, con una edad de  $48 \pm 11.7$  años, dato similar al descrito en otras áreas del Pirineo y que refleja una relativa escasez de jóvenes al frente de las explotaciones (Solano, 2012). El 60% de los encuestados tenía otra actividad distinta a la ganadería, principalmente en el sector terciario, proporción mayor a la descrita en otras zonas del Pirineo (25% en Bernués *et al.*, 2006). Aunque la pluriactividad puede llevar en algunas zonas al abandono de la agricultura (López i Gelats *et al.*, 2011), en otras puede contribuir a su capitalización y continuidad (Riedel *et al.*, 2007).

- **Tamaño y estructura del rebaño:** El tamaño medio del rebaño era de  $53 \pm 32.1$  UGM totales, de las cuales el 70% correspondía a ganado vacuno, 25% a equino y un 5% a ovino.

Las explotaciones de ganado equino eran de raza Hispano-Bretón y constaban de  $33 \pm 41.5$  UGM, con un tamaño muy diverso. La mayoría era de menos de 20 UGM, similar a la media descrita por TRAGSEGA (2003) en ganaderías españolas de equino de carne.

Las ganaderías de vacuno tenían madres principalmente de raza Parda de Montaña y, en menor medida, Pirenaica, criando el ganado en pureza (57%) o con cruces mejorantes de la producción de carne o facilidad de parto. Constaban de  $52.9 \pm 22.5$  UGM (45 vacas adultas), censo análogo al descrito por Blanco *et al.* (2009) en ganaderías aragonesas de raza Parda de Montaña y a la media nacional (MARM, 2010).

- **Uso del territorio:** Todas las explotaciones utilizaban prados de fondo de valle propios o arrendados, aprovechados a diente o para producir heno ( $1034 \pm 426$  kg heno / UGM). La producción de heno era insuficiente para mantener a los animales durante los largos periodos de suplementación invernal, lo que hacía necesario adquirir forrajes o piensos externos. Todas aprovechaban en verano los puertos comunales, y un 50% de las ganaderías (las de mayor tamaño) realizaban trashumancia fuera del valle en invierno, a pastos forestales o cultivos forrajeros.

- **Manejo del Rebaño e Índices Productivos**

a) Ganado equino

La reproducción de las yeguas se realizaba por monta natural, con cubriciones en primavera-verano o monta continua, y con un primer parto de las potras a los 3.5-4 años. Los animales aprovechaban prados del valle en primavera y otoño ( $102 \pm 49$  días), puertos en verano ( $143 \pm 30$  días), y en invierno permanecían al aire libre con suplementación o trashumaban fuera del valle ( $120 \pm 17$  días), liberando mano de obra. El manejo es análogo al descrito por TRAGSEGA (2003) en explotaciones equinas españolas de tipo extensivo.

Los índices productivos de la campaña 2010-2011 se indican en la Tabla 1. El alto valor medio de la fertilidad a término indica un buen manejo de las cubriciones y del rebaño en general, lo que junto a la baja tasa de abortos indicaría ausencia de patologías ligadas a la reproducción. La tasa media de reposición fue relativamente alta, ya que uno de los rebaños estaba en fase de expansión. Todas las ganaderías se dedicaban a la producción de carne, vendiendo los potros tras el destete (pasteros, 6 meses de edad) o cebándolos para venderlos como quincenos (18 meses), con destino final siempre fuera del valle de origen.

b) Ganado vacuno

La cubrición se realizaba por monta natural, aunque el 86% de los ganaderos habían inseminado en alguna ocasión. La monta era continua todo el año (43%) o controlada, con retirada de los sementales durante  $99 \pm 29.7$  días, evitando partos en puerto en verano o durante la trashumancia invernal. La edad al primer parto se presentaba a los 2.5-3 años en la mayoría de las ganaderías (42%), con igual proporción de partos antes de los 2.5 años (29%) y después de los 3, como indican Blanco *et al.* (2009).

Las vacas aprovechaban prados del valle en primavera y otoño ( $71 \pm 16$  días) y puertos en verano ( $151 \pm 21$  días). En invierno, el 71% de los vaqueros estabulaba a todo o parte del rebaño, aunque el 57% trashumaba a pastos forestales fuera del valle ( $142 \pm 29$  días), bien con todo el rebaño o evitando llevar a los animales que requerían mayor atención (novillas, vacas en fase final de gestación o con cría). El periodo de suplementación alimenticia supuso  $62 \pm 75$  días, como describen Bernués *et al.* (2006) en otros valles del Pirineo. La amplia variabilidad de este dato se relacionaría con la creciente sustitución de estabulación por el aprovechamiento de pastos forestales en trashumancia durante la invernada.

Sólo el 57% de los ganaderos consideraron los datos de la campaña 2010-2011 (Tabla 1) como "normales", indicando en algún caso una fertilidad anormalmente baja (mínima de 56%) o alta mortalidad de terneros (máxima de 23%). Sin estas excepciones, la fertilidad media ( $\geq 80\%$ ) fue superior a las medias nacionales recientes (65 a 69% entre 2007 y 2009; MARM, 2010). La productividad a la venta fue muy variable entre ganaderías, y aunque coincide con la media nacional (0.65 terneros/vaca/año; MARM, 2010), presenta un amplio margen de mejora técnica. La tasa de reposición fue menor al 21% descrito por Blanco *et al.* (2009), y podría reflejar una trayectoria de estabilidad o incluso reducción de censos.

Todas las ganaderías habían abandonado el ordeño (hace  $22 \pm 4.9$  años) y producían exclusivamente terneros para carne, generalmente vendidos como pasteros y raramente cebados (14%). Como en el caso anterior, el destino de la producción siempre estaba fuera del valle, con la consiguiente pérdida en el valor añadido potencial que podría tener la comercialización de una carne ligada al territorio en el que se produce (Olaizola *et al.*, 2012).

En conclusión, los sistemas ganaderos en el entorno de la estación de esquí estudiada responden a patrones comunes en otras áreas del Pirineo, salvo por el hecho de que la mayoría de los ganaderos tienen otra actividad económica ligada al sector terciario. Los rebaños presentan las pautas de manejo tradicionales en los sistemas de montaña, si bien es destacable la creciente incorporación de la trashumancia invernal para alimentar en invierno con mínima mano de obra a cabañas que han aumentado en la última década.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernués *et al.*, 2006. *Informaciones Técnicas-DGA 172*: 1-8.
- Blanco *et al.*, 2009. XIII Jornadas Producción Animal A.I.D.A. 1: 388-390.
- Casasús *et al.*, 2002. *Journal of Animal Science* 80: 1638-1651.
- Lasanta *et al.*, 2007. *Tourism Management* 28: 1326-1339.
- López i Gelats *et al.*, 2011. *Land Use Policy* 28: 783-791.
- MARM, 2010. Informe, [www.marm.es](http://www.marm.es).
- Olaizola *et al.*, 2012. *ITEA* 108: 1-17.
- Riedel *et al.*, 2007. *Livestock Science* 111: 153-163.
- Solano, 2012. *Revista de Estudios Territoriales del Pirineo Aragonés* 11.
- TRAGSEGA, 2003. Informe, Ed. MARM. 357 págs.

**Agradecimientos:** A los ganaderos participantes y al personal de Aramón-Panticosa. Financiación procedente del Convenio PCTAD ARAMON-CITA-UniZar (089-10AC2 2011) e INIA (RTA2010-00057).

**Tabla 1.** Datos e índices productivos de los rebaños (campaña 2010-2011).

<b>Producción</b>	<b>Ganado Equino</b>	<b>Ganado Vacuno</b>
Nº de madres	18.8 ± 16.6	44.9 ± 19.4
Nº de partos	15.3 ± 13.9	32.7 ± 15.1
Nº de crías nacidas	14.0 ± 12.7	32.1 ± 15.2
Nº de abortos	0.75 ± 1.5	1.7 ± 3.1
Nº crías muertas en torno al parto	0.75 ± 1.0	0.6 ± 1.0
Nº crías muertas en lactación	0.25 ± 0.5	1.0 ± 1.5
Nº crías muertas post-destete	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.8
Nº de animales para reposición propia	2.5 ± 2.5	4.0 ± 3.7
Nº de animales vendidos para reposición	3.3 ± 3.8	0.7 ± 1.9
Nº de animales vendidos para cebo o sacrificio	7.5 ± 7.7	26.1 ± 12.4
<b>Índices:</b>		
- Fertilidad a término	83% ± 15%	75% ± 16%
- Tasa de abortos	2% ± 4%	5% ± 9%
- Mortalidad de las crías	8% ± 12%	5% ± 5%
- Tasa de reposición	16% ± 12%	8% ± 7%
- Productividad a la venta	60% ± 12%	63% ± 23%

### LIVESTOCK FARMING AROUND A PYRENEAN SKI RESORT.1. CURRENT PRACTICES

**ABSTRACT:** In order to determine the effect of a ski resort on livestock farming systems in its surroundings, a structured interview was conducted with all farmers whose herds grazed during the summer on pastures within the ski station. Information on labour, herd size, land use, management and technical performance of cattle and horses was collected. When compared with that of similar areas, farm management and performance was similar except for the high farmers' pluriactivity associated with tourism, and the increasing importance of winter transhumance, which helps reduce both dependence on purchased feedstuffs and workload in the farm, therefore available for other activities.

**Keywords:** ski resorts, farming management, pluriactivity, technical performance

## LA GANADERÍA EN EL ENTORNO DE UNA ESTACIÓN DE ESQUÍ DEL PIRINEO. 2. DINÁMICA DE LA EXPLOTACIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO ANTE DISTINTOS ESCENARIOS SOCIOECONÓMICOS

Casasús I., Rodríguez-Sánchez J.A., Sanz A.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón.  
Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. icasasus@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

En algunas zonas de montaña, el desarrollo del turismo ligado a las estaciones de esquí afecta a la dinámica de la población y del sector primario, que difieren con los de otras áreas donde no existe turismo invernal (Lasanta *et al.*, 2007). Para determinar dicho efecto sobre los sistemas de producción ganadera, se llevó a cabo una encuesta estructurada a los ganaderos cuyos rebaños aprovechaban los pastos localizados en una estación de esquí del Pirineo aragonés. En ella se recogieron aspectos relativos a la dinámica reciente de la explotación y las perspectivas de cambio en el futuro, considerando las condiciones socio-económicas actuales y distintos escenarios potenciales, ligados a posibles cambios de políticas agrarias o de coyuntura económica.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el entorno de la estación de esquí de Aramón-Panticosa, ubicada entre los municipios de Panticosa y Hoz de Jaca (Huesca), en los que sólo el 2.5% de la población activa se dedica a la agricultura. Se realizó una encuesta estructurada mediante entrevista directa a los 10 titulares de explotaciones de vacuno y equino usuarias de pastos de verano en el área de la estación, considerando:

- *Dinámica de la explotación*: antigüedad, perspectivas de continuidad, cambios estructurales acontecidos desde la instalación de la estación de esquí (1970), en la última década e intención de cambio en un futuro próximo.
- *Respuesta ante distintos escenarios socio-económicos*: cambios estructurales que se realizarían ante diversos escenarios potenciales, en caso de cambiar las políticas agrarias o la coyuntura económica general (*desacoplamiento total del pago único, aumento de las ayudas agroambientales, reducción de los ingresos externos a la explotación, aumento de costes de alimentación*).

Se ha realizado un análisis descriptivo de las variables cualitativas, los resultados se presentan como frecuencias.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Dinámica de la Explotación

La larga tradición ganadera se refleja en que la mayoría de las explotaciones se iniciaron en generaciones anteriores (70%), siendo más antiguas las de vacuno que las de equino, ya que la cría de ganado caballar para producción de carne es reciente en la zona. La mayoría de las explotaciones (80%) tenían perspectivas de continuidad, que quedaba garantizada a medio plazo en el titular actual, esgrimiendo como razón principal su gusto por la actividad (80%) y raramente tener continuidad en la descendencia (10%). La supervivencia de la ganadería en el valle podría estar limitada a largo plazo por esta falta de relevo generacional, como se indica en otras zonas del Pirineo (Solano, 2012).

Cuando se instaló la estación existían el 70% de las ganaderías actuales. En los últimos 40 años, éstas aumentaron su censo (57%), manteniendo (57%) o aumentando (29%) la base territorial, sin cambios en la dedicación de la mano de obra (71% de los casos). Todas las vaquerías abandonaron el ordeño en esta fase.

En los últimos 10 años se mantuvo la tendencia a incrementar las magnitudes de la explotación (Fig. 1), con una creciente extensificación del manejo, como indicaban García-Martínez *et al.* (2009): aumentó la superficie pastada y la duración del pastoreo, manteniendo o reduciendo la superficie segada. Para ello se acometieron vallados de pastos (70%) y cambios en la alimentación en establo (40%), ambos ligados a la trashumancia invernal para liberar mano de obra y reducir la necesidad de compra de alimentos para el

ganado. El tipo de ganadería y su orientación no se modificaron en el último decenio, a excepción de la aparición de la comercialización de los productos bajo marca (20%).

En un futuro cercano los encuestados preveían mantenerse sin grandes cambios (Fig.1). Eventualmente aumentarían el rebaño (50% de los casos), incrementando el pastoreo en superficie y duración, con más cercados (50%) y manteniendo la carga de mano de obra; en menor medida, se buscarían nuevas alternativas de comercialización (30%).

#### Respuesta ante distintos escenarios socio-económicos potenciales

Los escenarios planteados afectarían en distinto grado a las diversas explotaciones. Un aumento de los costes de alimentación afectaría en todos los casos, pero la reducción de los ingresos externos lo haría sólo en caso de pluriactividad (70%). Por otro lado, la especie ganadera, la antigüedad de la explotación o el tipo de recursos aprovechados afectarían al impacto del desacoplamiento del pago único (ayuda directa de la PAC) o el incremento de las ayudas agroambientales (para fomento de la biodiversidad y los agrosistemas extensivos). Las respuestas en las distintas situaciones se presentan en la Fig. 2.

- Un eventual *desacoplamiento total del pago único* haría que parte de los encuestados redujeran censos, superficies y dedicación de mano de obra a la ganadería, manteniéndose el resto. La reducción global coincide con lo apuntado por García-Martínez *et al.* (2011) y el MARM (2010), que indican que desaparecerían las unidades de menor tamaño, comprometiendo el abastecimiento del mercado nacional de terneros. Aunque éste no parece un escenario probable en el futuro, la proporción de las ayudas directas sobre las totales podría verse reducida en la nueva PAC (Nogués, 2012).
- El *aumento de las ayudas agroambientales* repercutiría en un incremento de censos y superficies (44% de los casos), con un manejo más extensivo y mayor dedicación de mano de obra (33%). Este escenario es más factible, ya que la propuesta de la PAC hasta 2020 otorga mayor importancia a la llamada "ayuda verde" sobre el total de ayudas percibidas (Nogués, 2012). Estas políticas redundarían en un mejor mantenimiento de la actividad ganadera y del medio en zonas desfavorecidas (Strijker, 2005).
- Ante una *reducción en los ingresos externos*, la mayoría se volcaría plenamente en la ganadería, con aumento de censos, superficies y dedicación de la mano de obra. Si bien hasta no hace mucho la posibilidad de trabajar fuera de la explotación podía tener el efecto contrario (García-Martínez *et al.*, 2011), en la actual coyuntura económica es creciente el número de ganaderos que encuentran en esta actividad una oportunidad laboral, ante la falta de expectativas de empleo en otros sectores (Solano, 2012).
- Un *aumento en los costes de alimentación a pesebre* tendría consecuencias dispares en las ganaderías encuestadas. La cabaña ganadera variaría poco, pero se extensificaría su manejo, con mayor superficie (44% de las ganaderías) y sobre todo un aumento de las áreas pastadas (56%), en detrimento de una suplementación más costosa en establo. Este escenario podría darse con cierta facilidad (Bernués *et al.*, 2011), dada la volatilidad en los precios de las materias primas para la alimentación animal acaecida desde 2008.

En conclusión, las explotaciones ganaderas estudiadas tienen continuidad a medio plazo, que podría verse comprometida en un horizonte más lejano por la falta de relevo generacional. Se encuentran estabilizadas en tamaño y gestión, tras haber implementado cambios tecnológicos en el pasado reciente, pero prevén pocos cambios en el futuro cercano en las condiciones actuales. Sin embargo, su estructura y manejo variarían considerablemente si se diesen distintos escenarios potenciales.

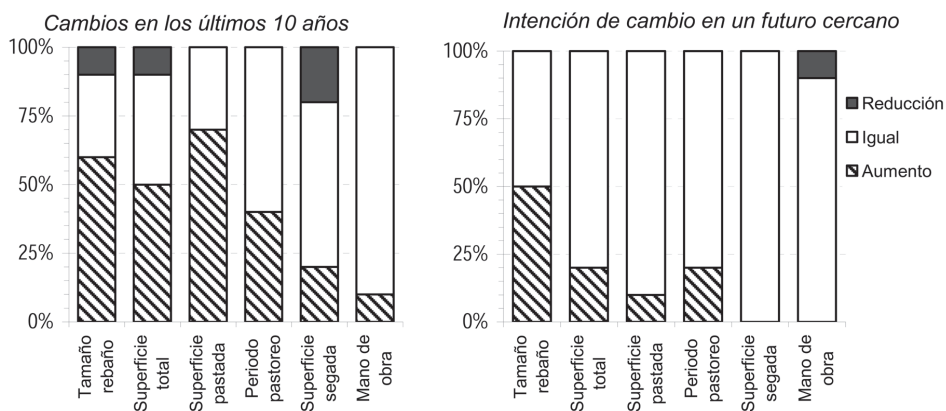
#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bernués *et al.*, 2011. *Livestock Science* 139: 44-57. • García-Martínez *et al.*, 2009. *Animal* 3: 152-165. • García-Martínez *et al.*, 2011. *Livestock Science* 137: 73-86. • Lasanta *et al.*, 2007. *Tourism Management* 28: 1326-1339. • MARM, 2010. Informe técnico: 39. • Nogués, 2012. *Surcos de Aragón* 123: 13-17. • Solano, 2012. *Revista de Estudios Territoriales del Pirineo Aragonés* 11. • Strijker, 2005. *Basic and Applied Ecology* 6: 99-106.

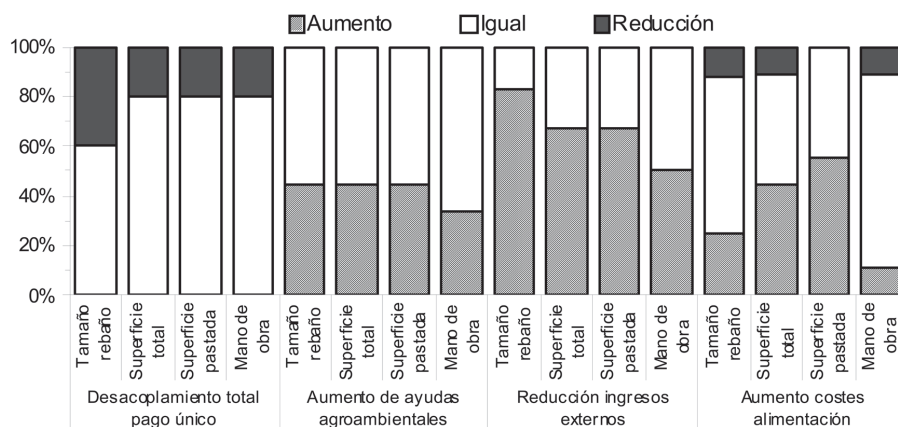
**Agradecimientos:** A los ganaderos participantes y al personal de Aramón-Panticosa. Financiación procedente del Convenio PCTAD ARAMON-CITA-UniZar (089-10AC2 2011) e INIA (RTA2010-00057).



**Figura 1.** Cambios cuantitativos realizados en las explotaciones en los últimos 10 años, e intención de cambio en un futuro cercano (% de respuestas a cada opción).



**Figura 2.** Posibles cambios en las características de las explotaciones ante distintos escenarios socio-económicos potenciales (% de respuestas a cada opción).



## LIVESTOCK FARMING AROUND A PYRENEAN SKI RESORT. 2. RECENT DYNAMICS AND FUTURE PROSPECTS UNDER DIFFERENT SOCIO-ECONOMIC SCENARIOS

**ABSTRACT:** In order to determine the effect of a ski resort on livestock farming systems in its surroundings, a structured interview was conducted with all farmers whose herds grazed during the summer on pastures within the ski station. Information was gathered on recent dynamics and prospective changes under the current socio-economic circumstances and different scenarios, namely total decoupling, increased income from agri-environmental schemes, reduced income from off-farm work, and increased price of purchased feedstuffs. Continuity of the farms was ensured on a medium term, but might be low in the long run due to lack of succession. Farms were stable in terms of size and management, and few changes were envisaged in the future in the current conditions. However, if the socio-economic situation changed or different agricultural policies were implemented, farm structure and technical management may be considerably modified.

**Keywords:** ski resorts, farm dynamics, intended changes, socio-economic scenarios.

## LA GANADERÍA EN EL ENTORNO DE UNA ESTACIÓN DE ESQUÍ DEL PIRINEO. 3. OBJETIVOS Y OPINIONES DE LOS GANADEROS

Casasús I., Rodríguez-Sánchez J.A., Sanz A.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón.  
Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. icasasus@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

El modelo de desarrollo turístico actual en algunas zonas de montaña puede generar una relación de competencia entre éste y la actividad ganadera, tradicional motor económico en dichas áreas. En ellas debe reconocerse el carácter multifuncional de la ganadería ya que, además de las funciones productivas y económicas, adquieren especial relevancia otras relacionadas con los servicios ambientales que puede generar al ecosistema (Bernués *et al.*, 2011). En particular en el entorno de las estaciones de esquí, es fundamental implementar planes de manejo que consideren las necesidades y opiniones de las partes y tengan una sólida base técnica, tanto zotécnica como agroecológica (Casasús *et al.*, 2012).

En este contexto, el objetivo del presente trabajo es valorar las opiniones y expectativas de los ganaderos en la zona de influencia de una estación de esquí sobre la influencia del centro invernal en las explotaciones ganaderas y su entorno.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se ha realizado en el entorno de la estación de esquí de Aramón-Panticosa, en el Pirineo Aragonés, mediante encuesta estructurada con entrevista directa a los 10 ganaderos de vacuno y equino usuarios de pastos en el entorno de la estación. En ella se cuestionaba sobre los siguientes aspectos:

- *Objetivos de los ganaderos*: importancia concedida a distintos objetivos económicos, técnicos y sociales, valorados de 1 a 5 mediante una escala de Likert (1. Nada importante, 2. Poco importante, 3. Importante, 4. Bastante importante, 5. Muy importante).
- *Opiniones y actitudes*: se valoraron unas afirmaciones sobre el futuro de la ganadería en el valle, su relación con el turismo, el grado de satisfacción con el trabajo agrario, y algunos aspectos técnicos y ambientales, utilizando una escala de Likert (1. Totalmente en desacuerdo, 2. Bastante en desacuerdo, 3. Neutral, 4. Bastante de acuerdo, 5. Totalmente de acuerdo). Se preguntó si la estación de esquí le influía personalmente de manera positiva, negativa, ambas o no le afectaba, y los motivos de esta opinión.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Objetivos de los ganaderos

Destacó el peso similar de los objetivos económicos y sociales y la menor importancia relativa de los objetivos técnicos (Fig. 1). En otros estudios realizados en el Pirineo (García-Martínez *et al.*, 2007) y Prepirineo (Zamudio *et al.*, 2011) también se ha detectado una menor importancia de los objetivos técnicos frente al resto, primando los objetivos sociales relacionados con la calidad de vida familiar frente a los empresariales.

Se dio gran relevancia a los *objetivos económicos*, tanto maximizar los ingresos ( $4.8 \pm 0.6$ ) como reducir los gastos ( $4.5 \pm 1.0$ ), maximizando la captación de ayudas ( $4.3 \pm 1.2$ ) y dando menor importancia a reinvertir en la explotación ( $3.2 \pm 1.5$ ). En cuanto a los *objetivos técnicos*, destacó la obtención de productos de calidad ( $4.8 \pm 1.3$ ), y en menor grado la modernización de maquinaria e instalaciones ( $3.7 \pm 1.5$ ). Se consideró haber alcanzado un tamaño y manejo estable, y pese a haber cierto margen de mejora en la gestión técnica ( $3.6 \pm 1.3$ ), los cambios tenderían a aumentar el pastoreo sin modificar el tamaño de explotación. Respecto a los *objetivos sociales*, se valoró especialmente contribuir a mejorar el medio y estar bien considerado por la sociedad. Los ganaderos priorizaron la calidad de vida de su familia ( $4.4 \pm 0.9$ ), otorgando menor importancia a su propia dedicación al trabajo.

#### Opiniones y actitudes de los ganaderos

En relación al futuro de la ganadería en el valle las opiniones fueron dispares (Fig. 2), lo que se relacionó con las expectativas de continuidad a largo plazo. Coincidieron en que esto

dependía de la continuidad de las subvenciones y de tener un tamaño de rebaño suficiente, como indicaban García-Martínez *et al.* (2007). Se declararon satisfechos con su oficio, pero consideraban necesario diversificar la economía familiar ( $4.7 \pm 0.7$ ) para garantizar una fuente de ingresos adicional, como ocurre en otras zonas (Riedel *et al.*, 2007). En cuanto a la *concienciación ambiental*, se manifestaron masivamente de acuerdo en que es necesario mantener la calidad del paisaje y la productividad de la tierra. Sin embargo, su opinión fue sólo “neutral” con respecto a que hubiera que reducir la contaminación generada por la ganadería, considerándola mínima en su sistema productivo. Esto coincide con lo observado en ganaderos del Reino Unido por Bruce (2012), indicando que el impacto de la ganadería sobre el medio se percibe de manera diferente por los ganaderos y la sociedad en general. Respecto al *modelo de desarrollo turístico del valle*, fueron unánimes sobre el efecto positivo de la estación de esquí, al permitir su desarrollo económico y demográfico. Hubo mayor disparidad en cuanto al efecto sobre la ganadería: un 40% consideraba un efecto positivo (al posibilitar la diversificación económica como complemento a la actividad ganadera) y un 30% negativo (al competir por la mano de obra y usos del suelo).

Finalmente, todos los ganaderos manifestaron que la estación de esquí afectaba positivamente a sus circunstancias particulares. Esto se asociaba sobre todo a la mejora general de infraestructuras y la oferta de alternativas para la diversificación económica, así como a la colaboración en la vigilancia del ganado y otros aspectos en los pastos ubicados en la estación. Por su parte, manifestaron una clara voluntad de colaboración con la estación a realizar modificaciones puntuales y justificadas en el manejo del ganado. El conjunto de opiniones y actitudes manifestado por los ganaderos encuestados pone de relieve el interés del enfoque participativo en el diseño de planes de manejo y políticas socio-económicas y ambientales a diversas escalas (Fraser *et al.*, 2006), de modo que las percepciones de todos los actores sean tenidas en cuenta en dicho diseño.

En conclusión, los ganaderos dieron mayor importancia los objetivos económicos y de calidad de vida que a los objetivos técnicos, por lo que sería necesario un esfuerzo en apoyo y transferencia en este sentido. Consideraron mayoritariamente que la estación de esquí había tenido un efecto beneficioso en el valle, y parcialmente también en la ganadería. A la vez, eran conscientes del beneficio ambiental que supone el pastoreo para el medio en general y la estación en particular, por lo que la multifuncionalidad de la ganadería y la sinergia entre ambas actividades económicas en este valle queda manifiesta.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernués *et al.*, 2011. *Livestock Science* 139: 44-57.
- Bruce, 2012. En “Climate change and sustainable development: ethical perspectives on land use and food production”: 207-212.
- Casasús *et al.*, 2012. Informe técnico CITA-Unizar
- Fraser *et al.*, 2006. *Journal of Environmental Management* 78: 114-127.
- García-Martínez *et al.*, 2007. *ITEA* 28: 324-326.
- Riedel *et al.*, 2007. *Livestock Science* 111: 153-163.
- Zamudio *et al.*, 2011. *Actas XL Reunión Científica de la SEEP*: 525-530.

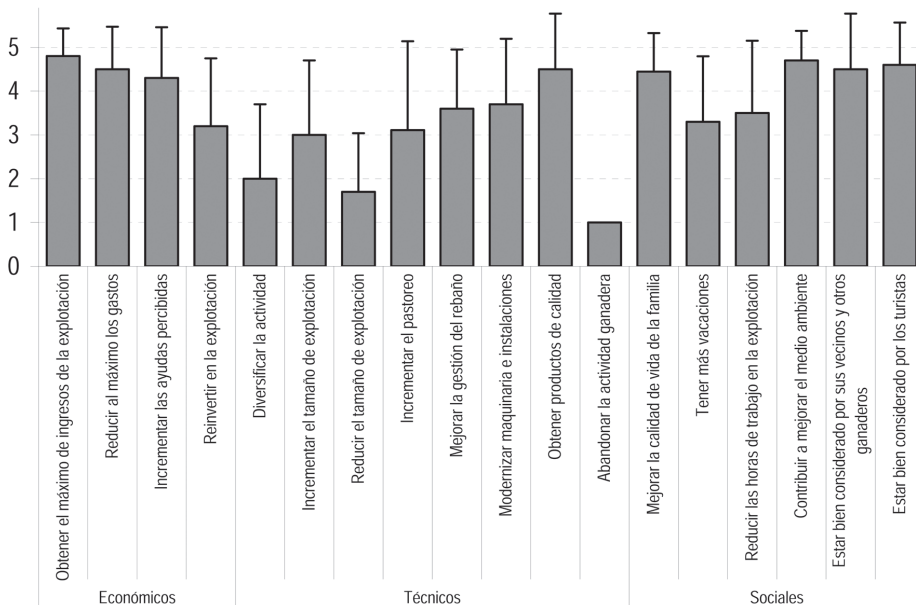
**Agradecimientos:** A los ganaderos participantes y al personal de Aramón-Panticosa. Financiación procedente del Convenio PCTAD ARAMON-CITA-UniZar (089-10AC2 2011) e INIA (RTA2010-00057).

#### LIVESTOCK FARMING AROUND A PYRENEAN SKI RESORT. 3. FARMERS OBJECTIVES AND OPINIONS

**ABSTRACT:** In order to determine the effect of a ski resort on livestock farming systems in its surroundings, a structured interview was conducted with all farmers whose herds grazed during the summer on pastures within the ski station. When asked about the relative importance for them of different technical, economic and social objectives, they considered that economic aspects and those related to their family’s quality of life were crucial, while technical objectives were less important. Concerning their opinions about tourism, they considered that the valley and indirectly their farming activity had benefitted from the ski resort, while in turn it profited from the ecosystem services provided by livestock grazing.

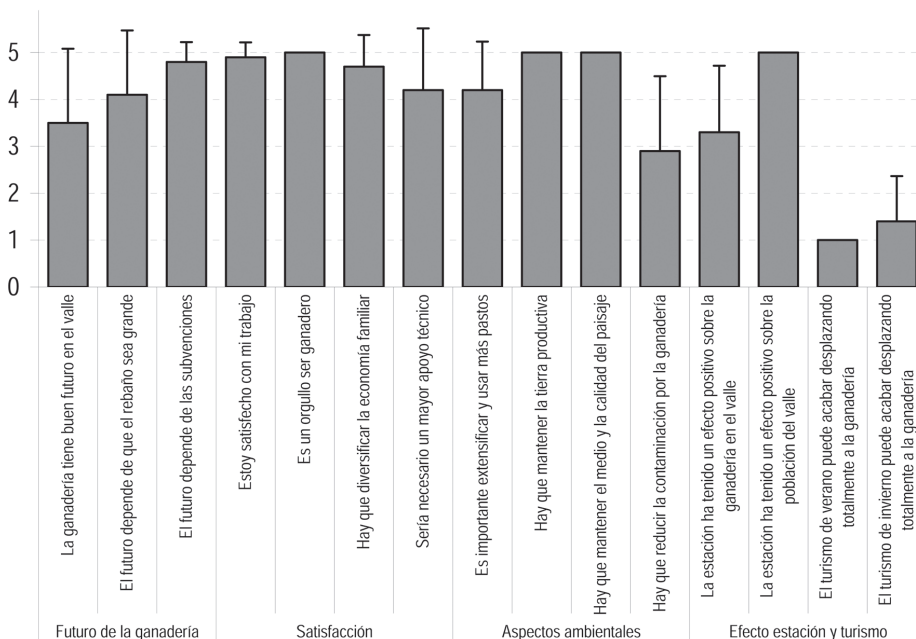
**Keywords:** ski resorts, farmers objectives, interaction tourism-farming

**Figura 1. Prioridad de objetivos en la explotación (económicos, técnicos y sociales).**



1. Nada importante, 2. Poco importante, 3. Importante, 4. Bastante importante, 5. Muy importante.

**Figura 2. Opiniones respecto al futuro de la ganadería en el valle, su relación con el turismo, su satisfacción con el trabajo agrario, y aspectos técnicos y ambientales.**



1. Totalmente en desacuerdo, 2. Bastante en desacuerdo, 3. Neutral, 4. Bastante de acuerdo, 5. Totalmente de acuerdo.

## PERCEPCIONES DE GANADEROS Y CIUDADANOS SOBRE LAS RELACIONES ENTRE LA GANADERÍA DE MONTAÑA Y EL MEDIO AMBIENTE: UN ESTUDIO CUALITATIVO

Rodríguez-Ortega, T.<sup>1</sup>, Ripoll-Bosch, R.<sup>1</sup>, Casasús, I.<sup>1</sup>, Bernués, A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España. <sup>2</sup> Department of Animal and Aquacultural Sciences, Norwegian University of Life Sciences (UMB), P.O. Box 5003, No-1432 Ås, Noruega. [alberto.bernues@umb.no](mailto:alberto.bernues@umb.no)

### INTRODUCCIÓN

La ganadería de montaña proporciona múltiples beneficios tangibles (alimentos, empleo, etc.), pero además, es una actividad multifuncional que suministra un amplio rango de bienes y servicios públicos. Entre éstos destacan la conservación de la biodiversidad, el mantenimiento del paisaje y la prevención de riesgos ambientales como los incendios forestales, ya que están inherentemente ligados a la presencia de esta actividad (Cooper et al., 2009). Genéricamente, a los beneficios directos o indirectos que obtenemos de la naturaleza se les denomina “servicios de los ecosistemas” (SE) (TEEB 2010). Este concepto sirve como nexo entre el funcionamiento de los ecosistemas, incluidos los agro-ecosistemas, y el bienestar humano, y por ello, tiene cada día más aceptación entre científicos y gestores a la hora de respaldar estrategias de gestión ambiental (Chan et al., 2011) o de establecer pagos por el mantenimiento de diversos servicios públicos en el marco de políticas agro-ambientales (European Commission 2012). Sin embargo, existen pocos estudios acerca del entendimiento de los SE por parte de la sociedad, la demanda de los mismos o su importancia relativa (Lamarque et al., 2011). En este contexto, el objetivo del trabajo fue realizar un estudio cualitativo sobre el conocimiento espontáneo y la percepción de ganaderos y ciudadanos sobre las relaciones entre la agricultura de montaña y el medio ambiente.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se organizaron cinco Grupos Focales (*focus groups*, FG) (2 con ganaderos, n=11, y 3 con ciudadanos, n=22) sobre ganadería de montaña ligada al pastoreo y medio ambiente. Los FG duraron aproximadamente 1,5 horas y fueron dinamizados por un moderador de acuerdo a 5 preguntas generales: 1. ¿Conoces el término servicio de los ecosistemas?; 2. ¿Cómo crees que afecta la ganadería al ecosistema y a la inversa?; 3. ¿En qué crees que te afecta a ti personalmente la relación entre la actividad ganadera y el ecosistema?; 4. ¿En qué zona crees que se puede apreciar el efecto de la actividad ganadera sobre el ecosistema?; 5. ¿Crees que se deben compensar económicamente los servicios de los ecosistemas? ¿Quién? ¿En qué forma? Los FG fueron grabados en video y posteriormente se transcribieron para realizar un análisis del texto. Las ideas surgidas durante los FG se dividieron en dos grupos: por un lado las que hacían referencia a los SE, que a su vez se organizaron siguiendo la clasificación TEEB (2010): de aprovisionamiento (productos obtenidos de los ecosistemas), de regulación (beneficios indirectos provenientes del funcionamiento de los ecosistemas), de hábitat (necesarios para la producción del resto de SE) y culturales (beneficios intangibles o inmateriales provenientes de la experiencia con los ecosistemas); y por otro las que hacían referencia a otros aspectos generales de sostenibilidad, que se clasificaron en los subgrupos de: economía de la explotación, factores sociales y de mano de obra, contexto socio-económico y marco político/legal.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ningún participante conocía el término SE, si bien algunos de ellos entendían su significado de manera intuitiva. La Figura 1 muestra los resultados de las frecuencias con que se mencionaron los diversos SE durante los FG. Los más frecuentes fueron los siguientes (en orden decreciente): estéticos (paisaje y vegetación), protección del pool de genes (mantenimiento de la biodiversidad), mantenimiento de los ciclos vitales (ciclo de nutrientes, fotosíntesis), provisión de materias primas (leña, forraje), prevención de perturbaciones (incendios forestales), purificación del agua y gestión de residuos, fertilidad del suelo y prevención de la erosión, y diversos SE culturales tales como las experiencias espirituales, de recreación y turismo y aspectos culturales y artísticos. Además, se observaron diferencias entre las percepciones de ganaderos y ciudadanos, los ganaderos dieron más

importancia a ciertos servicios de regulación (prevención de incendios forestales, fertilidad del suelo) y de aprovisionamiento (materias primas), principalmente relacionados con su propia actividad ganadera o circunstancias locales; mientras que los ciudadanos dieron más importancia a los servicios culturales (estéticos sobre el paisaje y la vegetación, experiencias espirituales, recreativas y culturales), mostrando en general preocupaciones más globales.

La Figura 2 muestra las frecuencias con que se mencionaron otras ideas relacionadas con la sostenibilidad de la actividad ganadera en zonas de montaña y de la agricultura en general. Por orden decreciente de importancia fueron las siguientes: aspectos éticos de la producción alimentaria, abandono de la actividad y desarrollo rural, calidad de los productos alimenticios, conflictos con la vida silvestre, y diversos aspectos de la PAC. También se observaron diferencias entre ganaderos y ciudadanos: los ganaderos dieron en general más importancia al marco político/legal (pastos comunales, medidas agro-ambientales, PAC); mientras que los ciudadanos dieron más importancia al contexto socio-económico (aspectos éticos de la producción alimentaria, abandono y desarrollo rural, calidad y seguridad de los productos alimentarios).

Estos resultados se asemejan a los de Lamarque et al. (2011) ya que se hizo mayor referencia a los SE más visibles o considerados cercanos a los humanos, como es el caso del paisaje. Además, los ganaderos y ciudadanos valoraron de manera diferente la ganadería de montaña en relación con su capacidad para proveer servicios que satisfagan sus propios intereses o necesidades (Martín-López et al., 2012).

En consecuencia, el diseño de políticas agro-ambientales en las zonas de montaña debe partir de un buen entendimiento de las demandas sociales y de los actores directamente involucrados en su aplicación. Por otro lado, deben establecer objetivos concretos y medidas de seguimiento, por lo que es necesario cuantificar y valorar objetivamente el amplio rango de bienes y servicios públicos que genera la ganadería. En este sentido, este estudio constituye la base para realizar una investigación cuantitativa (incluida la valoración monetaria) de los SE derivados de los sistemas ganaderos de montaña en áreas del Mediterráneo y del Norte de Europa.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chan K.M.A., Hoshizaki, L., Klinkenberg, B. 2011. Ecosystem Services in Conservation Planning: Targeted Benefits vs. Co-Benefits or Costs? PLoS ONE 6(9): e24378
- Cooper T., Hart K., Baldock D. 2009. Provision of Public Goods through Agriculture in the European Union. Institute for European Environmental Policy • European Commission 2012. Payments for Ecosystem Services. Science for Environment <http://ec.europa.eu>
- Lamarque, P., Tappeiner, U., Turner C., Steinbacher, M., Bardgett, R.D., et al. 2011. Stakeholder perceptions of grassland ecosystem services in relation to knowledge on soil fertility and biodiversity. Reg Environ Change 11: 791–804.
- Martín-López B., Iniesta-Arandia, I., García-Llorente, M., Palomo, I., Casado-Arzuaga, I., et al. 2012. Uncovering Ecosystem Service Bundles through Social Preferences. PLoS ONE 7(6): e38970.
- TEEB. 2010. The Economics of Ecosystem and Biodiversity: Ecological and Economic Foundations. Earthscan.

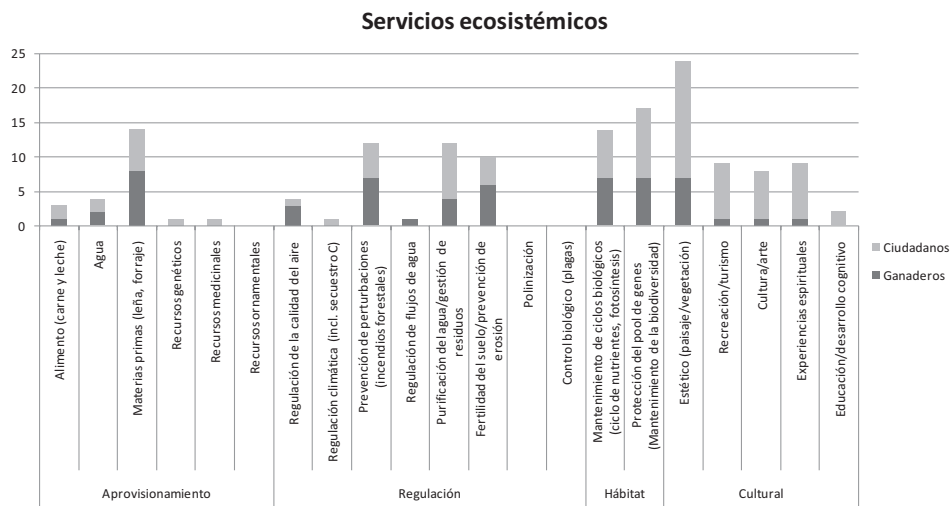
**Agradecimientos:** proyectos INIA RTA2011-00133-C02-02 y Marie Curie IEF Contract no. 299794. El primer autor posee una beca predoctoral INIA.

### FARMERS AND CITIZENS PERCEPTIONS OF LINKS BETWEEN MOUNTAIN LIVESTOCK FARMING AND THE ENVIRONMENT: A QUALITATIVE STUDY

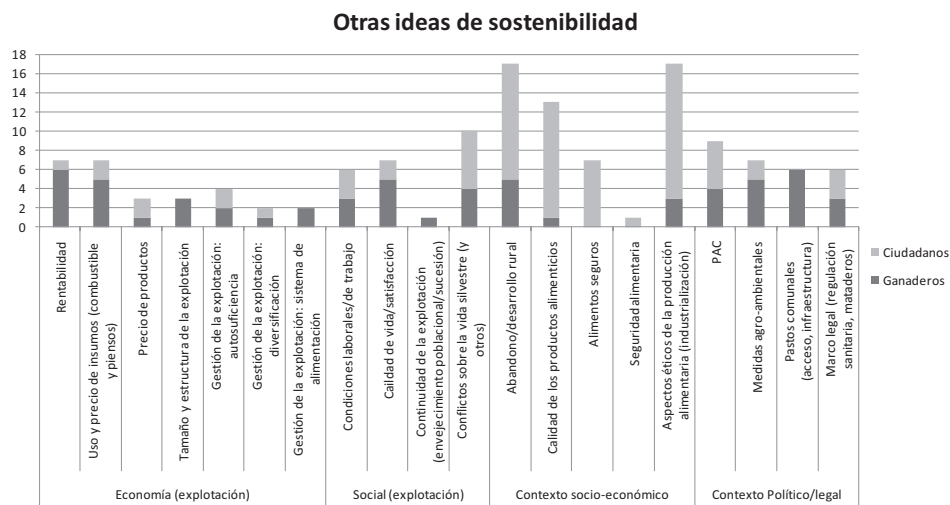
**ABSTRACT:** There is a scientific need to quantify the public services derived from mountain agriculture for policy design, however, for policies to be effective the views of stakeholders should be considered. Two focus groups with farmers and three with citizens were organized to elucidate their perceptions on relationships between mountain livestock farming and the environment. Environmental ideas arising from the focus groups were classified according to the ecosystem services (ES) participants referred to; other ideas relating to mountain farming or agriculture in general were also classified around other sustainability issues. The ES that were mentioned a greater number of times were: aesthetic (landscape/ vegetation); gene

pool protection (biodiversity maintenance); lifecycle maintenance (nutrient cycling, photosynthesis); provision of raw materials (firewood, forage); disturbance prevention (forest fires); water purification/ waste management; spiritual experience; soil fertility/ erosion prevention; recreation/ tourism; and culture/ art. Ethical aspects of food production, rural development and abandonment, quality of food products, conflicts with wildlife and issues relating to the CAP were also very important. Notable differences were observed between farmers and citizens according to different perceptions (local vs. general) and interests.

**Keywords:** ecosystem services, sustainability, mountain agriculture, focus groups.



**Figura 1.** Número de menciones de los servicios de los ecosistemas.



**Figura 2.** Número de menciones de otras ideas de sostenibilidad.

## **OPINIONES SOBRE LA PROFESIÓN Y LAS ACTIVIDADES OVINAS DE GANADEROS QUE UTILIZAN UN PARQUE NATURAL**

Zamudio A., Manrique E. y Olaizola A.M. Dpto. Ciencias Agrarias y del Medio Natural. Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177. 50013. Zaragoza (zamudio@unizar.es)

### **INTRODUCCIÓN**

En las explotaciones familiares agrarias, la unidad familiar constituye la unidad decisional. Las variables económicas y sociodemográficas juegan un papel importante en la toma de decisiones; pero no son suficientes a veces para explicar las pautas de comportamiento de los agricultores, que no persiguen necesariamente objetivos de maximización de beneficios a corto plazo (Heady, 1970; Nakajima, 1986), por lo que para explicarlas se vienen introduciendo variables psicográficas (Guillén Pérez, 2002), entre cuyos aspectos se encuentran las actitudes, definidas como predisposiciones a evaluar algo de forma favorable o desfavorable y que se refleja en el comportamiento (Katz, 1960).

En esta comunicación se exponen resultados parciales de una investigación sobre las opiniones de ganaderos de ovino que utilizan el Parque de Guara (Huesca), relativas a la profesión de ganaderos y a la situación y actividades ovinas en el Parque.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

La información utilizada se ha obtenido mediante encuesta directa a titulares de 46 explotaciones ovinas (87% del total del universo del área considerada) que utilizaban, en alguna medida, el Parque Natural de la Sierra y Cañones de Guara (Huesca). Para medir las opiniones se utilizó una escala de Likert de 1 a 5 (desde "totalmente en desacuerdo" hasta "totalmente de acuerdo") (Foddy, 1996). Se han establecido cuatro grupos de ganaderos, mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP) sobre 15 variables de opinión y, posteriormente, un Análisis Cluster Jerárquico.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se ha obtenido la mediana y la media de las opiniones de los ganaderos en relación con la actividad ovina en cada una de las cuestiones preguntadas. (Figura 1) Se observan, mayoritariamente, opiniones de satisfacción con su actividad profesional, que estiman goza de prestigio en el medio rural, si bien no sienten reconocimiento por parte de la sociedad. Como actividad económica, la consideran menos rentable que otras y afirman que sus explotaciones, con insuficiente dimensión, requerirían inversiones en tierra, ganado e instalaciones. Señalan, también, que no reciben suficiente apoyo técnico de las administraciones y que el turismo y las políticas medioambientales son lesivas para el sector.

El Análisis de Componentes Principales ha permitido obtener tres factores que explican el 62,525% de la varianza total (Tabla 1). Estos factores son expresión, el primero, de actitudes optimistas y de satisfacción ante la profesión y el futuro de la ganadería en la zona, e incluso consideran que reciben apoyo técnico suficiente de las administraciones. El segundo expresa el convencimiento del prestigio profesional en el medio rural, la rentabilidad de la actividad y, en alguna medida, confianza en el futuro del ovino en la zona. El tercer factor expresa una actitud crítica y de insatisfacción con el turismo, las políticas medioambientales y la falta de apoyo técnico de las administraciones.

El Análisis Cluster ha diferenciado cuatro grupos de ganaderos por sus opiniones (Tabla 2). Todos ellos ponen de manifiesto opiniones muy mayoritarias de satisfacción con su profesión de ganaderos de ovino y, por ello, su voluntad de no cambiar a otra actividad agraria y señalan el desequilibrio entre evolución de los precios del producto y de los costes. El primer grupo (13 explotaciones) es el que, manifiesta en mayor medida su satisfacción profesional. Además este grupo es crítico con las administraciones por la falta de apoyo; con las políticas turísticas y medioambientales y con la propia actividad por su falta de rentabilidad. Manifiesta dudas sobre el futuro de la ganadería en la zona y descarta la



posibilidad de subsistir sin ayudas. El segundo grupo (12 explotaciones) es el que pone mayor énfasis en la satisfacción profesional; aunque señala la necesidad de aumentar la dimensión de la actividad y las inversiones para hacer rentable la explotación. El tercer grupo (13 explotaciones) expresa con menor énfasis la satisfacción profesional. Destaca por sus críticas al turismo y las políticas medioambientales y la insuficiencia del apoyo técnico de las administraciones. Manifiesta también la necesidad de inversiones estructurales para hacer rentable la actividad ovina. El cuarto grupo (8 explotaciones), salvo en las opiniones que han sido señaladas como comunes, manifiesta actitudes menos coincidentes. Destaca, no obstante, por el mayor pesimismo sobre el futuro de la ganadería local. Llama también la atención que este grupo se singulariza y discrepa sobre un papel negativo del turismo y políticas medioambientales, por lo que podría tratarse de explotaciones con actividad importante en estos sectores de servicios.



**Figura 1.** Opiniones medias del total de explotaciones sobre las actividades ovinas.

\* 1. Totalmente en desacuerdo. 5. Totalmente de acuerdo

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Foddy, W.1996. Constructing questions for interviews and questionnaires. Theory and practice in social research. Cambridge University Press.. Cambridge (UK). 227 pp.
- Guillén Pérez, L. A. 2002. El perfil psicosocial: un nuevo paradigma en transferencia de tecnología agrícola. Rev. Desarrollo Rural 2-3 (4- 5): 103-122.
- Heady, E. 1970. Economics of Agricultural Productions and Resource Use. Prentice Hall.. Englewood Cliffs. (USA). 850 pp.
- Katz, D. 1960. The functional approach to the study of attitudes. Public Opinion Quarterly. 24: 63-204.
- Nakajima, C. 1986. Subjective equilibrium theory of the farm household. Elsevier, Holanda.

## FARMERS' OPINIONS ON THEIR PROFESSION AND SHEEP FARMING IN A NATURAL PROTECTED AREA

**ABSTRACT:** In family farms, the decision unit is the familiar unit conditioned by economic, socio demographic and psychographic variables. In this communication, the opinions of sheep farmers, using a Natural Protected Park, on farmer profession and sheep farming were studied. Data were obtained by means of direct interview of farmers. A farmer's typology was established using Principal Components Analysis and Cluster Analysis. Four groups of farms were obtained. Most of farmer groups were proud of their work. First group of farmers were pessimistic about the future of sheep farming in this area, the consequences of agri-environmental measures and the presence of tourism activities. Nevertheless, other farmer groups were less pessimistic but, in order to be profitable, they stressed that investments on their farms were required.

**Keywords:** opinions, sheep farming, High Value Areas.

**Tabla 1.** Correlaciones de las variables sobre los tres primeros factores del ACP

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Cualquier otro trabajo agrícola es mejor que ser ganadero.	- 0,850		
Estoy satisfecho y orgulloso con mi actividad de ganadero de ovino.	0,656		
La ganadería de ovino es una actividad con muy buen futuro en esta zona.	0,613	0,391	
Para hacer rentable mi explotación tendría que hacer inversiones en tierra, ganado o instalaciones.		0,784	0,336
El ovino es menos rentable que otras actividades agrícolas y ganaderas.		- 0,749	
Los ganaderos de ovino siempre hemos tenido prestigio en el medio rural.		0,703	
El turismo y las políticas medioambientales acabarán con la ganadería.			0,899
Las administraciones no nos dan suficiente apoyo técnico.	- 0,563		0,606
% Varianza total explicada	23,20%	22,92%	16,40%

KMO = 0,586 Prueba de esterilidad de Bartlett Chi-cuadrado = 52,693 (p<0,003)

**Tabla 2.** Opiniones medias sobre la profesión, la actividad ovina y las relaciones con el Parque de los diferentes grupos de explotaciones.

Opiniones sobre la explotación, oficio y sector	Grupos			
	1	2	3	4
Cualquier otro trabajo agrícola es mejor que ser ganadero	2,4	2,0	3,3	3,0
Estoy satisfecho y orgulloso con mi actividad de ganadero de ovino	4,2	4,4	3,2	3,4
La ganadería de ovino es una actividad con muy buen futuro en esta zona	1,9	3,2	2,1	1,4
Para hacer rentable mi explotación tendría que hacer inversiones en tierra, ganado o instalaciones	1,8	4,0	3,7	2,4
El ovino es menos rentable que otras actividades agrícolas y ganaderas	4,5	2,8	2,8	3,3
Los ganaderos de ovino siempre hemos tenido prestigio en el medio rural	2,1	3,5	3,4	2,6
El turismo y las políticas medioambientales acabarán con la ganadería	3,8	2,8	4,0	1,4
Las administraciones no nos dan suficiente apoyo técnico	3,8	2,3	4,3	3,1
<b>Variables no incluidas en el Análisis Cluster</b>				
Me gustaría cambiar a otra actividad no agraria	1,6	1,6	1,9	1,5
Los ganaderos a diferencia de otros oficios somos independientes y llevamos una vida sana	4,2	3,7	3,7	4,0
La ganadería de ovino podrá subsistir sin subvenciones y ayudas	1,5	2,3	2,4	2,0
A mi familia no le gusta la actividad ganadera ovina	2,0	2,5	2,2	1,8
Los precios de la carne de ternasco han crecido más que los costes	1,3	1,2	1,4	1,0
La gente no nos tiene consideración a los ganaderos de ovino	3,6	3,3	3,4	2,8
Las medidas de política sanitaria y medioambiental no dificultan nada nuestra actividad	2,3	2,9	2,8	2,8
<b>Total de explotaciones</b>	<b>13</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>8</b>

# *Nutrición y alimentación*



## NECESIDADES DE LISINA EN LA FASE DE CRECIMIENTO DE CERDOS BLANCOS GRASOS

Suárez-Belloch, J.<sup>1</sup>, Latorre, M.A.<sup>1</sup>, Ferrando, J.<sup>2</sup>, Martínez D.<sup>2</sup>; Guada J.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza  
[jsuarezbelloch@gmail.com](mailto:jsuarezbelloch@gmail.com)

<sup>2</sup>Turolense Ganadera SA. Avda. Academia General Militar, torre 255, 50015 Zaragoza

### INTRODUCCIÓN

La fase de crecimiento del cerdo es la que presenta mayores necesidades proteicas y aminoacídicas. En este sentido, FEDNA (2006) recomienda entre 1,03 y 1,07% de lisina (lys) para cerdos de 20 a 60 Kg de peso vivo (PV) y el NRC (2012) 1,12 y 0,97% lys para rangos de PV de 25 a 50 y de 50 a 75 kg, respectivamente. Además, la cobertura de necesidades en esta fase tiene una gran repercusión en los rendimientos productivos de fases posteriores (O'Connell *et al.*, 2006; Reynolds y O'Doherty, 2006). No obstante, hay que tener en cuenta que estas recomendaciones dependen fundamentalmente del potencial de retención proteica de los animales, que ha experimentado un constante incremento en los últimos años como resultado de la selección genética de variedades magras de madurez tardía. Sin embargo, en los sistemas de producción de cerdo graso, como el del Jamón de DO Teruel, se utilizan cruces Duroc x (Landrace x Large White) para incrementar el engrasamiento, lo que probablemente disminuye sus necesidades proteicas. El aporte de un pienso ajustado a los requerimientos de estos animales permitiría una reducción del coste de alimentación contribuyendo, además, a una mayor sostenibilidad medioambiental. Así pues, el objetivo del presente experimento fue determinar las necesidades en lys de cerdos en crecimiento en condiciones comerciales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 200 cerdos Duroc x (Landrace x Large White), mitad machos castrados y mitad hembras, de  $26,3 \pm 0,50$  kg PV y  $73 \pm 3$  días de edad, que fueron alojados en función del sexo y peso de entrada en 40 departamentos distribuidos en bloques al azar a 4 piensos experimentales que contenían 11, 9.1, 7.8 y 5.2 g lys total/kg. Para su formulación se partió de la dieta con 11 g lys/kg y se realizó una sustitución progresiva de harina de soja por cebada, dando como resultado dietas con 24.0, 19.3, 16.2 y 14.9% de proteína bruta (PB) y una proporción de la misma como proteína ideal del 65, 67, 69 y 50%, respectivamente, siendo en todos los casos la lys el primer aminoácido limitante. Los piensos se suministraron durante 45 días.

Se registró el peso de todos los animales y el aporte y rehúso de pienso cada 14 días para el cálculo de la ganancia media diaria (GMD), consumo medio diario (CMD) e índice de conversión (IC). Al final del ensayo se tomaron muestras de sangre de tres animales por réplica para el análisis del contenido en urea, albúmina, triglicéridos y colesterol.

Lo datos fueron analizados por el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS como un modelo factorial (2 sexos x 4 dietas) en diseño de bloques al azar, con cinco réplicas por tratamiento, siendo la réplica el departamento. Se estimaron los componentes lineal y cuadrático de la respuesta a la dieta mediante polinomios ortogonales. Cuando el componente cuadrático fue significativo, el nivel mínimo de lys ( $X_m$ ) para la saturación de la respuesta se determinó mediante el ajuste de un modelo lineal segmentado en el que  $y = a + b \cdot X$  cuando  $lys < X_m$ , e  $y = a + b \cdot X_m$  cuando  $lys > X_m$ , utilizando para ello el procedimiento iterativo NLIN del SAS.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto el peso final como la GMD disminuyeron con la restricción en lys del pienso ( $p < 0,0001$ ), siendo la respuesta similar en ambos sexos a pesar de que el crecimiento de las hembras fue un 4% menor ( $p = 0,04$ ) (Tabla 1). El tratamiento dietario también afectó al IC ( $p < 0,0001$ ), que empeoró al reducir el nivel de lys en el pienso, sin mostrar diferencias entre sexos debido, probablemente, a la distinta respuesta en el CMD (interacción lys x sexo;  $p = 0,07$ ); mientras la ingestión de alimento en los machos sólo se vio reducida por el nivel más bajo de lys, en las hembras la disminución fue más progresiva. También se encontraron diferencias entre bloques del 26 y el 17% en el CMD y la GMD ( $p < 0,0001$ ), con aumentos de

51 ± 7,2 y 14 ± 2,8 g/d, respectivamente, por cada kg de incremento en el PV de entrada en cebadero que, sin embargo, apenas afectaron al IC.

El efecto del nivel de lys del pienso sobre todos los parámetros productivos estudiados fue de tipo cuadrático, indicando que el nivel más alto de dicho aminoácido tuvo una influencia nula o escasa. A partir de las respuestas de la GMD y el IC al contenido en lys del pienso se estimaron las necesidades como el contenido mínimo de lys necesario para saturar la respuesta, dando como resultado 9,68 ± 0.032 y 9,52 ± 0.030 g Lys/kg pienso, respectivamente. Estos valores son muy similares entre sí y resultan inferiores a los propuestos por el NRC (2012) y FEDNA (2006) para estirpes magras (12 y 10,5 g Lys/kg, respectivamente), pero superiores a las recomendaciones de FEDNA (2006) para cerdos precoces como el Ibérico (8,2 g Lys/kg). Los resultados confirman la posibilidad de optimizar los aportes ajustando las necesidades al aumento de precocidad que supone el cruce de variedades magras con Duroc como macho finalizador.

En la Tabla 2 se muestran los efectos metabólicos en la sangre de los cerdos al restringir el contenido en lys del pienso. A medida que se redujo el contenido en lys se produjo un aumento del contenido sérico de triglicéridos ( $p < 0,001$ ) y colesterol ( $p = 0,03$ ), acompañado de una disminución de la concentración de albúmina ( $p = 0,004$ ) y de un aumento cuadrático del nivel de urea ( $p = 0,009$ ). Mientras que la respuesta de los tres primeros es coherente con el incremento en lipogénesis consecuente a una limitación de la síntesis proteica provocada por la limitación en la disponibilidad de aminoácidos, la respuesta de la urea estaría más relacionada con el consumo de proteína de bajo valor biológico. De hecho, la concentración de urea aumentó exclusivamente en la dieta con menor contenido en PB pero más desequilibrada, como refleja su menor proporción de proteína ideal (50% de la PB).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- FEDNA (2006). Necesidades nutricionales para ganado porcino. *Normas de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal*. (pp 12 y 19).
- NRC (2012) Nutrient requirements of swine. *Animal Nutrition Series, National Research Council*. (pp 210-211).
- O'Connell, M.K., Lynch, P.B. y O'Doherty, J.V. 2006. *Livestock Science* 101: 169-179.
- Reynolds, A.M. y O'Doherty, J.V. 2006. *Livestock Science* 104: 112-122.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el Proyecto CDTI IDI-20090836, con participación del Departamento de Industria e Innovación del Gobierno de Aragón y el Fondo Social Europeo.

#### LYSINE REQUIREMENTS FOR GROWTH OF FATTY COMMERCIAL PIGS

**ABSTRACT:** Lysine (lys) requirements for growth were studied in a trial with 200 Duroc x (Landrace x Large White) pigs, 50% barrows and 50% gilts of 26.3 ± 0.5 kg, receiving diets with 11, 9.1, 7.8 and 5.2 g lys/kg in a randomized block factorial design (2 sexes x 4 diets) with 5 replicates per treatment of 5 pigs per pen. Animals were fed the experimental feeds during 45 days. Productive performance results from all pigs and blood samples from three pigs per pen were studied. Average daily gain (ADG) and feed conversion ratio (FCR) were affected by diet, being the response curvilinear and independent of sex which allowed setting the requirements of lys as 9.68 and 9.52 g/kg to saturate the response of ADG and FCR, respectively. Serum triglycerides and cholesterol increased and albumin decreased when dietary lys content was restricted, while serum urea increased for the diet recording the lowest ideal protein content (5.2 g lys/kg and 35 g lys/kg crude protein).

**Key words:** Lysine; requirements; heavy pigs.

**Tabla 1.** Resultados productivos de cerdos Duroc x (Landrace x Large White) alimentados con piensos con diferente contenido en lisina (lys) durante el crecimiento.

	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	GMD (g/d)	CMD (g MF/d)	IC (g MF/g)
g lys/kg pienso					
11	26,2	63,9 <sup>a</sup>	857 <sup>a</sup>	1799 <sup>a</sup>	2,10 <sup>c</sup>
9,1	26,7	63,0 <sup>a</sup>	819 <sup>a</sup>	1772 <sup>a</sup>	2,17 <sup>c</sup>
7,8	26,1	55,8 <sup>b</sup>	667 <sup>b</sup>	1738 <sup>a</sup>	2,60 <sup>b</sup>
5,2	26,3	46,9 <sup>c</sup>	462 <sup>c</sup>	1478 <sup>b</sup>	3,21 <sup>a</sup>
EEM (n=10)	0,25	0,73	13,7	41,1	0,054
Sexo					
MC	25,8	57,6	716	1699	2,48
H	26,9	57,3	687	1695	2,56
EEM (n=20)	0,04	0,85	9,7	29,0	0,038
Significación					
Lys-lineal	0,82	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Lys-cuadrática	0,61	<0,0001	<0,0001	0,008	<0,0001
Sexo	0,0001	0,68	0,04	0,92	0,15
Lys*sexo	0,45	0,47	0,17	0,07	0,45

GMD: ganancia media diaria; CMD: consumo medio diario; IC: índice de conversión; MC: machos castrados; H: hembras; EEM: error estándar de la media (la unidad experimental fue el departamento con 5 animales).

<sup>a,b,c</sup> En cada columna, diferentes superíndices indican diferencias significativas.

**Tabla 2.** Niveles séricos de cerdos Duroc x (Landrace x Large White) alimentados con piensos con diferente contenido en lisina (lys) durante el crecimiento.

	Albúmina (mg/dl)	Urea (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)	Colesterol (mg/dl)
g lys/kg pienso				
11	3,98 <sup>a</sup>	33,1 <sup>ab</sup>	43,6 <sup>b</sup>	90,9 <sup>b</sup>
9,1	3,82 <sup>a</sup>	31,6 <sup>b</sup>	47,0 <sup>b</sup>	94,9 <sup>b</sup>
7,8	3,09 <sup>b</sup>	30,7 <sup>b</sup>	52,3 <sup>ab</sup>	98,0 <sup>b</sup>
5,2	2,55 <sup>c</sup>	36,0 <sup>a</sup>	60,0 <sup>a</sup>	113,8 <sup>a</sup>
EEM (n=10)	0,061	1,21	3,36	2,70
Sexo				
MC	3,37	33,8	51,6	100,8
H	3,35	31,9	49,8	98,0
EEM (n=20)	0,043	0,13	0,60	0,31
Significación				
Lys-lineal	<0,0001	0,17	<0,001	<0,0001
Lys-cuadrática	0,004	0,009	0,52	0,03
Sexo	0,82	0,43	0,60	0,48
Lys*sexo	0,72	0,73	0,59	0,33

MC: machos castrados; H: hembras; EEM: error estándar de la media (la unidad experimental fue el departamento con 3 animales).

<sup>a,b,c</sup> En cada columna, diferentes superíndices indican diferencias significativas.

## EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN DE VITAMINA A SOBRE EL METABOLISMO DE ÁCIDOS GRASOS EN MÚSCULO Y GRASA DE CERDOS IBÉRICOS

Ayuso<sup>1</sup>, M., Isabel<sup>1</sup>, B., Rey<sup>1</sup>, A.I., Fernández<sup>2</sup>, A., Segura<sup>1</sup>, J., Daza<sup>3</sup>, A., Óviló<sup>2</sup>, C., López-Bote<sup>1</sup>, C.J.

<sup>1</sup> Dpto. Producción Animal, UCM. Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid

<sup>2</sup> Dpto. de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. A Coruña km 7.5. 28040 Madrid

<sup>3</sup> Dpto. Producción Animal, UPM. Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid

mayher@live.com

### INTRODUCCIÓN

La cantidad y composición de la grasa de la canal son factores de gran importancia desde el punto de vista productivo, tecnológico, así como de aceptación y salud del consumidor. En el caso de monogástricos, la composición de ácidos grasos (AG) de los tejidos puede modificarse mediante cambios en la dieta, que tradicionalmente han consistido en cambios en el origen y composición de la grasa del pienso (Resenvold y Andersen, 2003). Más recientemente, se ha comprobado que algunos micronutrientes, como la vitamina A, pueden provocar cambios cuantitativos y cualitativos de la grasa subcutánea e intramuscular (Gorocica-Buenfil et al., 2008; Olivares et al., 2009), y por ello la manipulación de estos micronutrientes se ha propuesto como una posible herramienta para modificar la calidad de la canal y de la carne.

La vitamina A (vit A) es un retinoide natural liposoluble que se ha asociado al control de la adipogénesis (Bonet et al., 2003). Sin embargo, el efecto es poco consistente y los estudios realizados en distintas especies ganaderas han obtenido resultados muy distintos. Algunos autores han observado que la restricción de vit A en la dieta está correlacionada positivamente con la grasa intramuscular en porcino y vacuno (D'Souza et al., 2003; Siebert et al., 2006; Gorocica-Buenfil et al., 2007), mientras otros no han encontrado tal relación en vacuno (Pyatt et al., 2005) e incluso se ha descrito el efecto contrario en corderos (Arnett et al., 2007). Algo similar ocurre con la influencia de la vit A de la dieta sobre la composición de la grasa. El objetivo de este estudio es comprobar el efecto de la restricción de vit A sobre aspectos productivos y del metabolismo de AG en tejido muscular y adiposo de cerdos ibéricos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y toma de muestras:** Se emplearon 40 machos ibéricos castrados, de estirpe Torbiscal, nacidos en el CIA "Dehesón del Encinar". A los dos meses de edad se establecieron dos grupos experimentales: control (C, n=20) y restringido (R, n=20), que consumieron el mismo pienso que el grupo control pero sin aporte de vit A en el corrector. Los animales se pesaron quincenalmente. Veinte animales (10C y 10R) se sacrificaron con aproximadamente 100 kg de peso vivo y el resto con 160 kg. Tras el sacrificio, se recogieron muestras de músculo *longissimus dorsi* y de tocino dorsal a la altura de la última costilla. Se registró el peso de la canal, el espesor del tocino dorsal y el peso de las principales piezas cárnicas.

**Análisis composición de AG:** La extracción se realizó mediante el procedimiento one-step descrito por Sukhija y Palmquist (1988) a partir de muestras liofilizadas y su posterior análisis en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard HP-6890 (Avondale, PA, USA). Se empleó un patrón interno (C15:0) para determinar la cantidad total de grasa intramuscular.

**Estudio de expresión diferencial:** Se cuantificó la cantidad de ARNm de la enzima *SCD* (*stearoyl-CoA desaturase* o  $\Delta$ -9 *desaturasa*) en grasa, mediante PCR cuantitativa.

**Análisis estadístico:** La influencia de la dieta sobre la composición de AG se analizó con un modelo lineal incluyendo la media, la dieta y el efecto residual, mediante un análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 2002).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los dos grupos experimentales presentaron pesos similares a lo largo del ensayo. No se observaron diferencias entre ellos en el peso de la canal, el espesor del tocino dorsal ni en el rendimiento de piezas cárnicas en ninguno de los dos sacrificios realizados.

El contenido en grasa intramuscular del lomo fue también similar en ambos grupos (5.2 vs 5.7 y 9 vs 10.4% en el primer y segundo sacrificio respectivamente), por lo que no se



confirman los hallazgos previos relativos al efecto positivo de la reducción del aporte de la vit A sobre la adipogénesis muscular en el cerdo (D´Souza et al., 2003, Olivares et al., 2011). Esto podría ser debido en parte a una insuficiente potencia estadística en este ensayo, atribuible al reducido número de animales empleados y a la gran variabilidad fenotípica que para este carácter presenta el cerdo ibérico respecto a otras razas más seleccionadas.

Sin embargo, el tratamiento tuvo efecto significativo sobre la composición de los tres tejidos analizados (Tabla 1), siendo este efecto mayor en las muestras obtenidas en el sacrificio más tardío (160 kg). En éste, se observa un efecto de la restricción de vit A sobre la mayor parte de los AG, con el grupo R presentando mayor proporción de AG monoinsaturados (AGMI) y menor proporción de saturados (AGS), tanto en las dos capas (externa e interna) de la grasa dorsal como en el lomo. En concordancia, los índices de instauración (Ind. Ins) fueron mayores en el grupo R. El ácido linoléico presentó tendencias opuestas en las dos capas del tocino dorsal, interna y externa.

Estudios previos muestran tanto un efecto positivo de la vit A sobre los AG monoinsaturados en ovejas (Daniel et al., 2004), como el efecto contrario en vacuno (Gorocica-Buenfil et al., 2008). En porcino, los estudios son escasos y muestran efectos de la restricción de vit A dependientes del tipo genético (Olivares et al., 2009), observando un ligero efecto positivo de la restricción sobre la cantidad de AGMI en tipos genéticos grasos. Este efecto es similar pero de menor magnitud al aquí descrito en el sacrificio de 160 kg. La magnitud del efecto detectado en nuestro trabajo puede deberse al tipo genético empleado, extremadamente graso, o a la mayor duración del tratamiento y mayor peso al sacrificio.

Además de los porcentajes de AG, se evaluaron también los índices C16:1/C16:0 y C18:1/C18:0, frecuentemente utilizados como una medida indirecta de la actividad delta-9-desaturasa, presentando mayores valores en el grupo R. El estudio de expresión del enzima *SCD* en tejido adiposo, muestra diferencias en los dos grupos experimentales ( $p < 0.04$ ). Los animales del grupo R mostraron un 26% más de expresión respecto a los del grupo C. Estos resultados concuerdan con los efectos observados a nivel de composición de AG, ya que el enzima *SCD* actúa principalmente sobre la desaturación de ácidos palmítico a palmitoleico y de esteárico a oleico, por lo que su mayor expresión está asociada a una mayor proporción de AGMI. Este resultado concuerda con la inhibición que la vit A ejerce sobre la expresión y la actividad de *SCD* descrita en algunos trabajos (Miyazaki y Ntambi, 2003; Siebert et al., 2006 y Gorocica-Buenfil et al., 2008).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arnett, A.M., Dikeman, M.E., Spaeth, C.W., Johnson, B.J., Hildabrand, B. 2007. *J. Anim. Sci.* 85: 3062–3071. ♦ Attie AD, Krauss RM, Gray-Keller MP, Brownlie A, Miyazaki M, Kastelein JJ, Lusis AJ, Stalenhoef AF, Stoehr JP, Hayden MR, Ntambi JM. 2002. *J Lipid Res* 43: 1899–190. ♦ Bonet, ML., Ribot, J., Felipe, F., Palou, A. 2003. *Cell Mol Life Sci.* 60: 1311-1321. ♦ Daniel, Z.C.T.R., Salter, A.M., Buttery, P. J. 2004. *Anim Sci.* 78: 237-243. ♦ D´Souza et al., 2003, D´Souza, D.N.D., Pethick, D.W., Dunshea, F.R., Pluske, J.R., Mullan, B.P. 2003. *Aust J Agric Res.* 54: 745–749. ♦ Gorocica-Buenfil, M.A., Fluharty, F.L., Bohn, T., Schwartz, S.J., and Loerch, S.C. 2007. *J. Anim. Sci.* 85: 3355-3366. ♦ Gorocica-Buenfil, MA., Fluharty, FL., Loerch, SC. 2008. *J Anim Sci.* 86: 1609-1616. ♦ Miyazaki, M., Ntambi, JM. 2003. *PLEFA.* 68: 113-121. ♦ Olivares, A., Daza, A., Rey, A.I., López-Bote, C.J. 2009. *Meat Sci.* 81: 6–12. ♦ Olivares, A., Rey, A.I., Daza, A., López-Bote, C.J. 2011. *Livest Sci.* 137: 31-36. ♦ Pyatt, N.A., Berger, L.L., Nash, T.G. 2005. *Professional Anim Sci.* 21: 318-331. ♦ Resenvold, K. y Andersen, H.J. 2003. *Meat Sci.* 64: 219-237. ♦ Siebert, BD., Kruk, ZA., Davis, J., Pitchford, WS., Harper, GS., Bottema, CDK. 2006. *Lipids.* 41: 365-370. ♦ Sukhija, P.S., Palmquist, D.L. 1988. *J Agric Food Chem.* 36: 1202–1206. ♦ Zolfaghari, R., Ross, AC. 2003. *PLEFA.* 68: 171-179.

**Agradecimientos:** AGL2010-21991-C03-00, CAM-S2009-AGR1704, personal del CIA ‘Dehesón del Encinar’ (Oropesa, Toledo) e I. Martín de la Torre.

## EFFECT OF VITAMIN A RESTRICTION ON FATTY ACID METABOLISM OF MUSCLE AND BACKFAT FROM IBERIAN PIGS

**ABSTRACT:** Vitamin A restriction has been proposed as a strategy for improving meat and carcass quality in farm animals. We studied the effects of dietary vitamin A restriction on

productive traits, tissue fatty acid (FA) composition and expression of *SCD* gene in Iberian pigs. Forty Torbiscal pigs were given a standard or a Vitamin A restricted diet from two months of age until sacrifice at 100 and 160kg LW. Diet had no effect on growth, fatness, yields or intramuscular fat, but animals receiving no vitamin A supplementation showed higher monounsaturated FA and lower saturated FA concentration in backfat and loin samples. Adipose tissue *SCD* gene expression was higher in vitamin A restricted animals, in accordance with phenotypic results.

**Keywords:** vitamin A, fatty acid profile, Iberian pig

Tabla 1. Composición de AG en tejido adiposo subcutáneo (capa interna y externa) y muscular, de cerdos ibéricos alimentados con pienso control o restringido en vit A, a los 100 kg y 160 kg de peso vivo

		SACRIFICIO 100 kg			SACRIFICIO 160 kg		
		CONTROL	RESTR.	P	CONTROL	RESTR.	P
				valor			valor
CAPA EXTERNA	C16:0	23,06 ± 0,73	23,34 ± 0,72	0,415	21,36 ± 0,46	20,48 ± 0,26	<,0001
	C16:1n-9	0,27 ± 0,02	0,34 ± 0,05	0,001	0,26 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,113
	C18:0	12,35 ± 0,58	12,13 ± 0,55	0,410	11,57 ± 0,63	10,57 ± 0,47	0,001
	C18:1n-9	45,79 ± 1,13	45,70 ± 0,89	0,845	48,83 ± 0,78	51,07 ± 0,46	<,0001
	C18:2n-6	8,44 ± 0,25	8,30 ± 0,37	0,337	8,43 ± 0,32	8,05 ± 0,37	0,029
	AGS	37,40 ± 1,31	37,48 ± 0,46	0,861	34,87 ± 1,09	32,89 ± 0,46	<,0001
	AGMI	52,92 ± 1,27	53,11 ± 0,59	0,690	55,07 ± 0,77	57,42 ± 0,41	<,0001
	AGPI	9,68 ± 0,26	9,41 ± 0,37	0,082	10,06 ± 0,39	9,70 ± 0,44	0,076
	Ind, Ins	72,94 ± 1,44	72,52 ± 0,64	0,436	76,27 ± 1,48	78,00 ± 0,89	0,006
	16:1/16:0	0,012 ± 0,00	0,015 ± 0,00	0,000	0,012 ± 0,00	0,014 ± 0,00	0,027
18:1/18:0	3,72 ± 0,27	3,77 ± 0,16	0,604	4,24 ± 0,28	4,84 ± 0,22	<,0001	
CAPA INTERNA	C16:0	24,26 ± 1,05	24,58 ± 1,20	0,545	23,09 ± 0,51	21,52 ± 0,51	<,0001
	C16:1n-9	0,25 ± 0,03	0,26 ± 0,05	0,375	0,25 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,030
	C18:0	15,25 ± 1,13	15,02 ± 1,54	0,706	14,21 ± 0,72	12,80 ± 0,65	0,000
	C18:1n-9	43,96 ± 1,49	43,90 ± 2,01	0,938	47,04 ± 0,69	49,72 ± 0,75	<,0001
	C18:2n-6	7,15 ± 0,41	7,23 ± 0,45	0,673	7,02 ± 0,41	7,33 ± 0,22	0,049
	AGS	41,42 ± 2,03	41,53 ± 2,33	0,919	39,15 ± 1,07	36,08 ± 0,74	<,0001
	AGMI	50,44 ± 1,64	50,35 ± 2,28	0,922	52,60 ± 0,74	55,23 ± 0,63	<,0001
	AGPI	8,14 ± 0,51	8,12 ± 0,48	0,954	8,25 ± 0,47	8,69 ± 0,27	0,020
	Ind, Ins	67,20 ± 2,55	67,07 ± 2,40	0,906	69,95 ± 1,51	73,58 ± 0,93	<,0001
	16:1/16:0	0,010 ± 0,00	0,011 ± 0,00	0,432	0,011 ± 0,00	0,013 ± 0,00	0,003
18:1/18:0	2,90 ± 0,31	2,96 ± 0,36	0,733	3,32 ± 0,20	3,89 ± 0,23	<,0001	
MÚSCULO	C16:0	24,17 ± 1,28	24,77 ± 0,92	0,240	25,42 ± 0,68	24,43 ± 0,59	0,004
	C16:1	4,22 ± 0,48	4,36 ± 0,46	0,515	4,18 ± 0,52	4,29 ± 0,30	0,581
	C18:0	11,33 ± 0,61	11,54 ± 0,69	0,477	11,51 ± 0,53	10,43 ± 0,54	0,000
	C18:1n-9	43,19 ± 2,90	42,96 ± 1,82	0,837	45,81 ± 1,10	48,11 ± 0,90	0,000
	C18:2n-6	6,52 ± 2,01	6,12 ± 1,54	0,625	4,35 ± 0,50	4,24 ± 0,52	0,640
	AGS	37,30 ± 1,58	38,19 ± 1,35	0,190	38,95 ± 0,76	36,76 ± 1,00	<,0001
	AGMI	53,63 ± 2,74	53,47 ± 1,68	0,877	55,39 ± 0,82	57,82 ± 1,06	<,0001
	AGPI	9,08 ± 2,98	8,34 ± 2,16	0,537	5,66 ± 0,78	5,42 ± 0,69	0,491
	Ind, Ins	74,50 ± 4,86	72,57 ± 3,80	0,334	67,78 ± 1,53	69,61 ± 1,47	0,017
	16:1/16:0	0,174 ± 0,01	0,176 ± 0,02	0,809	0,164 ± 0,02	0,175 ± 0,01	0,109
18:1/18:0	3,83 ± 0,41	3,74 ± 0,30	0,568	3,98 ± 0,17	4,63 ± 0,30	<,0001	

## EMPLEO DE GUISANTE (*Pisum sativum*) Y ALBERJÓN (*Vicia narbonensis*) COMO FUENTES PROTEICAS EN DIETAS PARA CERDOS GRASOS. RENDIMIENTO PRODUCTIVO.

Gómez-Fernández<sup>1</sup>, J., De Mercado<sup>1</sup>, E., Muzquiz<sup>2</sup>, M., Guillamón<sup>2</sup>, E., Varela<sup>2</sup>, A., Tomás<sup>3</sup>, C., López-Nuez<sup>4</sup>, P., Gómez-Izquierdo<sup>1\*</sup>, E.

<sup>1</sup> Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL. Ctra. Riaza-Toro s/n, 40353 Hontalbilla (Segovia). <sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigación Agraria y Agroalimentaria (INIA), Madrid-Soria. <sup>3</sup> Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA-IVIA), Segorbe (Castellón).

<sup>4</sup> Copiso Soria Sociedad Cooperativa, Soria. Correo electrónico: \*gomizqem@itacyl.es

### INTRODUCCIÓN

El interés que despiertan las leguminosas grano como fuente proteica para alimentación porcina es patente, más aún si tenemos en cuenta la dependencia externa de materias primas utilizadas con esta finalidad que padecemos en Europa, y que nos obliga a importar masivamente soja (Cesfac, 2011). Los guisantes (*Pisum sativum*) se han empleado con buenos resultados en nutrición porcina (Stein et al., 2006; Mateos et al., 2008), si bien, hay una gran cantidad de variedades que difieren tanto en las características agronómicas, muy a tener en cuenta, como en la cantidad de inhibidores de proteasas, que dificultan el metabolismo de la proteína de la dieta, principalmente en primeras edades. Por otro lado, existen otras leguminosas adaptadas a condiciones ambientales extremas, como sucede en Castilla y León, resistentes a plagas y enfermedades, de las que no se dispone de suficientes datos prácticos en alimentación de ganado porcino. Sería el caso del alberjón (*Vicia narbonensis*), con cantidades de proteína y aminoácidos limitantes más favorables que los guisantes (Hadjipanayiotou y Economides, 2006), y un factor antinutritivo, el  $\gamma$ -glutamyl-S-ethenyl cysteine (GEC) que, a niveles elevados, disminuye la palatabilidad del pienso (Enneking, 1995). El objetivo del estudio fue reemplazar soja por guisante variedad cartouche, solo o con alberjón y sin tratamientos previos, en piensos de la fase de cebo de cerdos grasos, comparando resultados productivos en granja.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 192 lechones (50% de cada sexo; machos castrados), con un peso inicial de  $30,78 \pm 4,06$  kg, (73  $\pm$  2 días de edad) y genética PIC-L65 x (Large White x Landrace). Los animales, identificados previamente, se agruparon en función del peso inicial y el sexo: machos castrados (MC) y hembras (H), en cuatro salas, con 12 departamentos de 5,49m<sup>2</sup> cada uno (réplica con 4 cerdos; 1,35 m<sup>2</sup>/cerdo), tolva tipo holandés y bebedero de chupete. El diseño fue al azar con 6 tratamientos (factorial 3 x 2), con 3 piensos (16 réplicas de cada uno; 24 por sexo), isoenergéticos, que diferían en las fuentes proteicas (Tabla 1): A, control; B, 10% de alberjón y guisante cartouche; C, guisante cartouche. El pienso se suministró *ad libitum* y en gránulo de 2,5 mm. Se controló el consumo medio diario (CMD), la ganancia media diaria (GMD) y la conversión (IC) a los 73, 87, 95, 107, 128, 148 y 162 días de edad en cada réplica. Cuando alcanzaron  $122 \pm 18,80$  kg PV medio, finalizó la prueba de granja. La actividad de inhibidores de tripsina (Tabla 2) se estimó por el método de Kakade et al. (1974), modificado por Grant et al. (1995) y Muzquiz et al. (2004), usando BAPNA (N $\alpha$ -benzoyl-DL-arginina-P-nitroanilida) como sustrato. En el caso de los inhibidores de quimotripsina, se empleó el método de Sathe y Salunkle (1981) usando BTEE (N-Benzoyl-Tyrosine-Ethyl Esther) como sustrato. El GEC se valoró exclusivamente en alberjones, con la técnica de Sánchez-Vioque et al. (2011).

Los datos se analizaron mediante los procedimientos GLM y REG del SAS® 9.1 (2004), siendo el pienso y el sexo los efectos principales y el peso inicial la covariable; el efecto de la sala (bloque) se retiró del modelo al no ser significativo ( $P > 0,05$ ). Se realizó un análisis de covarianza con el siguiente modelo:  $Y_{ijk} = \mu + \text{Pienso}_i + \text{Sexo}_j + \alpha P_0 + \varepsilon_{ijk}$ , donde: Y: variable productiva (GMD, CMD e IT),  $\mu$ : media general,  $\alpha$ : coeficiente de regresión parcial entre P0 e Y, P0: peso inicial covariable y  $\varepsilon$ : error residual. Las medias se compararon con un t-test, ajustándose por mínimos cuadrados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la fase de crecimiento (1-3: 30 a 45 kg de PV) el pienso A mostró resultados más favorables ( $P < 0,05$ ) que B y C (Tabla 3). A partir de esta fase, los piensos A y C igualaron su resultados ( $P > 0,05$ ). El pienso B presentó peores crecimientos ( $P < 0,05$ ) que el A y C en las fases de cebo (3-5: 45 a 95 kg de PV) y acabado (5-8: 95 a 122 kg de PV). Globalmente (1-8) los cerdos que consumieron los piensos A y C obtuvieron similares resultados productivos de CMD, GMD e IC; por el contrario los cerdos del pienso B, tuvieron menor CMD, que se tradujo en una GMD más baja con peor IC ( $P < 0,05$ ). El efecto del sexo (Tabla 3) sigue la pauta de otras pruebas con cerdos grasos y MC (Latorre, 2003), con mejor IC global en H ( $P < 0,05$ ) a expensas de menor CMD, y mayor GMD en MC ( $P < 0,05$ ). No hubo interacción pienso x sexo. Podemos concluir que variedades de guisantes con niveles  $\leq 10$  TIU-CIU (Unidades de Inhibición de Tripsina y Quimotripsina) pueden suplir a la soja en cerdos a partir de los 30 kg PV; por el contrario la inclusión de un 10% de alberjones, hace menos palatable el pienso, perjudicando el rendimiento productivo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Cesfac, 2011. • Enneking, D. 1995. PhD thesis, University of Adelaide. • Grant, G., Dorward, P. M., Buchan, W. C., Armour, J. C. & Pusztai, A. 1995. Br. J. Nutr. 73, 17-29. • Hadjipanayiotou, M., Economides, S. 2001. Liv. Res. Rural Dev. 13 (6). • Kakade, M., Racki, J. J., McGhee, J. E. & Puski, G. 1974. Cereal Chem. 51: 376-382. • Latorre, M. A. 2003. Tesis Doctoral UPM. • Mateos, G. G., Valencia, D. G. & Serrano, M. P. 2008. A. E. de Leguminosas. • Muzquiz, M., Welham, T., Altares, P., Goyoaga, C., Cuadrado, C., Romero, R., Guillamón, E. & Domoney, C. 2004. J. Sci. Food Agric. 84: 556-560. • Sánchez-Vioque, R., Girón, J., Rodríguez, M.F., Vioque, J., De los Mozos, M., Santana, O., Izquierdo, M. E. & Alaiz, M., 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 165: 125-130. • SAS Institute, 2004. • Sathe, S. K. & Salunkhe, D. K. 1981. J. Food Sci. 46: 626-629. • Stein, H.H., Everts, A. K. R., Sweeter, K. K, Peters, D.N., Maddock, R. J., Wulf, D. M. & Pedersen, C. 2006. J Anim. Sci. 84 (11): 3110-3117.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen al Dr. Marcelino de los Mozos, del Centro de Investigación Agraria de Albaladejito (Cuenca), la valiosa colaboración y asistencia técnica en los análisis de GEC. Este trabajo ha sido financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (IDI-2010-0284) y la Agencia de Inversiones y Servicios de Castilla y León (04-09-SO-0013).

## EMPLOYMENT PEA (*Pisum sativum*) AND NARBON VETCH (*Vicia narbonensis*) AS PROTEIN SOURCES IN DIETS FOR FATTY PIGS. ZOOTECHNICAL PERFORMANCE.

**ABSTRACT:** A total of one hundred ninety-two crossbred pigs PIC-L65 x (Large White x Landrace) with an initial BW of  $30.78 \pm 4.06$  kg ( $73 \pm 2$  days of age) were used to assess the substitution of soybean meal by pea (*Pisum sativum*) or pea with 10% narbon vetchs (*Vicia narbonensis*). There were six experimental treatments (48 total replicas and four pigs per replicate) with gilts and barrows, and three feedstuff (with the same energetic and proteine levels): 1) soybean meal 47; 2) pea; 3) pea with 10% narbon vetch. We evaluated the effect of anti-nutritional factors: protease inhibitors in pea and narbon vetch (trypsin -TIU- and chymotrypsin -CIU- inhibitors), and  $\gamma$ -glutamyl-S-ethenyl-cysteine in narbon vetch. For the entire experimental period (up to 122 kg BW) pigs which have consumed soybean meal and peas, obtained similar results of ADFI, ADG and FC ( $P > 0,05$ ), while 10% of narbon vetch inclusion, feedstuff 3, causes a lower ADFI and in therefore lower ADG with FC worse ( $P < 0,05$ ). The effect of sex follows the pattern of other tests with fattening pigs, with better overall FC in gilts ( $P < 0,05$ ) due to lower ADFI, and greater ADG in barrows. We conclude that peas with levels  $\leq 10$  TIU-CIU, can supply to soybean meal in pigs from 30 kg BW, on the contrary the inclusion of 10% narbon vetch, less palatable feed, hurting productivity performance.

**Keywords:** Fattening pigs, narbon vetch, pea, antinutritional factors.

**Tabla 1.** Composición y análisis calculado de los piensos experimentales.

Ingredientes	Crecimiento 1-3			Cebo 3-5			Acabado 5-8		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Soja 47	15,35			10,90			8,70		
Guisante cartouche		42,98	61,81		37,80	51,83		22,70	37,10
Alberjón ZV220		9,90			10,00			10,00	
Cebada	52,06	15,84	6,93	57,78	22,00	18,00	60,62	37,40	33,00
Trigo	24,75	24,5	24,75	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00
Grasa 3/5	3,76	3,07	2,97	3,50	3,00	2,90	3,20	2,90	2,80
Fosfato bicálcico	0,46	0,32	0,32	0,35	0,18	0,21	0,21	0,09	0,12
Carbonato cálcico	1,20	1,35	1,37	1,18	1,32	1,31	1,15	1,24	1,24
Sepiolita	0,99	0,99	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Cloruro sódico	0,43	0,44	0,44	0,43	0,44	0,44	0,43	0,44	0,44
Lisina 50	0,59			0,52			0,41		0,04
DL-Metionina	0,10	0,14	0,17	0,05	0,06	0,09	0,04	0,03	0,06
L-Treonina	0,12	0,03	0,06	0,09		0,02	0,04		
Corrector	0,198	0,198	0,198	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
<b>Análisis calculado %</b>									
Humedad	10,24	9,8	9,91	10,16	9,90	9,92	10,12	9,89	9,92
PB	15,40	15,59	16,24	13,64	14,94	14,04	12,77	13,28	13,43
GB	5,40	4,52	4,42	5,11	4,45	4,36	4,82	4,40	4,32
FB	3,76	4,82	4,23	3,81	4,81	4,19	3,86	4,75	4,13
Cenizas	5,63	5,30	5,21	5,34	5,15	5,05	5,12	4,98	4,88
Calcio	0,70	0,70	0,70	0,65	0,65	0,65	0,60	0,60	0,60
Fósforo	0,43	0,40	0,39	0,39	0,37	0,37	0,36	0,35	0,34
Lisina	1,00	1,00	1,00	0,85	0,94	0,88	0,74	0,78	0,74
EN (Mcal/kg)	2,448	2,449	2,450	2,451	2,449	2,451	2,447	2,450	2,451

**Tabla 2.** Guisante y alberjón: composición en inhibidores de proteasas y GEC.

	Soja 47	Guisante	Alberjón
Inhibidores de tripsina (TIU/mg de muestra)	0,61 ± 0	9,87 ± 0,07	5,50 ± 0,19
Inhibidores de quimotripsina (CIU/mg de muestra)	3,56 ± 0,06	10,16 ± 0,18	5,41 ± 0,27
GEC % MF	-	-	1,52

**Tabla 3.** Datos de producción en cebo según piensos y sexo.

Variables	PIENSO (n=48)					SEXO (n=48; 24 MC, 24 HE)			
	A	B	C	EEM <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>	Machos	Hembras	EEM <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
CMD1-3	1,607	1,443	1,568	0,052	ns	1,550	1,529	0,032	ns
GMD1-3	0,810 <sup>a</sup>	0,639 <sup>b</sup>	0,690 <sup>b</sup>	0,032	*	0,706	0,720	0,032	ns
IC1-3	2,04 <sup>b</sup>	2,29 <sup>ab</sup>	2,28 <sup>a</sup>	0,073	ns	2,24	2,17	0,048	ns
CMD3-5	2,259 <sup>ab</sup>	2,080 <sup>b</sup>	2,296 <sup>a</sup>	0,083	ns	2,314	2,110	0,054	*
GMD3-5	1,001 <sup>a</sup>	0,826 <sup>b</sup>	0,966 <sup>a</sup>	0,031	**	0,972	0,890	0,019	**
IC3-5	2,27 <sup>b</sup>	2,52 <sup>a</sup>	2,37 <sup>b</sup>	0,057	ns	2,40	2,37	0,036	ns
CMD5-8	3,335	3,178	3,322	0,079	ns	3,530	3,026	0,049	***
GMD5-8	1,083 <sup>ab</sup>	1,034 <sup>b</sup>	1,133 <sup>a</sup>	0,034	**	1,126	1,041	0,013	***
IC5-8	3,06 <sup>ab</sup>	3,08 <sup>a</sup>	2,93 <sup>b</sup>	0,058	*	3,14	2,90	0,036	***
CMD1-8	2,579 <sup>a</sup>	2,409 <sup>b</sup>	2,577 <sup>a</sup>	0,051	*	2,667	2,376	0,032	***
GMD1-8	0,995 <sup>a</sup>	0,872 <sup>b</sup>	0,977 <sup>a</sup>	0,016	***	0,978	0,918	0,010	***
IC1-8	2,58 <sup>b</sup>	2,75 <sup>a</sup>	2,63 <sup>b</sup>	0,035	*	2,72	2,59	0,022	***

<sup>1</sup> EEM: error estándar de la media. <sup>2</sup> P: significación estadística. ns: no significativo; \*P < 0,05. \*\* P < 0,01. \*\*\* P < 0,001. 1-3: crecimiento; 3-5: cebo; 5-8 acabado; 1-8: global.

## LA “MAYONESA” UN NUEVO INGREDIENTE EN ALIMENTACION LÍQUIDA DE PORCINO DE ENGORDE.

Sol, C., Castillejos, L. y Gasa, J.

Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNI BA). Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra 08193. Barcelona. mariacinta.sol@uab.cat

### INTRODUCCIÓN

Uno de los capítulos que cobran mayor interés dentro de una granja de engorde de cerdos es la alimentación, ya que representa más del 70% de los costes de producción. Dada la coyuntura de los últimos años donde los precios de las materias primas son elevados y muy variables (Observatori del Porcí, 2011), se intentan buscar alternativas que permitan reducir dichos costes. Existe una práctica, muy extendida en el norte de Europa, como es la alimentación líquida (EFSA, 2006; FAOSTAT, 2010) que, sorprendentemente en España, aún siendo el segundo mayor productor de ganado porcino, todavía despierta muy poco interés. Por otra parte, países tradicionalmente agroindustriales, consiguen de la industria agroalimentaria subproductos que revalorizan como nuevos ingredientes para alimentación animal a través de la alimentación líquida (Scholten *et al.*, 1999), consiguiendo reducir considerablemente los costes de producción (Moreau *et al.*, 1992). La principal ventaja que ofrecen este tipo de ingredientes suele ser que, en relación a su aporte energético y nutricional, tienen un coste inferior y muy competitivo con los ingredientes convencionales, reduciendo de esta forma el coste del pienso (Scholten *et al.*, 2001). La introducción en la fórmula de un ingrediente no convencional precisa conocer de antemano algunas características del nuevo ingrediente: a) viabilidad logística, b) disponibilidad física y estacionalidad, c) características químicas y nutritivas (Serena y Bach Knudsen, 2007) o d) formas de conservación y utilización. Sin embargo la prueba definitiva la ofrecen los ensayos “in vivo” donde se comparan los rendimientos productivos de cerdos alimentados con un pienso control en comparación con otro que incluye una determinada proporción, en general no muy elevada (2-6%), del ingrediente a testar. La hipótesis de partida, derivada de la introducción del ingrediente no convencional en la fórmula, a niveles moderados, suele ser no tanto mejorar los rendimientos productivos sino más bien no empeorarlos y beneficiarse del menor coste del pienso. En este contexto se ha realizado un ensayo destinado a valorar un nuevo ingrediente conocido como “mayonesa”. El objetivo fue incluir en la fórmula del pienso experimental una pequeña proporción de mayonesa no superior al 4% para valorar su efecto sobre los rendimientos productivos de los animales alimentados mediante un sistema de alimentación líquida.

### MATERIAL Y METODOS

En primer lugar se realizó un análisis químico y nutricional (AOAC, 2005) de diferentes lotes de mayonesa procedentes de un único gestor de residuos. El nuevo ingrediente “mayonesa” está compuesto básicamente por una emulsión del tipo aceite en agua al que se añade huevo pasteurizado y otros aditivos. Debido a que es un subproducto de la industria agroalimentaria, su composición puede ser variable según su procesado. Como era de esperar, su contenido en grasa bruta fue muy elevado, rozando niveles de hasta 83% en MS y 2,43% de PB en MS. Posteriormente, en el estudio experimental se utilizaron 180 cerdas de engorde ((LDxLW)xPietrain) con un promedio de PV de  $24,6 \pm 3,93$ kg distribuidos aleatoriamente en dos grupos (dieta control, CTR; y dieta experimental con “mayonesa”, MAH). Cada grupo estaba formado por 5 corrales de 18 animales. El periodo experimental fue de 14 semanas, un total de 98 días, en los cuales los animales se alimentaron con 3 piensos según su fase de crecimiento (pre-engorde, del día 0 al día 38; engorde del día 39 al 72; acabado, del día 73 al 98). Para cada una de las tres fases de crecimiento las dietas CTR y MAH se formularon, isoenergéticas e isoproteicas, a base de cereales (trigo, cebada, maíz y triticale) y suplementos proteicos de origen vegetal (soja 44 y harina de colza extrusionada) (Tabla1). El pienso experimental (MAH) contenía un 4,0, 3,5 y 3,0% de “mayonesa” para pre-engorde, engorde y acabado, respectivamente. Los piensos fueron administrados en líquido con una dilución de 1:2,7 (1kg de pienso seco por 2,7 Kg de agua).

Los parámetros evaluados fueron, peso inicial y final de cada fase, ganancia media diaria, consumo medio diario e índice de conversión. El peso de los animales se registró individualmente al realizar el cambio de pienso (días 0, 38, 72 y 98) y el consumo diario por corral se obtuvo mediante el software WEDA, que registra diariamente la oferta total de pienso en MF por válvula o corral. Los datos registrados fueron analizados mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 2008) usando un ajuste por Tukey.

**Tabla 1.** Formulación y composición química de las dietas.

Ingredientes (%)	PRE-ENGORDE		ENGORDE		ACABADO	
	CTR 1	MAH 1	CTR2	MAH2	CTR 3	MAH 3
Trigo	30,00	23,65	30,00	0,05	30,00	5,29
Maíz	24,76	-	15,91	-	17,47	-
Soja 44	20,38	17,53	20,44	16,14	19,01	14,47
Triticale	20,00	20,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Har, Ex, Colza 34	1,64	6,00	0,96	6,00	1,08	6,00
Cebada	-	25,89	-	41,75	-	38,93
Mayonesa	-	4,00	-	3,50	-	3,00
Lisina – HCl	0,48	0,42	0,21	0,27	0,24	0,25
<i>Comp, Nutricional</i>						
% PB	18,0	18,5	18,0	18,0	17,5	17,5
% Lys	1,20	1,20	1,04	1,07	0,99	1,01
% GB	1,97	4,55	1,77	4,21	1,81	3,82
% FB	3,10	4,00	3,04	4,32	3,00	4,21
EM (Kcal/kg)	3221	3291	3232	3257	3241	3252
Precio (€/Tn)	325,52	322,61	318,70	310,42	313,74	305,45

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados preliminares de este estudio (Tabla 2) mostraron como la ganancia media diaria, de los animales alimentados con la dieta que contenía “mayonesa”, fue ligeramente superior (5,1%) aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P>0,05$ ). Sin embargo, el consumo medio diario sí fue estadísticamente diferente entre las dos dietas ( $P=0,032$ ), observándose como los animales que consumieron más al final de todo el periodo experimental fueron los alimentados con la dieta con “mayonesa”, lo cual resultó en un peor índice de conversión, aunque esta diferencia tampoco fue estadísticamente significativa ( $P>0,05$ ).

**Tabla 2:** Efecto de la dieta sobre los rendimientos productivos de los cerdos durante las 14 semanas de engorde.

	CTR	MAH	SEM	P-valor
Peso inicial (kg)	24,60	24,58	0,016	1,000
Peso final (kg)	96,39	100,43	4,220	0,168
GMD (kg)	0,731	0,768	0,162	0,225
CMD (kg)	1,758	1,948	0,116	0,032
IC (kg/kg)	2,41	2,55	0,287	0,476

GMD, ganancia media diaria; CMD, consumo medio diario; IC, índice de conversión, SEM, error estándar del modelo

La primera interpretación de los resultados sugiere que la “mayonesa” introducida en el pienso al 3-4%, según la fase de crecimiento y cebo, no sería competitiva ya que, aunque mejora ligeramente el crecimiento diario (media de 37 g/d), aumenta significativamente la ingestión de alimento (9,8%) y empeora numéricamente el índice de conversión (5,4%). Sin embargo, en un análisis más exhaustivo de los resultados se observan dos circunstancias importantes; de una parte los valores de composición química y nutritiva de los piensos control y experimental no son valores “analizados” sino “calculados” a partir de los valores individuales de cada ingrediente que figura en la matriz de formulación y, por tanto, los valores reales (“analizados”) podrían ser diferentes. En cualquier caso las posibles diferencias entre los valores “analizados” y calculados” para dietas con una proporción de

ingredientes convencionales tan elevada difícilmente pueden explicar la variación observada en los resultados. En segundo lugar, el hecho de tener una composición química y nutritiva equivalente no significa que los piensos control y experimental estén compuestos por las mismas materias primas. De hecho, para obtener una composición química y nutritiva equivalente, la introducción de un pequeño porcentaje de “mayonesa” en el pienso control determinó que, al mantener el mínimo precio, la dieta experimental sustituyera el maíz de la control por cebada y trigo y que parte de la soja 44 se cambiara por torta de colza (ver tabla 1). Es conocido que el maíz y la soja 44 ofrecen ventajas nutritivas sobre los demás cereales y la torta de colza, respectivamente.

En conclusión este experimento en ningún caso permite evaluar de forma objetiva el valor nutritivo de la “mayonesa” para los cerdos de crecimiento y cebo. Para valorar la posibilidad de utilizar un nuevo ingrediente, a bajo nivel de inclusión, en piensos comerciales de crecimiento y engorde, no es suficiente con formular los piensos con igual composición química y valor nutritivo sino que además dichos piensos deben contener los mismos ingredientes convencionales y modificar lo mínimo posible sus niveles entre las fórmulas control y experimental, aunque ello modifique ligeramente el coste de los piensos. Solo de este modo se conocerá el impacto real del nuevo ingrediente sobre el proceso productivo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Observatori del Porcí, 2011 • EFSA, 2006. EFSA Journal, 340:1–58 • FAOSTAT, 2010. FAO Dirección de Estadística, 2012 • Scholten, R.H.J., van der Peet-Schwering, C.M.C., Verstegen, M.W.A., den Hartog, L.A., Schrama J.W. y Vesseur, P.C. 1999. Anim. Feed Sci. and Tech. 82:1-19. • Moreau, R., Quéméré, P. y Carlier, J. 1992. Journées de la Recherche Porcine. 24: 143-150. • Scholten, R.H.J., Rijnen, M.M.J.A., Schrama, J.W., Boer, H., Van Der Peet-Schwering, C.M.C., Den Hartog, L.A., Vesseur, P.C. y Verstegen, M.W.A. 2001a. J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr. 85(5-6): 124-134. • Serena, A. y Bach Knudsen, K.E. 2007. Anim. Feed Sci and Tech. 139: 109 – 124 • AOAC, 2005

**Agradecimientos:** El presente trabajo ha sido realizado en el marco del Proyecto de Investigación y Desarrollo IDI-20110003 y Beca predoctoral Talent Empresa (TEM) de l'AGAUR para C.Sol.

### MAYONNAISE, A NEW BY-PRODUCT

**ABSTRACT:** To evaluate the supplementation of 4% of mayonnaise on performance of fattening pigs (25-100kg) feeding liquid feed. One hundred eighty pigs (24,6±3,93 kg) were randomly assigned to 10 pens (18 pigs/pen). Each pen was assigned to one of two dietary treatments: (i) a liquid control diet (CTR) without mayonnaise or (ii) a liquid diet with the addition of mayonnaise (MAH). The trial lasted 14 weeks. BW was recorded at the end of each feeding phase and average daily feed intake (ADFI) was estimated by feed disappearance daily. Supplementation of mayonnaise did not affect (P>0.05) overall average daily gain (ADG) and feed conversion (FC). However, pigs fed MAH had higher (P<0.05) ADFI (1,948kg) than CTR pigs (1,758kg). Although the two experimental diets were formulated to be isoproteic and isoenergetic, soybean was replaced by rapeseed and corn by wheat and barley in MAH diet, to maintain the minimum cost of feed. To assess the effect of a new ingredient as the mayonnaise is not enough to control chemical composition and nutritional value. Therefore, it can't conclude the mayonnaise had not effects without using the same conventional ingredients and similar levels, although it slightly modifies the cost of feed.

**Keywords:** *by-products; mayonnaise; liquid feed; pigs.*



## UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS DE CEREALES EN LA DIETA DE CERDOS DE CEBO: RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y DIGESTIBILIDAD

Moset<sup>1,2</sup>, V., Ferrer<sup>2</sup>, P., Torres-Pitarch<sup>1</sup>, A., Bonet<sup>3</sup>, J., Coma<sup>3</sup>, J., Martínez, M., Villagrà<sup>1</sup>, A., Gómez<sup>1</sup>, E., Cerisuelo<sup>1</sup>, A.\*

<sup>1</sup>Centro de Investigación de Tecnología Animal (CITA-IVIA). Pol. de la Esperanza, 100. 12400, Segorbe, Castellón. E-mail: cerisuelo\_alb@gva.es. <sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia.<sup>3</sup>

### INTRODUCCIÓN

La revalorización de subproductos agroindustriales para alimentación animal puede suponer un beneficio económico y medioambiental en zonas en las que determinados subproductos son altamente disponibles. Sin embargo, en términos generales, la utilización de materias primas alternativas en alimentación animal está condicionada a factores tales como la composición, digestibilidad de los nutrientes, presencia de sustancias contaminantes, facilidad de conservación e incluso posibles efectos sobre el producto final.

La harina zootécnica y el cilindro de arroz son dos subproductos de cereales altamente disponibles en la Comunidad Valenciana. La harina zootécnica es un subproducto del maíz que se obtiene a partir de la utilización de éste para la producción de grits en la industria cervecera o la producción de harina. La harina zootécnica incluye el germen, cubiertas exteriores del grano, y otros subproductos de la molienda del maíz. El cilindro de arroz es un subproducto obtenido en el proceso del pulido para la obtención de arroz blanco para consumo humano y contiene parte del salvado y del germen del arroz. Ambos son buenas fuentes energéticas en alimentación animal dado su alto contenido en grasa y almidón. Sin embargo, se conoce poco a cerca de las consecuencias de la inclusión de niveles altos de estos subproductos en dietas de cerdos de cebo. El objetivo principal de este trabajo fue valorar las consecuencias de la inclusión de harina zootécnica y cilindro de arroz en piensos para cerdos en fases de crecimiento (30-70 kg) y acabado (70-110 kg) sobre el rendimiento productivo, la digestibilidad de los nutrientes y la calidad de la canal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 160 animales (machos y hembras) con un peso medio al inicio del estudio de  $30,0 \pm 3,77$  kg. Los animales fueron distribuidos en 32 corrales (5 animales/corral) según peso inicial y sexo. Posteriormente, los corrales se asignaron a dos tratamientos experimentales que consistieron en la administración de dos tipos de pienso (pienso control, C y pienso con subproductos, S), ambos formulados para ser isoenergéticos e isoprotéicos (Tabla 1). El ensayo se dividió en dos periodos, la fase de crecimiento (30-70 kg) y la fase de acabado (70-110 kg). El pienso S incluyó en su fórmula un 12% de harina zootécnica y un 6% de cilindro de arroz en la fase de crecimiento y un 12,5% de harina zootécnica y un 8% de cilindro de arroz en la fase de acabado. Los subproductos se añadieron al pienso S en sustitución de parte del sorgo y la cebada del pienso C.

**Tabla 1.** Composición química calculada de los piensos control (C) y con subproductos (S).

Pienso	Crecimiento		Acabado	
	C	S	C	S
EN, Kcal/kg	2409	2409	2398	2397
Proteína bruta, %	15,2	15,3	15,2	15,2
Lisina digestible, %	0,93	0,92	0,85	0,84
Grasa bruta, %	4,7	6,3	4,2	5,8
Fibra neutro detergente, %	12,5	14,7	11,9	13,7
Fibra ácido detergente, %	5,4	5,9	5,4	5,9

La prueba tuvo una duración total de 90 días (50 días de crecimiento y 40 de acabado). Durante el periodo experimental se registró el peso individual de los animales y el consumo de pienso por corral los días 1, 51 y 90 y se calculó la ganancia media de peso (GMD), el consumo medio diario de pienso (CMD) y el índice de transformación del alimento (kg de pienso/kg de peso; IT). Los días 85 y 86 de estudio (fase de acabado), tras 4 días de adaptación a un marcador inerte en el pienso (tierra de diatomeas), se recogieron heces directamente del recto de 12 animales por tratamiento (6 machos y 6 hembras) para determinar la digestibilidad de la materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), grasa bruta (GB), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) del pienso. Dichos nutrientes se analizaron en los piensos y en la heces según AOAC (2000) y Van Soest et al. (1991). La concentración de tierra de diatomeas en el pienso y las heces se analizó según la metodología descrita por van Keulen (1977). Al final del estudio, a los 104,6 ± 9,45 kg de peso vivo, los animales fueron sacrificados tras un periodo de 20 h de ayuno. Inmediatamente tras el sacrificio se registraron el peso de la canal y los porcentajes de grasa y magro de diferentes puntos de la canal registrados mediante AUTOFOM. A partir de las 2 horas del sacrificio, ya en la sala de oreo, se registró el pH en el músculo *Semimembranosus*, la profundidad de grasa a nivel del músculo *Gluteus medius* y el color a nivel del músculo *Gracillis* del jamón en un total de 80 animales (40 por tratamiento).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se presentan los valores de peso medio inicial y final de los animales y la GMD, CMD e IT medios en el global del estudio (90 días) y por fases (crecimiento y acabado). Ambos grupos de tratamiento comenzaron la experiencia con alrededor de 30 kg de peso vivo. Al final del estudio, los animales del grupo C presentaron un mayor peso que los del grupo S, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por fases, no se observaron diferencias en GMD, CMD e IT entre tratamientos en la fase de crecimiento. En la fase de acabado la GMD de los animales alimentados con subproductos tendió ( $P < 0,10$ ) a ser menor que la de los animales del grupo C, aunque las diferencias en consumo e IT no fueron significativas. En ningún caso fue significativa la interacción entre el tratamiento y el sexo, indicando que la respuesta al tratamiento fue similar en ambos sexos durante el estudio.

**Tabla 2.** Ganancia media diaria de peso (GMD), consumo medio diario de pienso (CMD) e índice de transformación (IT) en el global del periodo experimental y por periodos de crecimiento (*ns* = no significativo) en animales alimentados con un pienso control (C) o con incorporación de subproductos (S).

Tratamiento		C	S	EEM <sup>1</sup>	T	P-valor <sup>2</sup>	T*S
N		80	80			S	
Global	Peso inicial, kg	29,8	30,1	0,932	ns	Ns	ns
	Peso final, kg	105,4	103,7	0,809	ns	<0,001	ns
	GMD	839,5	818,5	10,16	ns	<0,001	ns
	CMD	2032,3	1991,1	28,44	ns	Ns	ns
	IT	2,43	2,45	0,028	ns	<0,001	ns
Fase crecimiento	GMD	808,8	803,1	13,71	ns	0,039	ns
	CMD	1756,0	1748,9	26,40	ns	Ns	ns
	IT	2,18	2,19	0,029	ns	0,001	0,095
Fase acabado	GMD	877,8	837,7	15,78	0,084	<0,001	ns
	CMD	2377,8	2311,9	40,93	ns	ns	ns
	IT	2,73	2,77	0,043	ns	<0,001	ns

<sup>1</sup> Error estándar de la media; <sup>2</sup>T:tratamiento, S: sexo y T\*S: tratamiento\*sexo.

Los coeficientes de digestibilidad aparente calculados para los diferentes nutrientes se muestran en la Tabla 3. La digestibilidad de la MS y la MO fue similar entre tratamientos. En cambio, la digestibilidad de la PB y de la GB en la fase de acabado fue superior ( $P < 0,07$ ) en el grupo S en comparación con el grupo C. Sin embargo, estas diferencias en

digestibilidad no dieron lugar a diferencias en la eficiencia de transformación de los animales indicando que, probablemente, la digestibilidad de la energía no se vio afectada.

**Tabla 3.** Coeficientes de digestibilidad aparente (%) en animales alimentados con un pienso control (C) o con inclusión de subproductos (S) (ns = no significativo).

Nutrientes	C	S	EEM <sup>1</sup>	P- valor <sup>2</sup>		
				T	S	T*S
n	12	12				
Materia seca	74,8	74,3	2,15	ns	ns	ns
Materia orgánica	77,9	77,6	2,11	ns	ns	ns
Proteína bruta	66,4	74,0	2,99	0,070	ns	ns
Grasa bruta	63,1	77,9	2,96	0,001	ns	ns
Fibra neutro detergente	61,7	55,0	3,95	ns	ns	ns
Fibra ácido detergente	28,5	31,6	4,16	ns	ns	ns

<sup>1</sup> Error estándar de la media; <sup>2</sup>T:tratamiento, S: sexo y T\*S: tratamiento\*sexo.

Al sacrificio no se observaron diferencias significativas en el peso de la canal (C:78,2 y S: 76,4 kg), rendimiento de la canal (C:74,2 y S: 73,8 %) y porcentaje magro (C:59,1 y S: 58,9 %). Tampoco se encontraron diferencias entre tratamientos en el pH y color de la carne.

En conclusión, la incorporación de cilindro de arroz y harina zootécnica en piensos para cerdos de cebo no afectó al rendimiento productivo de los animales ni a los parámetros de calidad de la canal estudiados. Sin embargo dio lugar a un aumento de la digestibilidad de la grasa y proteína del pienso y a una disminución de la digestibilidad de la FND.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 2000. 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD, USA.  
 van Keulen, J. & Young, BA. 1977. J Anim Sci 44:282-287.  
 van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. J Dairy Sci 74:3583-3597.

### THE USE OF CEREAL BY-PRODUCTS IN GROWING PIG DIETS: EFFECTS ON GROWTH PERFORMANCE, DIGESTIBILITY AND CARCASS QUALITY

**ABSTRACT:** This study aims to investigate the effects of including rice bran and hominy feed in growing-finishing diets on growth performance, digestibility and carcass quality. A total of 160 pigs of  $30.0 \pm 3.77$  kg body weight were allocated into two dietary treatments: a conventional diet (C) or a diet containing cereal by-products (S). The level of rice bran and hominy feed in the S diet was 60 and 120 g/kg during the growing phase (30-70 kg BW) and 80 and 125 g/kg during the finishing phase (70-110 kg BW). Pigs' weight and feed intake was controlled on days 1, 51 and 90. At slaughter some carcass characteristics were recorded. No significant differences were observed between groups in ADG, ADFI and FCR. However, animals fed the S diet showed a higher protein and crude fat digestibility compared to those fed the C diet ( $P < 0.07$ ). At slaughter, no differences were found between treatments in carcass yield, lean meat content, meat pH, meat and fat colour and fat depth at *gluteus medius*. Thus, the inclusion of increasing levels of rice bran and hominy feed in pig diets led to no significant effects on growth performance and carcass quality although modified nutrient digestibility.

**Keywords:** hominy feed, rice bran, growing pig performance, apparent digestibility

## **EFFECTOS DE LA BETAÍNA Y EL CLA SOBRE EL FLUJO SANGUÍNEO PORTAL DE CERDOS IBÉRICOS EN CRECIMIENTO**

Rojas-Cano, M.L., Lachica, M., Lara, L. Haro, A. y Fernández-Fígares, I.  
Departamento de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Camino del  
Jueves s/n, Armilla, 18100 Granada. E-mail: ifigares@eez.csic.es

### **INTRODUCCIÓN**

Se ha observado que la adición a la dieta de ácido linoléico conjugado (CLA) y betaína aumenta la velocidad de crecimiento y modifica la composición corporal de cerdos Ibéricos en crecimiento (Fernández-Fígares et al., 2008).

Los tejidos que drenan al sistema porta (tracto gastrointestinal, bazo y páncreas) presentan una tasa metabólica muy elevada respecto a su masa (Yen et al., 1989), pudiendo comprometer la disponibilidad neta de nutrientes que llegan a los tejidos periféricos, de interés productivo. Además, los tejidos espláncnicos (tejidos que drenan al sistema porta e hígado) tienen una mayor importancia relativa en cerdos Ibéricos respecto a razas mejoradas (Rivera-Ferre et al., 2005). El objetivo de este trabajo fue determinar si la suplementación de la dieta con CLA y betaína modifica el flujo sanguíneo portal en cerdos Ibéricos en crecimiento.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizó para este ensayo un grupo de 8 cerdos Ibéricos puros (20 kg PV) alojados individualmente y alimentados al 70% *ad libitum* con una dieta elaborada a partir de cebada y harina de soja (Control; 15,1% PB, 1,0% Lis y 14,6 MJ EM/kg MS) o suplementada con 1% de CLA (60% de isómeros cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12) y 0,5% de betaína (CLABET). A los 30 kg PV, se les implantaron quirúrgicamente 3 catéteres (Rodríguez-López, et al., 2013): en la arteria carótida y vena porta para el muestreo sanguíneo, y en la vena ileal para la infusión de ácido para-aminohipúrico para la determinación del flujo sanguíneo (Katz y Bergman, 1969). El muestreo comenzó cuando los animales se recuperaron totalmente de la cirugía (8-10 días). Se infundió un bolo inicial de 15 ml de ácido para-aminohipúrico (2% p/v) a través de la vena ileal 45 minutos antes del inicio del muestreo de sangre, seguido de una infusión continua de 0,8 ml/min. Las muestras se tomaban anaeróbica y simultáneamente de la arteria carótida y vena porta (0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5 y 6 h tras ingerir 1100 g de dieta) en tubos heparinizados y se medía el hematocrito mediante un hemoxímetro. La sangre se centrifugaba y el plasma se conservaba a -20°C hasta su posterior análisis de PAH (Lobley et al., 1995). El flujo de sangre fue determinado a partir del principio de Fick, y el hematocrito. Los datos fueron analizados mediante un análisis de medidas repetidas utilizando el procedimiento MIXED del SAS, considerando como efectos fijos los tratamientos experimentales y el tiempo de muestreo. Las diferencias entre medias se establecieron usando el test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 1. La adición a la dieta de CLA y betaína produjo una disminución significativa (20,5%,  $P = 0,036$ ) en el flujo sanguíneo medio de la vena porta con respecto al tratamiento Control. El flujo sanguíneo postprandial medio de 6 horas está dentro del intervalo encontrado en experimentos previos por otros autores (Yen y Nienaber, 1992; Yen et al., 2004). Una disminución del flujo sanguíneo en los tejidos que drenan al sistema porta podría indicar unas menores necesidades de nutrientes y energía de dichos tejidos, con el consiguiente aumento de la proporción de nutrientes absorbidos que podrían ser utilizados para el crecimiento del músculo y otros tejidos no pertenecientes al sistema porta. En este sentido, el efecto promotor del crecimiento en cerdos del agente antimicrobiano carbadox se asoció a una menor demanda de oxígeno por parte de las vísceras que drenan al sistema porta dejando una mayor proporción de nutrientes y energía para el resto de tejidos (Yen y Nienaber, 1992). Es posible, que este menor flujo sanguíneo de los tejidos que drenan al sistema porta pueda explicar en parte la mayor velocidad de crecimiento y deposición de magro en cerdos alimentados con CLA y betaína (Fernández-

Fígares et al., 2008). Los estudios de absorción neta de nutrientes en curso arrojarán más luz al respecto.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fernández-Fígares, I., Conde-Aguilera, J. A., Nieto, R., Lachica, M. & Aguilera, J. F. 2008. Synergistic effects of betaine and conjugated linoleic acid on growth and carcass composition of growing Iberian pigs. *J. Anim. Sci.* 86: 102-111.
- Katz, M. L. & Bergman, E. N. 1969. Simultaneous measurements of hepatic and portal venous blood flow in the sheep and dog. *Am. J. Physiol.* 216: 946-952.
- Lobley, G. E., Connell, A., Lomax, M. A., Brown, D. S., Milne, E., Calder, A. G. & Farningham, D. A. H. 1995. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver; possible consequences for amino acid catabolism. *Br. J. Nutr.* 73: 667-685.
- Rivera-Ferre, M.G., Aguilera, J.F. & Nieto, R., 2005. Muscle fractional protein synthesis is higher in Iberian than in Landrace growing pigs fed adequate or lysine-deficient diets. *J. Nutr.* 135: 469-478.
- Rodríguez-López, J. M., Lachica, M., González-Valero, L., & Fernández-Fígares, I. 2013. Approaches for quantifying gastrointestinal nutrient absorption and metabolism in a native and a modern pig breed. *J. Agric. Sci.* (en prensa).
- Yen J. T. & Nienaber J. A. 1992. Influence of carbadox on fasting oxygen consumption by portal vein-drained organs and by the whole animal in growing pigs. *J Anim Sci.* 70: 478-483.
- Yen, J. T., Nienaber, D .A. H. & Pond, W. G. 1989. Oxygen consumption by portal vein-drained organs and by whole animal in conscious growing swine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 190: 2393-2395.
- Yen, J. T., Varel, V. H. & Nienaber, J. A. 2004. Metabolic and microbial responses in western crossbred and Meishan growing pigs fed a high-fiber diet. *J. Anim. Sci.* 82: 1740-1755.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2009-08916, Ministerio de Economía y Competitividad.

**Tabla 1.** Flujo sanguíneo portal (ml/min) de cerdos ibéricos (30 kg PV) en crecimiento alimentados con dietas suplementadas o no (Control) con 1% de CLA y 0,5% de betaína (CLABET).

	Control	CLABET	EEM <sup>1</sup>
Flujo sanguíneo portal	1426 <sup>a</sup>	1178 <sup>b</sup>	49,6

<sup>ab</sup>Para las comparaciones realizadas, valores dentro de la misma fila con distinto superíndice son significativamente diferentes (P<0,05).

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

### EFFECT OF BETAINE AND CLA ON PORTAL BLOOD FLOW OF GROWING IBERIAN PIGS

**ABSTRACT:** To determine possible mechanisms of action that help to explain the growth promoting and nutrient partitioning effects of CLA and betaine, portal blood flow was determined in 30 kg BW barrows (n=4/treatment) fed a barley-soybean meal-based diet supplemented (1.0% CLA + 0.5% betaine) or not. Three chronic catheters were placed in each pig: in carotid artery and portal vein for blood sampling, and in ileal vein for para-aminohippuric acid (PAH) infusion to measure blood flow. After recovery from surgery, a 15 ml pulse dose of PAH (2% w/v) was infused into ileal vein 45 min prior to blood sampling, followed by continuous infusion of 0.8 ml/min. Blood samples were anaerobically taken simultaneously from carotid artery and portal vein 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 1100 g of diet. Plasma was stored at -20°C until PAH analysis. Data were evaluated

using a mixed procedure with repeated measures of SAS. Postprandial portal blood flow decreased significantly (20.5%,  $P < 0.05$ ) in pigs fed CLA+betaine supplemented diets. Differences in portal vein blood flow may partially explain disparate growth and nutrient partitioning in pigs fed CLA+betaine supplemented diets.

**Keywords:** betaine, CLA, Iberian pig, portal blood flow.

## **NIVELES DE ZINC EN LA LECHE DE LA CERDA SEGÚN EL NÚMERO DE PARTO**

Davin, R., Manzanilla, E.G., Pérez, J.F.

Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNI BA). Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra. Barcelona. roger.davin@gmail.com

### **INTRODUCCIÓN**

El zinc es, después del hierro, el metal más abundante del organismo y se considera esencial para el crecimiento, desarrollo, reproducción y actividad metabólica del animal por estar implicado en más de 100 sistemas metaloenzimáticos. Niveles subóptimos de Zn generalmente se asocia con un descenso en el consumo de alimento y crecimiento de los animales. En la industria porcina, las cerdas son los animales con las necesidades nutritivas más elevadas, en especial durante la lactación y a finales de la gestación. No satisfacer las necesidades de la cerda en estas fases conlleva una gran movilización de reservas. En el caso de los minerales, aproximadamente el 50% de las necesidades del feto tienen lugar durante los últimos 15 días de gestación (Mahan et al., 2009). Después del parto las cerdas transfieren microminerales a los lechones a través del calostro y la leche. La concentración de microminerales en el calostro es la más elevada, se reduce durante la primera semana postparto, y se mantiene constante hasta la tercera semana de lactación (Hill et al., 1983). La cerda realiza un gran esfuerzo para transferir minerales a los lechones tal y como reflejan los resultados de Mahan y Newton, (1995) en el que cerdas de tercer parto mostraron un contenido mineral inferior al de cerdas nulíparas de la misma edad. Considerando la producción de leche y su concentración de Zn, recientemente hemos estimado que la cantidad de Zn secretado durante una lactación de 28 d excede los 2,1 g de Zn, cantidad equivalente a la totalidad de reservas corporales de zinc del animal (Mahan y Shields, 1998), lo que implica una movilización significativa de las reservas corporales a lo largo de la lactación. Este hecho puede verse agravado por la baja digestibilidad de P, Ca y Zn determinadas en este mismo ensayo (38,4%, 16,4% y 12,5%, respectivamente). La hipótesis de este trabajo es que la edad o número de parto de la cerda afecta a su status de Zn y a la transferencia de Zn a los lechones vía calostro y leche.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Una semana antes del parto se seleccionaron 112 cerdas híbridas de una granja comercial según el número de parto (entre 1<sup>o</sup> y 10<sup>o</sup>). Durante la selección las cerdas fueron caracterizadas (peso vivo, grasa dorsal y medidas morfométricas). Los animales fueron alimentados tres veces al día (7am, 1pm y 5pm; 900 g en cada comida), excepto el día de parto. Después del parto la cantidad de pienso ofrecida se incrementó diariamente 350 g hasta alcanzar un máximo de 8 kg de pienso/día al final de la lactación. La cantidad de pienso promedio ofrecida durante la lactación fue de 5 kg/día. Los niveles de Zn, Fe y Cu añadidos a las dietas de gestación y lactación fueron las mismas (100ppm Zn en forma de óxido de zinc, 80ppm Fe como sulfato de hierro heptahidratado y 20ppm de Cu en forma de sulfato de cobre pentahidratado). El día del parto (5 horas postparto) se recolectaron muestras de calostro de todas las cerdas manualmente y sin ningún tratamiento. El día 21 de lactación se recolectaron muestras de leche de las mismas cerdas. También se recogió muestra de pelo de dos lechones por camada. Tanto las muestras de calostro como las de leche fueron guardadas a -20°C hasta el análisis. Las muestras de calostro y leche fueron analizadas para Cu, Fe y Zn mientras que las muestras de pelo fueron analizadas para Zn. Todos los análisis fueron realizados con la técnica de ICP (Perkin Elmer, Optima 3200 RL) en els Serveis Científicotècnics de la Universitat de Barcelona. La composición mineral del calostro, leche y pelo fue analizada por ANOVA (SAS Institute Inc., Cary, NC) con el número de parto como factor clasificatorio. Los valores fueron previamente transformados a valores logarítmicos para obtener la normalidad. Se hicieron comparaciones múltiples de medias mediante la corrección de Tukey. Para la determinación de diferencias significativas se utilizó  $\alpha=0.05$ .

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los parámetros morfológicos y productivos (peso vivo, condición corporal y número de lechones nacidos vivos y nacidos muertos) siguieron una evolución típica de una población

de cerdas. Por ejemplo, el número de lechones nacidos muertos (NM) en cerdas mayores (octavo parto) dobló el NM de las cerdas de primer parto en consonancia con los resultados de Andres et al. (2008). Los valores de materia seca del calostro y de la leche fueron parecidos a los descritos en la bibliografía (Csapo et al., 1996; Leonard et al., 2010) siendo los del calostro superiores a los de la leche (24,2% vs 19,8%). De la misma manera, la concentración de minerales fue superior en el calostro que en la leche y en ambos casos fueron similares a los descritos en la bibliografía (Csapo et al., 1996, Peters et al., 2010). No se observaron diferencias en el contenido mineral de calostro y leche entre cerdas con número de parto distinto, excepto el caso del Cu en leche.

Si el análisis estadístico se realiza agrupando las cerdas en dos grupos (jóvenes, 1<sup>o</sup>-5<sup>o</sup> parto y viejas, 6<sup>o</sup>-10<sup>o</sup> parto), se observan los resultados mostrados en la Tabla 1. Las concentraciones de Fe, Cu y Zn en leche fueron más elevadas en cerdas viejas. En el caso del Fe algunos individuos mostraron valores muy altos causando un incremento en la variabilidad. El incremento en la concentración de los minerales en las cerdas viejas podría asociarse a la presencia de infecciones subclínicas en la glándula mamaria. No existe bibliografía en el que se evalúen los niveles de minerales en leche en presencia de mastitis en la especie porcina, pero sí en otras especies como la ovina, caprina o bovina (Burriel y Heys 1997). Otro factor que puede explicar las elevadas concentraciones de minerales en leche de las cerdas viejas es el número de lechones que permanecieron con la madre durante la lactación: 12 lechones/cerda en el caso de las jóvenes y 10 lechones/cerda en el caso de las viejas. El motivo de ésta práctica rutinaria en la granja donde se realizó el experimento se debe a la menor producción lechera de la línea genética a edades avanzadas. La concentración de Zn en las muestras de pelo de los lechones no mostró diferencias según el parto de las cerdas y la media (209ppm) está de acuerdo con la hallada en otros estudios (Bobilya et al., 1994). Los resultados de este ensayo muestran que las concentraciones de microminerales en la leche no se redujeron con el número de parto o la edad de las cerdas, posiblemente como reflejo de un proceso que resulta prioritario para el animal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andres, M. A., M. Aparicio, y C. Piñeiro. 2008. Lechones nacidos muertos, claves para su control. PigCHAMP Pro Europa S.A. [www.3tres3.com](http://www.3tres3.com)
- Bobilya, D. J., G. L. Johanning, T. L. Veum, y B. L. Odell. 1994. Chronological loss of bone zinc during dietary zinc deprivation in neonatal pigs. *Am. J. Clin. Nutr.* 59(3): 649-653.
- Burriel, A. R., y V. Heys. 1997. Serum and milk iron levels during sheep intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci. *Biol. Trace Elem. Res.* 59(1-3): 153-158.
- Csapo, J., T. G. Martin, Z. S. CsapoKiss, y Z. Hazas. 1996. Protein, fats, vitamin and mineral concentrations in porcine colostrum and milk from parturition to 60 days. *Int. Dairy J.* 6(8-9): 881-902.
- Hill, G. M., E. R. Miller, y P. K. Ku. 1983. Effect of dietary zinc levels on mineral concentration in milk. *J. Anim. Sci.* 57(1): 123-129.
- Leonard, S. G., T. Sweeney, B. Bahar, B. P. Lynch, y J. V. O'Doherty. 2010. Effect of maternal fish oil and seaweed extract supplementation on colostrum and milk composition, humoral immune response, and performance of suckled piglets. *J. Anim. Sci.* 88(9): 2988-2997.
- Mahan, D. C., y E. A. Newton. 1995. Effect of initial breeding weight on macromineral and micromineral composition over a 3-parity period using a high-producing sow genotype. *J. Anim. Sci.* 73(1): 151-158.
- Mahan, D. C., y R. G. Shields. 1998. Macro- and micromineral composition of pigs from birth to 145 kilograms of body weight. *J. Anim. Sci.* 76(2): 506-512.
- Mahan, D. C., M. R. Watts, y N. St-Pierre. 2009. Macro- and micromineral composition of fetal pigs and their accretion rates during fetal development. *J. Anim. Sci.* 87(9): 2823-2832.
- Peters, J. C., D. C. Mahan, T. G. Wiseman, y N. D. Fastinger. 2010. Effect of dietary organic and inorganic micromineral source and level on sow body, liver, colostrum, mature milk, and progeny mineral compositions over six parities. *J. Anim. Sci.* 88(2): 626-637.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por AGL2009-07328 del Ministerio de Ciencia e Innovación.



**Tabla 1.** Comparativa entre cerdas jóvenes y viejas. Grupo 1: del primer hasta quinto parto. Grupo 2: del sexto hasta el décimo parto. Concentración mineral expresada en miligramos por kilogramo de materia seca (promedio± desviación estándar).

CALOSTRO	Grupo 1	Grupo 2	p-valor	LECHE	Grupo 1	Grupo 2	p-valor
MS <sup>1</sup> (%)	24,2 ±3,23	24,3 ±3,49	0,865	MS <sup>1</sup> (%)	19,9 ±1,42	19,6 ±1,97	0,357
Fe (mg/kg)	6,61 ±2,48	5,45 ±1,31	0,012	Fe (mg/kg)	4,37 ±1,25	6,02 ±3,85	0,017
Cu (mg/kg)	15,7 ±5,21	15,9 ±4,76	0,889	Cu (mg/kg)	6,18 ±0,88	7,48 ±1,11	<0,001
Zn (mg/kg)	64,2 ±15,41	66,1 ±16,94	0,5648	Zn (mg/kg)	30,0 ±6,19	32,8 ±7,18	0,041
PELO							
Zn (mg/kg)	207 ±21,9	210 ±21,7	0,518				

<sup>1</sup>MS: porcentaje de material seca

### ZINC LEVELS IN THE LACTATING SOWS DEPENDING ON PARITY

**ABSTRACT:** Mineral nutrition is considered a key factor in farm animal as it conditions health and production. Iron and zinc are the most abundant trace elements in the organism. High-producing sow lines are exposed to very high nutrient and micromineral requirements during pregnancy and lactation. In this study we hypothesized that sows may suffer a severe depletion of body mineral reserves that might compromise their reproductive performance and longevity, and the likely mineral transfer to the fetus during pregnancy and piglets during lactation. The objective of this study was to determine if the age of the sow compromises the transfer of microminerals (iron, copper and zinc) to its piglets through colostrum and milk. Colostrum and milk samples were collected from sows of different parity numbers in a commercial farm. Hair samples from their piglets were also collected to determine their Zn status at the end of lactation. Our results did not show any decrease on the Fe, Cu or Zn concentration in colostrum and milk or on the Zn content in piglet's hair as age of the sows increased. Thus age of the sow does not reduce the ability to transfer microminerals to their piglets during the lactation period.

**Keywords:** milk, sow, zinc

## EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE UN AROMA COMERCIAL EN LA DIETA DE LAS CERDAS Y DE SUS LECHONES:

Blavi, L.<sup>1</sup>, Franco, R.<sup>1</sup>, Mesas, L.<sup>2</sup>, Mallo, J.J.<sup>2</sup>, Solà-Oriol, D.<sup>1</sup> y Pérez, JF.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNI BA). Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra 08193. Barcelona.<sup>2</sup>Norel, 28007 Madrid, España. laia.blavi@uab.cat

### INTRODUCCIÓN

El destete es una de las etapas más críticas en la producción porcina; periodo durante el que se acumulan diferentes situaciones estresantes para el animal y la necesidad de consumir pienso como única fuente de alimento. La inclusión de “creep-feed” (ofrecer pienso sólido antes del destete) es una práctica habitual que permite la familiarización tanto de comportamiento como fisiológica (Pluske, J.R. 2003), se utiliza para facilitar el comienzo al consumo de pienso durante la lactación. Recientemente se ha retomado también un elevado interés por conocer las posibilidades del aprendizaje materno, que se establece a partir de la dieta de la cerda durante la gestación o lactación (Menella et al., 2001, Oostindjer et al., 2009) Sin embargo, existen todavía numerosas incertidumbres sobre los resultados prácticos que puede ofrecer este aprendizaje en la industria porcina y su posible interacción con la práctica actual de “creep-feed”. En el presente trabajo se propone como objetivo confirmar el efecto que tiene incorporar un aroma en el pienso de las cerdas o en el pienso “creep-feed” de los lechones sobre la iniciación al consumo y comportamiento alimentario de los lechones durante la lactación y tras el destete.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en una granja comercial (CollSuri) ubicada en Manlleu (Barcelona), con un censo de 400 cerdas (*Landrace x Larege White*) y manejo de 3 semanas. En la primera prueba se utilizaron 80 cerdas (2 bandas consecutivas) que se distribuyeron en cuatro grupos experimentales según el número de paridad, la condición y peso corporal (Tabla 1). La mitad de las cerdas recibió un pienso a final de la gestación (46 días) y durante la lactación (28 días) y “creep-feed” en las camadas suplementado con Fluidarom 1003<sup>®</sup> (Norel, España). Al destete se seleccionaron 240 lechones por banda (120 procedentes de cerdas con aroma, 120 de cerdas sin aroma) y se movieron a la unidad de destete donde se distribuyeron en 24 corrales (12 corrales por cada grupo de madres, con o sin aroma). De estos 12 corrales, 6 recibieron pienso prestarter con aroma y 6 sin aroma. hasta los 35 días post-destete siguiendo un diseño factorial 2 x 2. Se tomaron registros de los parámetros productivos de la cerda, del consumo de los lechones en transición los días 7, 14, 21, 28 y 35 y el peso de cada corral. Los datos fueron analizados mediante ANOVA usando el procedimiento GLM de SAS<sup>®</sup>.

En la segunda prueba se utilizaron 33 cerdas distribuidas en cuatro tratamientos experimentales (Tabla 2) organizados para analizar las consecuencias de incorporar o no Fluidarom 1003<sup>®</sup> al pienso de gestación y lactación de la cerda, al “creep-feed” o al pienso de la transición. Se hizo un test de preferencia el día 2 post-destete, entre el aroma en estudio Fluidarom 1003<sup>®</sup> (Norel, España), es un aroma a base de aceites esenciales de anís, canela, coco y vainilla con otro aroma diferente el Lácteo-Vainilla (Norel, España). El test se realizó con 4 animales de cada corral y durante 30 minutos se midió la desaparición de cada uno de los de piensos con aroma. Se comparó la preferencia por el aroma con el valor neutro de preferencia (50%) por medio de un *t*-test con el paquete estadístico SAS<sup>®</sup>.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la **prueba 1** no evidenciaron diferencias significativas en los parámetros productivos de la cerda. La administración del aroma en la ración de las cerdas y

simultáneamente en el “creep-feed” determinó un incremento en el peso de la camada al destete (73,5 vs 66,7 kg,  $P=0,043$ ) y produjo un incremento significativo en los consumos de pienso en la transición y en el peso de los lechones a día 7, 14, 21, 28 y 35. El peso de los lechones a día 35 fue 20,06 vs 19,35 kg ( $P= 0,048$ ) en lechones procedentes de cerdas con o sin aroma, respectivamente. Por otra parte, el tratamiento sin aroma en las dietas de las cerdas, ni en el pienso de transición (T1) mostró los menores consumos de pienso y un menor peso de los lechones al final del destete. La incorporación del aroma en el pienso de transición (T3) incrementó significativamente el consumo de pienso en la fase starter y en el global de la transición ( $P<0,05$ ).

Los resultados de la **prueba 2** permitieron identificar el papel del aprendizaje materno y el “creep-feed” en la instauración de preferencias en el consumo de los lechones. En el tratamiento Control (T4), animales que no habían tenido contacto previo con ninguno de los aromas, los lechones mostraron una preferencia innata por el pienso con el aroma de lácteo-vainilla. La incorporación de diferente niveles de condicionamiento previo con Fluidarom 1003<sup>®</sup>, equilibró esta diferencia. En el T1 ( $P=0,710$ ) y T2 ( $P=0,414$ ) no se observaron diferencias significativas entre el consumo de pienso con el aroma dado en las madres (Fluidarom 1003<sup>®</sup>) vs el nuevo aroma (Lácteo-Vainilla). Es de destacar, que los animales condicionados en el T3 (condicionamiento materno con “creep-feed” neutro) mostraron una clara preferencia ( $P=0,014$ ) por el pienso pre-starter con el aroma condicionado de Fluidarom 1003<sup>®</sup> (78,6%) Los resultados de estos dos ensayos confirman que mediante el condicionamiento materno durante el final de la gestación y lactación se pueden incrementar los resultados productivos de los lechones en la transición. Este efecto aparentemente puede ser modulado según las características del pienso “creep-feed” incorporado durante la lactación, de manera que las mayores preferencias se observan en aquellos lechones que identifican claramente el aroma con el condicionamiento exclusivamente materno.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

●Pluske J.R., Dividich J. Le. & M.W.A. Verstegen. 2003. Weaning de pig. 3: 37-51. ●Menella, J.A., Jagnow C. P. & Beauchamp, G. K. 2001. Pediatrics. 107: art. no.-e88. ●Oostindjer, M., Bolhuis, J. E., Van den Brand, H., Roura, E. & Kemp B. 2009. Chem. Senses. 34: 775-787.

**Tabla 1.** Distribución de los tratamientos de la prueba 1.

Tratamiento	Gestación + Lactación + Creep Feed	Transición
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+

(+): dieta con aroma; (-): dieta sin aroma.

**Tabla 2.** Distribución de los tratamientos de la prueba 2.

Tratamiento	Gestación + Lactación	Creep Feed	Transición
1	+	+	+
2	+	+	-
3	+	-	+
4	-	-	-

(+): dieta con aroma; (-): dieta sin aroma.

**Tabla 3.** Efecto de la inclusión de Fluidarom 1003® en las dietas de gestación y lactación y transición sobre el peso vivo (PV), consumo medio diario (CMD), ganancia media diaria (GMD) durante las fases pre-starter y starter (0 a 14 y 14 a 35 días post-destete) y el global (0 a 35 días post-destete).

	T1	T3	T2	T4	EEM <sup>1</sup>	P-valor	
						Dieta cerda	Dieta transición
PV 0 d., g	7415	7423	7426	7407	27,6	0,939	0,837
PV 7 d., g	8066 b	8319 ab	8453 a	8393 a	75,5	0,004	0,208
PV 14 d., g	9892 b	10219 ab	10427 a	10453 a	108,1	0,001	0,111
PV 21 d., g	11843 b	12317 ab	12636 a	12604 a	176,7	0,004	0,220
PV 28 d., g	15095 b	15845 ab	16201 a	16157 a	239,4	0,005	0,149
PV 35 d., g	18933 b	19774 ab	20100 a	20036 a	348,5	0,048	0,273
GMD 0-14 d., g	174,4 b	199,8 ab	212,0 a	217,5 a	8,04	0,002	0,063
CMD 0-14 d., g	238,0 b	259,5 ab	286,6 a	297,0 a	8,72	0,000	0,076
GMD 14-35 d., g	360,9	393,3	407,0	402,5	28,28	0,335	0,625
CMD 14-35 d., g	649,6 b	721,5 a	722,5 a	741,5 a	16,65	0,008	0,010
GMD 0-35 d., g	365,7	391,2	398,5	396,6	11,44	0,103	0,308
CMD 0-35 d., g	485,5 b	536,7 a	548,3 a	563,7 a	12,24	0,001	0,010

EEM<sup>1</sup>=Error estándar de la media

Las interacciones entre dieta de la cerda y dieta en la transición no fueron significativas a excepción del PV 7d (P=0,045).

**Tabla 4.** Resultados del del test de preferencia.

Tratamiento	Consumo Fluidarom 1003® (g/lechón)	Consumo Lácteo-Vainilla (g/lechón)	P-valor
1	2,16	2,92	0,710
2	2,37	3,83	0,414
3	5,26	1,48	0,014
Control	1,41	3,44	0,015

### EFFECT OF DIETARY (GESTATION, LACTATION AND WEANING) COMERCIAL FLAVOR INCLUSION ON SOW, LITTER AND POSTWEANING PERFORMANCE

**ABSTRACT:** The aim of these studies was to evaluate the effect of flavor inclusion in the diet of the sow, litter and post-weaning piglets. A total of 80 and 33 sows were assigned to experimental diets in the first and second trial respectively. At weaning 480 and 240 piglets were selected for the first trial and second trials respectively. In trial 1, 4 experimental treatments were tested following a 2 x 2 factorial arrangement according to pre- and post weaning Fluidarom 1003® (FL) exposure (gestation lactation and creep-feed and/or after weaning). In trial 2, the experimental treatments tested were obtained by following FL inclusion in the creep-feed or after weaning in piglets coming from sows exposed to FL during gestation and lactation. In the first trial it is concluded that the inclusion of FL in the sow diets for late gestation and lactation improve weight gain and feed intake of weanling piglets throughout the pre-starter and starter phase. The inclusion of FL in weanling diets (pre-starter and starter) improves feed intake and weight gain. In the second trial the preference test after weaning showed that piglets pre-exposed to FL via maternal diet but not in the creep-feed preferred FL over a lacto-vainilla, those results suggest it low impact of flavor inclusion in the creep-feed on further performance so more studies are required to confirm this results.

**Keywords:** weaning; maternal learning; piglets; flavor.

## **ESTIMACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA ENERGÍA DEL ALPERUJO PARCIALMENTE DESHUESADO PARA CERDOS EN CRECIMIENTO**

Joven, M., Pintos, M.E.<sup>1</sup>, Suarez, J., Latorre, M.A., Guada, J.A. y Fondevila, M.  
Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón, Depto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.  
<sup>1</sup> Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina  
mfonde@unizar.es

### **INTRODUCCIÓN**

El alperujo de aceituna es el residuo semisólido de la extracción por presión de aceite de oliva virgen extra, y supone alrededor del 80% de la aceituna molidura. Aunque habitualmente el alperujo era sometido posteriormente a una extracción química, este segundo proceso cada vez es menos frecuente. Incluye el hueso, las pieles y una cantidad variable de pulpa en función del procesado y del tipo de materia prima. La principal limitación de su utilización como alimento para el ganado reside en su elevada proporción de fibra, altamente lignificada (Molina Alcalde et al., 2003; Albuquerque et al., 2004). Por el contrario, cierta proporción de aceite permanece en el alperujo, suponiendo un aporte energético importante. Mientras el contenido en fibra es limitante para su aplicación en alimentación porcina, el alto contenido en grasa reduce su utilización para los rumiantes. El desecado del alperujo contribuye a facilitar el manejo del subproducto, mientras que la posterior eliminación de las partículas de hueso disminuye su proporción de fibra, mejorando su valor energético y haciendo de su incorporación en dietas para cerdos de cebo una alternativa viable y potencialmente rentable.

Como parte de un experimento en el que se evaluó el efecto de la inclusión de niveles crecientes de alperujo deshidratado y parcialmente deshuesado en dietas para cerdos de cebo sobre los rendimientos productivos y la calidad de la canal y la carne, en este trabajo se pretende cuantificar el valor energético de este subproducto en la alimentación de ganado porcino.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El alperujo, proveniente de aceitunas variedad Empeltre de la campaña de 2010, se obtuvo de una almazara comercial (San Macario, Andorra, Teruel). El subproducto, de una humedad original del 50%, fue desecado en estufa a 55°C durante 24 h, se homogeneizó en mezcladora a 50 rpm durante 1 h para eliminar grumos y se tamizó a través de una criba de 1,5 mm de poro para la eliminación parcial de partículas de hueso. El rendimiento final de producto fue de  $43,8 \pm 2,68$  % respecto al alperujo original desecado.

Se dispuso de 60 cerdas Duroc x (Landrace x Large White), de  $126 \pm 3$  días de edad y  $69,5 \pm 5,02$  kg de peso, que se distribuyeron según su peso inicial en 20 lotes de 3 cerdas (5 lotes por tratamiento). Los animales fueron alojados en corrales de 2 x 2 m, con suelo 100% slat. A partir de un pienso control formulado a base de cebada (78,7%), harina de soja 44 (18%), aceite de girasol (0,5%) y minerales, aminoácidos y vitaminas (2,4%), se fabricaron piensos con niveles crecientes (5, 10 y 15%) de alperujo parcialmente deshuesado en sustitución de la misma proporción de cebada. Después de 14 días de acostumbramiento a las dietas, se determinó la digestibilidad mediante el uso de óxido de cromo ( $Cr_2O_3$ ) como marcador. Durante 6 días, los animales recibieron los piensos con  $Cr_2O_3$  (2 g/kg), homogenizado en una mezcladora de 40 kg de capacidad, durante 10 minutos. Se tomaron muestras diarias de pienso marcado, así como muestras de heces de cada corral los días 5 y 6 de administración del marcador (dos veces por día). Las muestras de alimento se agruparon en una por pienso, mientras que las muestras de heces se agruparon por día de muestreo (dos muestras por corral).

La composición química de la cebada y el alperujo, y de los piensos experimentales se determinó siguiendo los métodos de AOAC (2005). Se analizó el contenido en materia seca (MS, ref. 930.15), materia orgánica (MO, ref. 942.05), proteína bruta (PB, ref. 984.13) y extracto etéreo (EE, ref. 920.39). Además, se analizó la proporción de almidón mediante el kit enzimático K-TSTA 07/11 (Megazyme, Bray, Irlanda) y de fibra neutro detergente (FND por el método de Van Soest et al. (1991), empleando amilasa y descontando las cenizas residuales. Las muestras de heces se desecaron en estufa a 60°C durante 72 h, se molieron a 1 mm de diámetro y se procesaron siguiendo la técnica de Vega y Poppi (1997). La concentración de Cr se determinó por espectrofotometría de emisión atómica en plasma-ICP. Como matriz para la elaboración de estándares, se emplearon heces de cerdas alimentadas con pienso sin  $Cr_2O_3$ , a las que se añadieron cantidades crecientes de marcador hasta conseguir un rango de concentración de Cr

entre 0 y 100 ppm. El contenido en energía bruta (EB) de las muestras de alimento y heces se determinó mediante bomba calorimétrica (modelo 356, Parr Instruments Co., Illinois, EEUU).

Los resultados se procesaron estadísticamente mediante ANOVA, comparando la respuesta al nivel de alperujo mediante polinomios ortogonales. Probabilidades menores de 0.05 y 0.10 se consideraron como significativas y tendentes a la significación, respectivamente. Se estableció una regresión lineal de la evolución de la digestibilidad de la energía (dE), en función del nivel de alperujo deshuesado en el pienso, y paralelamente se estimó el contenido en energía digestible (ED) de los piensos a partir de la ecuación de Noblet et al. (2003):

$$ED = 5,37 PB + 7,58 EE + 4,11 \text{ almidón} + 0,76 \text{ FND} + 3,90 \text{ res}; \quad (1)$$

donde res = MO - (PB + EE + almidón + FND), y la ED y las concentraciones de nutrientes se expresan en Kcal/kg MS y g/kg MS, respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido final de MS del alperujo parcialmente deshuesado fue de 909 g/kg, y su contenido en energía bruta de 5379 kcal/kg MS. La composición química de los piensos, así como del alperujo deshuesado y de la cebada, se presentan en la Tabla 1. Se considera que el alperujo deshuesado contiene proporciones mínimas de almidón. La comparación del valor energético de los piensos experimentales, junto con la predicción a partir de las ecuaciones de Noblet et al. (2003) se presenta en la Tabla 2. La evolución de la dE (%) con la inclusión (%) de alperujo mostró una tendencia lineal descendente ( $P=0,04$ ), según la ecuación:

$$dE = 77,94 (\pm 0,77) - 0,2087 (\pm 0,083) \times \text{alperujo}; \quad n=20; R=0,512; SE=4,27 \quad (2)$$

en la que el coeficiente de regresión indica la tasa marginal de cambio en la digestibilidad de la dieta al sustituir la cebada por alperujo deshuesado, es decir, que la sustitución de una unidad (1%) de cebada por alperujo en el pienso supone un descenso en la dE de 0,2087 unidades porcentuales.

Asumiendo una dE para la cebada de 80,30%, calculada por la estimación de la EB (4381 kcal/kg MS) y ED (3518 kcal/kg MS) a partir de Noblet et al. (1993), se puede estimar una dE del alperujo parcialmente deshuesado del 59,43%, lo que supone una concentración de ED de 3197 kcal/kg MS (2906 kcal/kg MF). Este contenido en ED es inferior en 321 kcal/kg MS al valor calculado para la cebada, diferencia que resulta muy inferior a las 1041 kcal/kg MS que resultaría de asumir el valor en ED del alperujo (2495 kcal/kg MS) estimado según la ecuación (1). Sin embargo, la diferencia es coherente con el escaso ( $P>0,10$ ) descenso en el contenido en ED de los piensos observado experimentalmente para las dietas con 10 y 15% alperujo (Tabla 2). Del mismo modo, la estimación de la proporción de ED de los piensos (EDE) a partir de su composición química (ecuación 1) muestra valores similares a los obtenidos experimentalmente, aunque de tendencia contraria, y en cualquier caso no indican una diferencia notable entre el contenido en ED de los dos ingredientes (cebada y alperujo).

El menor valor de la estimación de la ED del alperujo deshuesado respecto al resultado experimental (78%) puede ser en parte explicado porque el descenso de la dE observado por Noblet et al. (2003) con el porcentaje de FND en dietas para cerdos en crecimiento (0,090 por cada unidad de FND) está establecido a partir de dietas con un contenido en FND superior al 28%, superior al nivel máximo registrado en este experimento, lo que muestra el riesgo de extrapolar ecuaciones de predicción a subproductos de composición no convencional.

Por otra parte, a la hora de comparar el resultado obtenido con el que figura como orujo de aceituna deshuesada en la base de datos de FEDNA (2010), hay que tener en cuenta que el contenido en extracto etéreo de dicha fuente es comparativamente muy bajo (19 vs. 129 g/kg MS), probablemente porque se refiere a un alperujo de segunda extracción, lo que de todas formas no llega a justificar el bajo contenido en ED atribuido a este subproducto (382 kcal/kg MS).

En conclusión, el valor energético del alperujo desecado y parcialmente deshuesado, incorporado en proporciones no superiores al 15% en dietas para cerdos en crecimiento resultó un 9% inferior al de la cebada empleada, por lo que la incorporación de este subproducto en este rango de proporciones apenas diluye la concentración energética de la dieta.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albuquerque, J.A., González, J., García, D., Cegarra, J., 2004. *Biores. Technol.* 91, 195-200
- AOAC, 2005. *Official Methods of Analysis*, 17<sup>th</sup> ed., Gaithersburg, MA, USA
- FEDNA, 2010. *Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*, 3<sup>a</sup> ed. De Blas et al. (eds.), Madrid
- Molina Alcaide, E., Yañez-Ruiz, D.R.,

Moumen, A., Martín, A.I. 2003. Small Rumin. Res. 49, 329-336 • Noblet, J., Bontems, V., Tran, G., 2003. INRA Prod. Anim. 16, 197-210 • Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597 • Vega, A., Poppi, D.P. 1997. J. Anim. Sci. 128, 207-215.

**Agradecimientos:** Este trabajo se financió mediante el proyecto CDTI IDI-20090836, del Ministerio de Ciencia y Tecnología, con participación del Departamento de Industria e Innovación del Gobierno de Aragón y el Fondo Social Europeo.

**Tabla 1:** Composición química de los ingredientes principales (alperujo deshuesado y cebada) y de los piensos experimentales (g/kg MS)

	0%	5%	10%	15%	Alperujo	Cebada
MO	942	937	931	934	952	975
PB	184	184	180	179	93,3	110
EE	21,9	29,0	32,4	36,3	128,5	20,5
Almidón	446	418	389	361	---	566
FND	183	206	234	248	582	204

**Tabla 2:** Digestibilidad de la energía (dE, %) y concentración (kcal/kg MS) de la energía bruta (EB) y energía digestible (ED), junto con la estimación de la energía digestible (EDe, kcal/kg MS) a partir de Noblet et al. (2003), del pienso con 0, 5, 10 y 15% de alperujo deshuesado para cerdos en crecimiento.

	0%	5%	10%	15%	SEM	P
EB	4283	4294	4373	4453	---	---
dE	78,55	75,85	76,16	74,97	0,928	0,079
ED	3364	3257	3330	3338	40,4	0,31
EDe	3237	3472	3362	3336	---	---

#### ESTIMATION OF ENERGY DIGESTIBILITY OF PARTIALLY PITTED OLIVE CAKE IN DIETS FOR GROWING PIGS

**ABSTRACT:** Four compound feeds, with 0, 5, 10 and 15% partially pitted olive cake (90.9% dry matter, DM) replacing the same proportion of barley were given ad libitum to growing pigs, using chromium oxide as digestibility marker. Energy digestibility (dE) of diets showed a linear decrease ( $P=0.04$ ) with olive pulp percentage ( $dE= 77.94 (\pm 0.77) - 0.2087 (\pm 0.083) \times \text{olive cake}$ ). By estimating dE and digestible energy content (DE) of barley from its chemical composition (80.30% and 3518 kcal/kg DM), the dE of olive cake resulted 59.43%, and its DE content 3195 kcal/kg DM. This value is much higher to that estimated from its chemical composition (2495 kcal/kg DM), and it is not far from that of barley, as it is shown by the scarce differences ( $P>0.10$ ) between diets in DE content. The DE content of partially pitted olive cake when included up to 15% in diets for growing pigs was 9% lower to that of barley, and its inclusion within this range scarcely dilute energy concentration of diet.

**Keywords:** pitted olive cake, energy digestibility, growing pigs

## **INFLUENCIA DEL EXTRUSIONADO DE CEREALES SOBRE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL DE NUTRIENTES EN LECHONES**

Rodrigues, E.A., Lizardo, R., Francesch, M., Torrallardona<sup>1</sup>, D.

<sup>1</sup>IRTA-Nutrición de Monogástricos, Ctra. Reus-El Morell km 3.8, 43120 Constantí

E-mail: [david.torrallardona@irta.es](mailto:david.torrallardona@irta.es)

### **INTRODUCCIÓN**

Los cereales, por su riqueza en almidón, son la principal fuente de energía en la alimentación de cerdos. Aunque el almidón es casi completamente digerido en el intestino delgado del lechón, su ritmo de degradación depende de la estructura y el tamaño de los gránulos de cada cereal. Además, la composición en polisacáridos no amiláceos (**PNA**) y su digestibilidad también difiere entre cereales y ello puede también afectar a su ritmo de digestión (Pérez-Vendrell y Torrallardona, 2010). La digestibilidad de los carbohidratos (almidón y PNA) en los diferentes segmentos del intestino delgado y del intestino grueso, sin duda tiene un impacto importante en la mejor o peor adaptación del lechón a los cambios fisiológicos causados por el destete (Torrallardona et al., 2012a,b). Los cereales extrusionados son sometidos a altas temperaturas y altas presiones durante un corto periodo de tiempo, generándose importantes modificaciones en la estructura de las diferentes fracciones (i.e. almidón, cadenas proteicas, lípidos y PNA y fibra), pudiendo romperse también la matriz de las paredes celulares. El tratamiento térmico de los cereales aumenta el grado de gelatinización del almidón y su velocidad de digestión. Además, la rotura mecánica de las estructuras de las paredes celulares puede facilitar la accesibilidad de los enzimas digestivos a los nutrientes y aumentar su digestibilidad. Una mayor digestibilidad de los nutrientes podría explicar las mejoras productivas observadas en lechones alimentados con cereales tratados térmicamente, aunque parece ser que solo se manifiestan con niveles de gelatinización del almidón moderados (Vicente et al., 2009) y en lechones con un sistema digestivo muy inmaduro (Medel et al., 2004). Por otro lado, las mejoras productivas con el tratamiento térmico también podrían deberse a mejoras en la palatabilidad del pienso (Solà-Oriol et al. 2009). El objetivo de este experimento es estudiar el efecto de la extrusión del arroz y de la cebada sobre la digestibilidad de sus nutrientes para lechones a las cuatro semanas post-destete.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los procedimientos descritos en este trabajo fueron aprobados por el comité ético de experimentación animal del IRTA en cumplimiento de la legislación vigente. Se utilizaron un total de 32 lechones ([Duroc x Landrace] x Pietrain) recién destetados a los 26 días de edad y con 6-8 kg de peso. Los lechones fueron alojados en pares en 16 corrales provistos de un comedero tipo tolva, un bebedero de chupete y suelo con slat completo. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en cuatro bloques de acuerdo a su peso vivo inicial, consistiendo cada bloque de cuatro corrales con dos lechones cada uno. Se ensayaron un total de cuatro tratamientos experimentales organizados de acuerdo a un diseño factorial 2x2, siendo los dos factores principales la naturaleza del cereal (arroz o cebada) y el procesado por extrusión (con o sin). Inmediatamente después del destete los animales fueron alimentados con las dietas experimentales que contenían 550 g del cereal estudiado (arroz o cebada, extrusionados o no)/kg de pienso. La composición de las dietas experimentales se muestra en la Tabla 1. A todas las dietas experimentales se les añadió un 10 g/kg de Celatón, para aumentar su contenido en cenizas insolubles en ácido, las cuales se utilizaron como marcador inerte para las determinaciones de digestibilidad ileal aparente (**DIA**). Los animales fueron alimentados a voluntad durante un periodo de cuatro semanas, al fin del cual, los animales fueron sacrificados a los días 27 y 28 días de ensayo (16 animales de 8 corrales cada día). Con el fin de homogeneizar las condiciones de los animales en el momento del sacrificio, los animales sacrificados no tuvieron acceso al pienso experimental desde las 17:00 del día anterior hasta la mañana siguiente, exactamente tres horas antes de la hora prevista de sacrificio. Los animales fueron sacrificados bajo el efecto de anestesia (isofluorano) y seguidamente se obtuvieron las de contenido digestivo ileal. Para ello, el intestino delgado se diseccionó en su totalidad, se dividió en tres partes de igual longitud y se recogió la totalidad de contenido digestivo presente en el tercio distal. El contenido digestivo fue inmediatamente congelado a -20 °C hasta su liofilización y análisis para la



determinación de la DIA de la materia seca (MS, materia orgánica (MO), energía, proteína bruta (PB) y extracto etéreo (EE). Los valores de DIA obtenidos se analizaron de acuerdo a una distribución factorial de tratamientos (2x2) con dos cereales (arroz y cebada) y dos niveles de extrusión (sin o con), utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS®. Las medias se compararon utilizando el test de Student-Newman-Keuls.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan en la Tabla 2. No se observó ninguna interacción significativa ( $P>0,05$ ) entre la naturaleza del cereal (arroz o cebada) y su procesado por extrusión (extrusionado o no) para ninguno de los parámetros evaluados. Las dietas con arroz presentaron mejores coeficientes de DIA de la MS, MO, energía ( $P<0,001$ ) y EE ( $P<0,05$ ) que las dietas con cebada. Ello se debe posiblemente, al mayor contenido de fibra bruta de las dietas en base a cebada, y está de acuerdo con observaciones previas *in vitro* (Pérez-Vendrell y Torrallardona, 2010) e *in vivo* Vicente et al, (2009) en las que también se observaron mayores digestibilidades para el arroz que para otros cereales con mayor contenido en fibra. La DIA de la PB no se vio afectada por la naturaleza del cereal. Con el proceso de extrusión de los cereales, se incrementó la DIA de su MS y MO ( $P<0,01$ ) y se observó una tendencia ( $P=0,08$ ) a mejorar la de la energía. Por el contrario, la DIA del EE se vio reducida ( $P<0,01$ ), mientras que la de PB no se vio afectada. Cabe destacar, sin embargo que además del efecto descrito sobre la DIA de los diferentes nutrientes, la naturaleza del cereal y el proceso de extrusión de los mismos también ejerce un efecto importante sobre la composición de la microbiota y la salud intestinal de los lechones (Torrallardona et al., 2012a,b), así como sobre la palatabilidad del pienso (Sola-Oriol et al. 2009), factores que también afectan a la productividad. Se concluye que la DIA de MS, MO, energía y EE de las dietas de arroz es mayor a la de las dietas de cebada, y que la DIA de MS, MO y energía de los cereales mejora con el proceso de extrusión.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Medel, P., Latorre, M.A., de Blas, C., Lázaro R. & Mateos, G.G. 2004. Heat processing of cereals in mash or pellet diets for young pigs. Anim. Feed Sci. Tech. 113: 127 - 140.
- Pérez-Vendrell, A.M. & Torrallardona, D. 2010. *In vitro* digestibility kinetics of diets containing different cereal sources. Liv. Sci. 134: 47-49.
- Solà-Oriol, D., Roura, E. & Torrallardona, D. 2009. Feed preference in pigs: Effect of cereal sources at different inclusion rates. J. Anim. Sci. 87:562-570
- Torrallardona, D., Andrés-Elias, N., López-Soria, S., Badiola, I. & Cerdà-Cuéllar, M. 2012a. Effect of feeding piglets with different extruded and nonextruded cereals on the gut mucosa and microbiota during the first postweaning week. J. Anim. Sci. 90 (Suppl. 4):7-9.
- Torrallardona, D., Andrés-Elias, N., López-Soria, S., Badiola, I. & Cerdà-Cuéllar, M. 2012b. Effect of feeding different cereal-based diets on the performance and gut health of weaned piglets with or without previous access to creep feed during lactation. J. Anim. Sci. 90 (Suppl. 4):31-33.
- Vicente, B., Valencia, D. G., Serrano, M. P., Lázaro, R. & Mateos, G. G. 2009. Effects of feeding rice and the degree of starch gelatinisation of rice on nutrient digestibility and ileal morphology of young pigs. Br. J. Nutr. 101:1278 - 1281.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA RTA2010-00088-C02-01. EAR agradece el apoyo financiero recibido del Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) de Brasil.

**Tabla 1.** Composición de las dietas experimentales (g/kg).

	Arroz crudo	Arroz extrusionado	Cebada cruda	Cebada extrusionada
<b>Ingredientes</b>				
Arroz partido	550	550	-	-
Cebada	-	-	550	550
Torta de soja 48% PB	148	148	148	148
Suero de leche dulce	140	140	140	140
HP300	100	100	100	100
Manteca	30	30	35	35
Otros <sup>1</sup>	32	32	27	27
<b>Análisis</b>				
Materia seca	894	916	908	914
Proteína bruta	182	187	212	209
Cenizas	58	58	68	69
Materia orgánica	836	857	840	846
Extracto etéreo	39	33	48	45
Fibra bruta	13	16	37	33
Energía bruta (kca/kg)	3963	4026	4064	4097
Almidón	401	405	252	261

<sup>1</sup> Vitaminas, minerales y aminoácidos para satisfacer necesidades nutricionales.

**Tabla 2.** Influencia del cereal y de la extrusión sobre la digestibilidad ileal aparente (%) de los principales nutrientes en lechones<sup>1</sup>.

Nutriente	Arroz		Cebada		Análisis estadístico		
	Arroz crudo	Arroz extrusionado	Cebada cruda	Cebada extrusionada	Cereal	Extrusión	RSD <sup>2</sup>
Materia seca <sup>3</sup>	69,8a	72,8a	59,6c	63,3b	<0,01	0,01	3,29
Materia orgánica	73,7a	76,6a	62,3a	66,2b	<0,01	0,01	3,16
Energía	71,9	73,8	61,3	64,1	<0,01	0,08	3,41
Proteína bruta	62,8	63,0	61,3	67,5	0,53	0,17	6,40
Extracto etéreo	67,7a	54,7b	58,9ab	49,5b	0,05	0,01	8,55

<sup>1</sup> No se observaron interacciones significativas entre la naturaleza del cereal y el procesado por extrusión para ninguno de los parámetros evaluados.

<sup>2</sup> RSD: Desviación estándar residual del modelo.

<sup>3</sup> Valores en la misma fila con letras diferentes son diferentes significativamente (P<0,05).

### EFFECT OF CEREAL EXTRUSION ON ILEAL DIGESTIBILITY OF NUTRIENTS IN PIGLETS

**ABSTRACT:** An experiment was conducted with 32 newly weaned piglets (26 days of age; 6-8 kg BW). The piglets were offered for 4 weeks four dietary treatments arranged according to a 2x2 factorial design, with cereal (rice or barley) and extrusion (with or without) as main factors. At the end of the trial, the piglets were slaughtered and samples of ileal digesta were obtained for the determination of ileal apparent digestibility (IAD) of dry matter (DM), organic matter (OM), energy, crude protein (CP) and fat. There were no interactions between the two factors for any of the parameters studied. The diets containing rice presented higher IAD coefficients than those containing barley for DM, OM, energy and fat (P<0.05). CP digestibility was not affected by cereal nature. In addition, extrusion also improved the AID coefficients for DM and OM and a tendency for energy (P=0.08). On the contrary extrusion reduced AID for fat (P<0.05), and did not have any effect on CP. It is concluded that AID of DM, OM, energy and fat is higher for rice than for barley, and that these cereals AID of DM, OM and energy can be improved by extrusion.

**Keywords:** extrusion, cereal, digestibility, piglets

## **INFLUENCIA DE LA INCLUSIÓN DE DIFERENTES FUENTES Y NIVELES DE FIBRA BAJO CONDICIONES SANITARIAS DIFERENTES SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS EN LECHONES RECIÉN DESTETADOS**

Berrocoso, J. D., Guzmán, P., Saldaña, B., Cámara, L. y Mateos,<sup>1</sup> G. G.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, U.P. Madrid. Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid.  
gonzalo.gmateos@upm.es

### **INTRODUCCIÓN**

En general la inclusión de fibra en piensos de lechones se asocia con una reducción del consumo y de los rendimientos productivos (Wellock et al., 2008; Montagne et al., 2012). Sin embargo, diversos autores indican que la inclusión de cantidades moderadas de ciertas fuentes de fibra en el pienso podría mejorar los rendimientos productivos en lechones recién destetados (Mateos et al., 2006; Hermes et al., 2009). De hecho, Bach Knudsen et al. (2008) y Wellock et al. (2008) observaron que la inclusión de fibra en el pienso disminuyó la incidencia de diarreas (ID). Pluske et al. (1998) encontraron una relación positiva entre la ID y la inclusión de fibra soluble en el pienso. Sin embargo es frecuente incluir niveles de hasta el 4-5% de pulpa de remolacha en piensos comerciales para reducir el ID. La fibra soluble de la dieta podría actuar como un substrato fermentativo reduciendo el pH y alterando el perfil microbiano. Por otro lado, la fibra insoluble podría estimular el funcionamiento del tracto gastrointestinal y mejorar la sanidad de los lechones, reduciendo la actividad de bacterias perjudiciales. La respuesta a la inclusión de fibra en piensos para lechones puede estar condicionada por factores tales como el tipo y el nivel de fibra así como las condiciones higio-sanitarias de los lechones. En particular, la limpieza y desinfección de la nave son consideradas factores claves para limitar la incidencia de diarreas post-destete (Madec et al., 1998). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el crecimiento y la incidencia de diarreas en lechones criados bajo condiciones higio-sanitarias adecuadas (naves limpias y desinfectadas) o inadecuadas (naves sucias) alimentados con dietas que diferían en el tipo y nivel de fibra utilizado.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron lechones recién destetados con una edad media de  $21 \pm 3$  d de edad a fin de determinar el efecto de la inclusión de diferentes fuentes y niveles de fibra en condiciones higio-sanitarias diferentes sobre los rendimientos productivos y la ID. Los cerdos fueron alojados (50%) de forma consecutiva en condiciones "limpias" (primer lote) o "sucias" (segundo lote, con entrada de los cerdos inmediatamente después de salir el primer lote). Hubo un pienso control basado en maíz, harina de soja y harina de pescado con 8% de lactosa y 2,2% de fibra bruta, y 8 tratamientos adicionales, que incluyeron 4 fuentes de fibra (paja de cereal, cascarilla de avena, pulpa de remolacha y salvado de trigo) a 2 niveles de inclusión (2,5 y 5%). Todos los piensos fueron isonutritivos excepto en el nivel y tipo de fibra dietética. Cada tratamiento se replicó 4 veces y la unidad experimental fue el departamento con 6 cerdos. Los cerdos se pesaron individualmente y el consumo de alimento se controló por réplica a los 0, 14 y 21 d de prueba. La GMD, CMD y el IC se calcularon a partir de estos datos por período y para el global de la prueba. Los datos se analizaron como un diseño completamente al azar formando un factorial con la fuente de fibra y el nivel de inclusión como efectos principales, utilizando el procedimiento GLM de SAS. Además, se realizó una comparación no ortogonal entre la dieta control y el resto de tratamientos con fibra añadida bajo cada una de las 2 condiciones higio-sanitarias. Para el análisis de los datos de la ID se utilizó el procedimiento CATMOD de SAS.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el global del experimento (0 a 21 d de edad), la GMD y el CMD fueron superiores ( $P < 0,01$ ) para los lechones alojados en la granja limpia que para los lechones alojadas a continuación en condiciones higio-sanitarias sucias. Estos datos coinciden con los resultados de Le Floc'h et al. (2009, 2010) quienes observaron un menor consumo de pienso en lechones alojados en condiciones higio-sanitarias deficientes. Así mismo, Montagne et al. (2012) encontraron un peor IC en lechones alojados en condiciones higio-sanitarias deficientes. El ID fue mayor para los cerdos alojados en la nave sucia que los lechones alojados en la nave limpia. Estos resultados coinciden con los datos de Montagne

et al. (2012), comparando el crecimiento de los lechones en condiciones higio-sanitarias extremas. La fuente y nivel de inclusión de fibra no afectaron de forma significativa a los rendimientos productivos en ninguno de los periodos estudiados, resultados que concuerdan con datos de Bikker et al.(2006) y Mateos et al. (2007). Montagne et al (2012) observaron que la inclusión de fibra en el pienso durante las dos primeras semanas post-destete tendió a empeorar el crecimiento y el consumo de pienso en lechones destetados a 21 d. Las discrepancias entre autores pueden deberse al tipo de fibra utilizado o al nivel de inclusión de la misma. Por ejemplo, Montagne et al. (2012) utilizó un pienso control con 4,8% de fibra bruta proporcionada principalmente por pulpa de remolacha (6% de inclusión) y cascarilla de soja (2% de inclusión) mientras que en el estudio actual el pienso control contenía sólo un 2,2% de fibra bruta, sin ningún tipo de fibra añadida. El ID aumentó con la inclusión de fibra en el pienso, aunque la diferencia fue menor ( $P = 0,08$ ) en condiciones higio-sanitarias deficientes que en condiciones sanitarias favorables. Se concluye, que la inclusión en la dieta de fibra aumentó la ID y no mejoró en ninguna circunstancia los rendimientos productivos. De hecho, la inclusión de fibra en la dieta puede ser un factor negativo a tener en cuenta en granjas con un estado sanitario óptimo. Asimismo, el alojamiento de los lechones en condiciones higio-sanitarias deficientes aumentó la ID y disminuyó de forma muy significativa el CMD y la GMD.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bach Knudsen, K. E., Laerke, H. N. & Hedemann, M. S. 2008. Pages 65-95 in Gut Efficiency; the Key Ingredient in Pig and Poultry Production: Elevating Animal Performance and Health. J. A. Taylor-Pickard, P. Spring, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Bikker, P., Dirkwager, A., Fledderus, J., Trevisi, P., Le Huërou-Luron, I., Lallès, J. P. & Awati, A. 2006. J. Anim. Sci. 84:3337-3345.
- Hermes, R. G., Molist, F., Ywazaki, M., Nofrarias, M., de Segura, A. G., Gasa, J. & Pérez, J. F. 2009. J. Anim. Sci. 87:3569-3577.
- Hopwood, D. E., Pethick, D. W., Pluske, J. R. & Hampson, D. J. 2004. Br. J. Nutr. 92:419-427.
- Le Floch, N., LeBellego, L., Matte, J. J., Melchior, D. & Sève, B. 2009. J. Anim. Sci. 87:1686-1694.
- Le Floch, N., Matte, J. J., Melchior, D., van Milgen, J. & Sève, B. 2010. Anim. Sci. 4:1891-1898.
- Mateos G.G., López, E., Latorre, M. A., Vicente, B. & Lázaro, R. P. 2007. Anim. Feed Sci. Technol. 135:100-112.
- Madec, F., Bridoux, N., Bounaix, S. & Jestin A. 1998. Prev. Vet. Med. 35:53-72.
- Montagne, L., Le Floch, N., Arturo-Schaan, M., Foret, R., Urdaci, M.C. & Le Gall, M. 2012. J. Anim. Sci. 90:2556-2569.
- Pluske, J.R., Durmic, Z., Pethick, D. W. 1998. J. Nutrition, 128:1737-1744.
- Wellock, I. J., Fortomaris, P. D., Houdijk, J. G. M., Wiseman, J. & Kyriazakis, I. 2008. Br. J. Nutr. 99:520-530.

### INFLUENCE OF DIFFERENT FIBER SOURCE AND LEVELS OF INCLUSION IN TWO DIFFERENT HYGIENE CONDITIONS IN WEANED PIGS

**ABSTRACT:** The effects of including different sources of fiber in the diet on growth performance of weanling pigs under 2 different hygiene conditions (“clean barn” vs. “dirty barn”), was evaluated. There was a positive control diet based in corn, soybean meal, and fishmeal without any additional fiber source and 8 extra treatments that included 4 different sources of fiber at 2 levels of inclusion (2.5 and 5%). The experiment was conducted in a clean barn and then, without any cleaning, a new batch of piglets from the same origin was introduced in the barn. Data on growth performance was analyzed as a completely randomized design with source and level of fiber as main effects. In addition, the positive control diet was compared with the average of all other treatments that included additional fiber at each of the 2 hygiene conditions. For the entire experimental period, ADG and ADFI were higher ( $P < 0.05$ ) for pigs placed in the clean than for pigs placed in the dirty barn. Source and level of inclusion of fiber did not affect growth performance. Post weaning diarrhoea (PWD) was lower ( $P < 0.001$ ) in pigs reared in the clean than in the dirty environment ( $P < 0.001$ ) and lower ( $P < 0.01$ ) in pigs fed the control diet than in pigs fed the fiber containing diets. It is concluded that the inclusion of fiber in the diet increased PWD and did not improve growth performance. Also, piglets reared under high hygiene status showed improved growth and decrease PWD as compared with pigs reared under poor hygiene status.

**Key words:** dietary fiber, hygiene conditions, incidence of diarrhoea, piglet performance.

**Tabla 1.** Influencia de la fuente y nivel de fibra en dos condiciones higio-sanitarias sobre la productividad y la incidencia de diarreas (%) en lechones destetados de 21 a 42 d de edad

21 a 42 d de edad					
Tipo de fibra	Inclusión (%)	GMD (g)	CMD (g)	IC	ID (%)
<b>Limpia</b>					
Control	0,0	560	691	1,23	0,8
Paja de cereal	2,5	472	606	1,28	1,2
	5,0	534	666	1,25	1,8
Cascarilla de avena	2,5	513	642	1,25	1,9
	5,0	502	613	1,22	3,8
Pulpa de remolacha	2,5	478	598	1,25	2,2
	5,0	532	665	1,25	3,8
Salvado de trigo	2,5	545	671	1,23	1,8
	5,0	525	652	1,24	2,4
<b>Sucia</b>					
Control	0,0	401	503	1,25	4,8
Paja de cereal	2,5	395	498	1,26	8,1
	5,0	372	466	1,25	5,8
Cascarilla de avena	2,5	399	492	1,23	8,8
	5,0	419	537	1,28	6,4
Pulpa de remolacha	2,5	398	506	1,27	4,8
	5,0	415	522	1,26	6,9
Salvado de trigo	2,5	412	518	1,26	6,9
	5,0	416	518	1,24	4,8
<b>Efectos principales</b>					
Condiciones higio-sanitarias					
Nave limpia		518	645	1,25	2,2
Nave Sucia		403	507	1,26	6,4
Tipo de fibra					
Paja de cereales		442	558	1,26	4,2
Cascarilla de avena		457	569	1,24	5,2
Pulpa de remolacha		455	571	1,26	4,4
Salvado de trigo		473	588	1,24	4,0
Inclusión de fibra,%					
2.5		447	560	1,25	4,5
5.0		466	582	1,25	4,5
E.E.M		23.3	25.2	0,023	
<b>Probabilidad</b>					
Condiciones higio-sanitarias		0,001	0,001	NS	0,001
Tipo de fibra		NS	NS	NS	NS
Inclusión de fibra		NS	NS	NS	NS
Control vs. fibra		NS	NS	NS	0,003
Control vs. fibra <sup>1</sup> (nave limpia)		NS	NS	NS	0,007
Control vs. fibra <sup>1</sup> (nave sucia)		+	+	NS	+

<sup>1</sup>Comparación del pienso control sin fibra añadida vs. el promedio de los 8 piensos con fibra añadida

## GLP-2 ENDÓGENO COMO DIANA PARA PREVENIR LOS DESÓRDENES ASOCIADOS AL DESTETE TEMPRANO EN LECHONES

de Diego<sup>1</sup>, N., Menoyo<sup>1</sup> D., Ipharraguerre<sup>2</sup>, I. R.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, UPM. Ciudad Universitaria, s/n, 28040, Madrid.

<sup>2</sup>Lucta S.A., Can Parellada 28, 08170, Montornés del Vallés.

david.menoyo@upm.es

### INTRODUCCIÓN

El destete temprano es una práctica extendida en la producción porcina. Los lechones sufren un periodo de estrés, que en ocasiones deriva en anorexia y deterioro de la estructura intestinal, aumentando la susceptibilidad a diarreas y reduciendo el crecimiento del animal (Lallès et al., 2004; Pluske et al., 1997). El péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) es un factor de crecimiento intestinal que se sintetiza por procesamiento post-traducciona l de un péptido precursor, el proglucagón (GCG). El GLP-2 es liberado por las células L intestinales, localizadas más densamente en el íleon y el colon, en respuesta a la presencia de nutrientes en el lumen (Cottrell et al., 2006; Xiao et al., 1999). Las acciones de dicho péptido son mediadas por el receptor de GLP-2 (GLP-2R), el cual se expresa en el tracto intestinal de los lechones en el periodo perinatal (Petersen et al., 2003). Dado que la concentración plasmática de GLP-2 disminuye tras el destete (Petersen et al., 2003), este péptido podría estar también implicado en los trastornos asociados al destete temprano. Además de los factores nutricionales, la secreción endógena de GLP-2 en el intestino también puede ser inducida por estímulos neurales u hormonales (Burrin et al., 2003; Estall and Drucker, 2006). En los últimos años, los ácidos biliares, entre ellos el ácido quenodesoxicólico (CDC), han surgido como potentes reguladores hormonales (Vallim y Edwards, 2009), capaces de estimular la secreción de GLP en el intestino, señalizando a través de un receptor en la superficie de las células L (Katsuma et al., 2005). Los objetivos de este estudio fueron determinar la expresión de GCG y GLP-2R en los tramos distal y proximal del intestino delgado, y estudiar la influencia de la inclusión de CDC en el pienso sobre la expresión de dichos genes y sobre la concentración de GLP-2 en plasma, en lechones destetados con 20 d de edad hasta los 35 d de edad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se destetaron 12 lechones a los 20 d de edad con un peso inicial de  $6,3 \pm 0,73$  kg y se alojaron individualmente. Los animales se asignaron completamente al azar a dos tratamientos experimentales ( $n = 6$ ), consistentes en una dieta comercial (control) y la misma dieta a la que se añadieron 60 mg de CDC por kg de PV. A los 20, 27 y 34 d de edad se sometió a los lechones un periodo de ayuno de 12-14 h y a continuación se tomaron muestras de sangre. La concentración de GLP-2 en plasma se determinó por radioinmunoensayo (Burrin et al., 2000). A los 35 d de edad, todos los animales fueron sacrificados y se tomaron muestras de mucosa de los tramos proximal y distal del intestino delgado. La expresión de GCG (Doug Burrin, comunicación personal) y de GLP-2R (Guan et al., 2006) se determinó mediante PCR a tiempo real. El gen de la  $\beta$ -actina (Gerbens et al., 2001) y el de la proteína de unión de la TATA box (TBP) (Nygard et al., 2007) se tomaron como genes control. Los cambios en la concentración de GLP-2 en plasma se analizaron con un modelo de efectos mixtos (SAS Inst. Inc., Cary, NC) tras la transformación logarítmica de los datos. Los resultados de expresión génica se analizaron con un test T (SAS Inst. Inc., Cary, NC), siguiendo el modelo propuesto por Yuan et al. (2006). Cuando las eficiencias de amplificación fueron distintas a 2 ( $E \neq 2$ ) los valores de Ct fueron transformados en función de su eficiencia siguiendo el modelo propuesto por Steibel et al. (2009). Se utilizó la media geométrica de los dos genes de referencia  $\beta$ -actina y TBP para la normalización de los valores de expresión, siguiendo el modelo propuesto por Pfaffl et al. (2004).

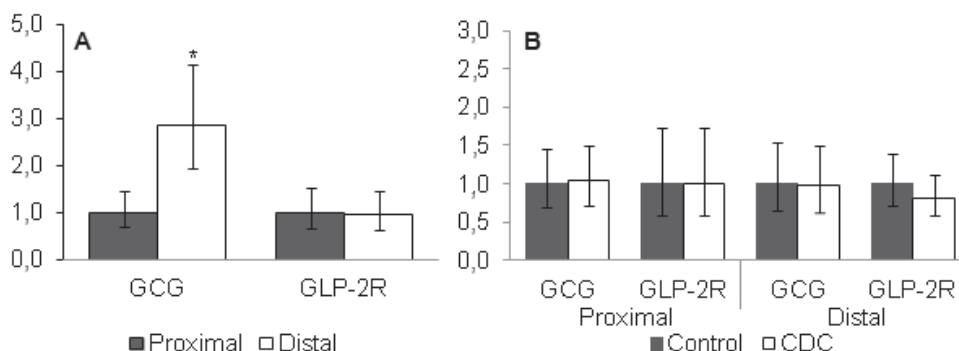
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En lechones de 35 d de edad alimentados con la dieta control, el nivel de expresión de GCG fue significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) en el tramo distal del intestino delgado que en el proximal. Este resultado se encuentra dentro de lo esperado, ya que el GCG es producido por las células L enteroendocrinas que se localizan en la parte distal del intestino (Burrin et al., 2003). Sin embargo, la expresión de GLP-2R, fue similar en ambos tramos intestinales

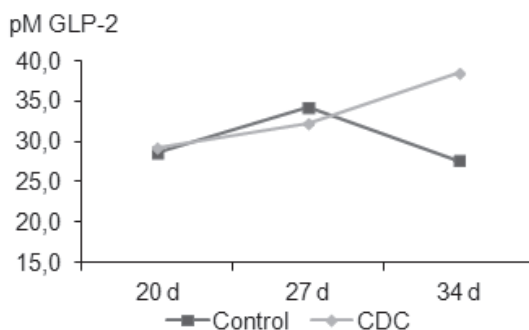
(Figura 1A). Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas en la expresión de los dos genes a estudio en ninguno de los tramos del intestino delgado al comparar los lechones que consumieron la dieta con CDC respecto a los de la dieta control (Figura 1B). En estudios anteriores la infusión intragástrica de 60 mg de CDC por kg de PV provocó un aumento de GLP-2 en plasma de un 77 % respecto a una dieta control (Ipharraguerre et al., 2012). Sin embargo, en el presente estudio dicho aumento representó un 39 %, sin hallarse diferencias significativas entre ambos tratamientos (Figura 2). Dado que se ha utilizado la misma concentración de CDC entre estudios, la vía de administración puede haber afectado la capacidad del CDC para estimular la secreción de GLP-2. El GLP-2R es un receptor de membrana de la familia de receptores asociados a proteínas G, cuya expresión se modula en función de la presencia/ausencia de su agonista. Petersen et al. (2003) mostró que la expresión de GLP-2R disminuye cuando se eleva la concentración de GLP-2 en plasma. Por lo tanto, la ausencia de diferencias en la concentración de GLP-2 en plasma, concuerda con una expresión similar de GLP-2R para ambos tratamientos. En conclusión, el GCG y el GLP-2R se expresan en el intestino de lechones de 35 d de edad, y pueden actuar como dianas para mejorar los trastornos asociados al destete temprano. Sin embargo, la inclusión de 60 mg de CDC por kg de PV en el pienso de lechones destetados a los 20 d de edad, no fue suficiente para inducir diferencias en la expresión de dichos genes ni en la concentración plasmática de GLP-2.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burrin, D.G., Stoll, B., Jiang, R., Chang, X., Hartmann, B., Holst, J.J., Greeley, G.H., Reeds, P.J., 2000. *Am J Clin Nutr.* 71, 1603-1610.
- Burrin, D.G., Stoll, B., Guan, X., 2003. *Domest Anim Endocrinol.* 24, 103-122.
- Cottrell, J.J., Stoll, B., Buddington, R.K., Stephens, J.E., Cui, L., Chang, X., Burrin, D.G., 2006. *Am J Physiol-Gastr. L* 290, G293-G300.
- Estall, J.L., Drucker, D.J., 2006. *Annu Rev Nutr.* 26, 391-411.
- Gerbens, F., Verburg, F.J., Van Moerkerk, H.T., Engel, B., Buist, W., Veerkamp, J.H., te Pas, M.F., 2001. *J Anim Sci.* 79, 347-354.
- Guan, X., Karpen, H.E., Stephens, J., Bukowski, J.T., Niu, S., Zhang, G., Stoll, B., Finegold, M.J., Holst, J.J., Hadsell, D., Nichols, B.L., Burrin, D.G., 2006. *Gastroenterology.* 130, 150-164.
- Ipharraguerre, I.R., Burrin, D.G., Tedo, G., Menoyo, D., Holst, J.J., Mereu A. 2012. XII International Symposium on Digestive Physiology of Pigs. Keystone, Colorado, USA. Pp. 106.
- Katsuma, S., Hirasawa, A., Tsujimoto, G., 2005. *Biochem Biophys Res Commun.* 329, 386-390.
- Lallès, J.-P., Boudry, G., Favier, C., Floc'h, N.L., Luron, I., Montagne, L., Oswald, I.P., Pié, S., Piel, C., Sève, B., 2004. *Anim. Res.* 53, 301-316.
- Nygard, A.-B., Jorgensen, C., Cirera, S., Fredholm, M., 2007. *BMC Mol Biol.* 8, 67.
- Petersen, Y.M., Hartmann, B., Holst, J.J., Le Huerou-Luron, I., Bjornvad, C.R., Sangild, P.T., 2003. *J. Nutr.* 133, 1781-1786.
- Pfaffl, M.W., Tichopad, A., Prgomet, C., Neuvians, T.P., 2004. *Biotechnol Lett.* 26, 509-515.
- Pluske, J.R., Hampson, D.J., Williams, I.H., 1997. *Livest Prod Sci.* 51, 215-236.
- SAS Institute. 2002. Version 9.0, SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Steibel, J.P., Poletto, R., Coussens, P.M., Rosa, G.J., 2009. *Genomics* 94, 146-152.
- Vallim, T.Q.d.A., Edwards, P.A., 2009. *Cell Metab.* 10, 162-164.
- Xiao, Q.A., Boushey, R.P., Drucker, D.J., Brubaker, P.L., 1999. *Gastroenterology.* 117, 99-105.
- Yuan, J.S., Reed, A., Chen, F., Stewart, C.N., Jr., 2006. *BMC bioinformatics* 7, 85.



**Figura 1.** Diferencias en la expresión de GCG y GLP-2R ( $2^{\Delta\Delta Ct}$ ). **A.** Cuando se compara el tramo distal frente al proximal, en lechones de 35 d alimentados con la dieta control. **B.** Cuando se comparan lechones alimentados con la dieta con CDC frente a la dieta control en el tramo proximal y en el distal. \*  $P < 0,05$ . ( $n = 6$ )



**Figura 2.** Diferencias en la concentración de GLP-2 en plasma a los 20, 27 y 34 d de edad, al comparar los lechones alimentados con la dieta con CDC frente a los de la dieta control. ( $n = 6$ ;  $EEM = 0,05627$  datos transformados)

### ENDOGENOUS RELEASE OF GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-2 AS A TARGET TO PREVENT EARLY WEANING DISORDERS IN PIGLETS

**ABSTRACT:** The glucagon-like peptide-2 (GLP-2) is a gut hormone released by intestinal L-cells in response to different stimuli, including the hormonal signaling of bile acids, such as chenodeoxycholic acid (CDC). This pleiotropic hormone may be implicated in post-weaning disorders induced by early weaning. The aims of this study were to confirm the expression of proglucagon (GLP-2 precursor) and GLP-2 receptor (GLP-2R) in the small intestine, and to study the influence of the inclusion of CDC in the diet of piglets. A total of 12 piglets were weaned at 20 d of age, and randomly assigned to a commercial feed alone or with 60 mg of CDC per kg of BW. At 35 d of age pigs were slaughtered and mucosal scrapings were taken from small intestine. Relative gene expression levels were determined by Real Time PCR. Plasma GLP-2 concentrations at 20, 27 and 34 d of age were measured by radioimmunoassay. Proglucagon level expression was significantly higher ( $P < 0.05$ ) in the distal region of the small intestine. No significant differences were found when comparing gene expression transcripts or plasma GLP-2 concentration between treatments. In conclusion, proglucagon and glucagon-like peptide-2 receptor genes are expressed in the gut of piglets aging 35 d, and may act as targets to improve early weaning associated disorders. However, CDC did not influence the expression of these genes nor the plasma concentration of GLP-2 between 20 and 34 d of age.

**Keywords:** chenodeoxycholic acid, glucagon-like peptide-2, weaning, piglet.



## ¿TIENEN LOS LECHONES ALIMENTADOS CON UNA RACIÓN BAJA EN PROTEÍNA HABILIDAD PARA SELECCIONAR Y PREFERIR FUENTES PROTEICAS?

Guzmán-Pino, S. A., Solà-Oriol, D., Figueroa, J. y Pérez, J. F.

Grup de Nutrició, Maneig i Benestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193. sergioguzmanp@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

En condiciones naturales, el cerdo selecciona su consumo dentro de una amplia gama de alimentos y se asume que la elección es acertada en relación a sus necesidades nutritivas (Forbes, 1998). En este proceso voluntario cobra un papel relevante la gran capacidad orosensorial que poseen los cerdos, particularmente el gusto y olfato (Roura y Tedó, 2009). Sin embargo, en la industria porcina intensiva, los cerdos son generalmente alimentados con una dieta única que intenta cubrir *a priori* las necesidades nutritivas del animal para así alcanzar el máximo potencial de crecimiento. Son décadas, en las que el cerdo comercial no ha tenido oportunidad de manifestar su capacidad selectiva en ninguna de las etapas productivas; ni tampoco oportunidad de establecer transferencias de "hábitos" alimentarios entre animales (por ejemplo en el contacto entre cerdas y lechones). A pesar de este hecho, en el presente trabajo planteamos la hipótesis que el cerdo comercial actual conserva todavía esta capacidad. El objetivo principal del presente estudio fue evaluar si lechones destetados, alimentados con una dieta deficiente en proteína, eran capaces de escoger fuentes proteicas para contrarrestar su estado deficiente, ya sea de forma innata (Experimento 1) o a través de un aprendizaje asociativo (Experimento 2).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 480 lechones (Pietrain×[Landrace×Large White]), 240 en cada experimento. Los lechones fueron destetados a los 28 días de vida y distribuidos de acuerdo a su peso al destete en una sala de transición con 24 corrales (10 lechones por corral). Los tratamientos experimentales, correspondientes a una dieta alta (AP, 204 g PB/kg) o baja en proteína (BP, 142 g PB/kg), pero con niveles similares de lisina, 4,1 g Lys/Mcal ED (NRC, 1998) fueron distribuidos aleatoriamente entre los distintos corrales. El consumo de las dietas y el peso de los animales fueron registrados el día 8 y 18 post-destete.

En el Experimento 1, a partir del día 8 post-destete se evaluó la preferencia innata de los lechones por soluciones proteicas (péptidos digestibles de porcino 40 g/l, PDP, Palbio 62SP<sup>®</sup>, Bioibérica, Palafolls) o carbohidratos (sacarosa 40 g/l). En detalle, el procedimiento consistió en ofrecer al mismo tiempo 2 recipientes con 800 ml de cada solución por corral por un período de 3 minutos. En el Experimento 2, en cambio, se realizó un protocolo de condicionamiento previo entre los días 11 a 18 post-destete en el cual 2 aromas igualmente preferidos (EC, estímulo condicionado) fueron condicionados a una solución (EI, estímulo incondicionado) proteica (plasma animal 60 g/l, PA, AP820<sup>®</sup>, APC) o de carbohidratos (maltodextrina 60 g/l, MTD, Cargill<sup>®</sup>, Martorell). Después del condicionamiento, se evaluó la preferencia de 4 animales por corral por ambos aromas disueltos en agua siguiendo el mismo procedimiento descrito en el Experimento 1.

Los datos de consumo de las distintas soluciones medidos durante los test se analizaron mediante ANOVA usando el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS<sup>®</sup> (Cary, USA) y considerando los dos datos registrados en cada corral de 10 o grupo de 4 animales (unidades experimentales) como medidas repetidas. Se comparó la preferencia por soluciones de proteína o carbohidratos (Experimento 1), o por los EC asociados a la proteína o carbohidratos (Experimento 2) con el valor neutro de preferencia (50%) por medio de un *t*-test. Finalmente, los datos productivos de los lechones se analizaron mediante ANOVA con el procedimiento GLM de SAS<sup>®</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ambos experimentos, los lechones alimentados con la dieta baja en proteína mostraron un consumo de alimento y un peso a día 18 post-destete menor ( $P<0,001$ , Tabla 1) que aquellos alimentados con la dieta alta en proteína. El índice de conversión fue también menos eficiente ( $P<0,001$ ) en ambos experimentos para el grupo de animales que consumió la dieta BP. Los resultados productivos fueron los esperados, ofreciendo la oportunidad que se buscaba para evaluar la capacidad innata o de aprendizaje de los lechones para corregir estados de deficiencia proteica.

En el Experimento 1, cuando a los lechones alimentados con la dieta AP o BP se les ofreció la oportunidad de escoger entre soluciones con PDP 40 g/l o sacarosa 40 g/l, mostraron un mayor consumo de la solución con azúcar, independientemente del contenido de PB de la dieta ( $P<0,001$ , Figura 1A). La preferencia observada por la solución proteica, 27% en los lechones con dieta AP y 30% en los lechones dieta BP, fue en ambos grupos menor que el valor neutro de 50% ( $P<0,001$ ). Estos resultados confirman la elevada preferencia que muchos mamíferos (y particularmente el cerdo) presentan por el sabor dulce; más allá incluso de la necesidad que los lechones BP tenían por corregir un estado deficiente en proteína. La elevada preferencia mostrada en el test de corta duración sugiere que los cerdos presentan una preferencia innata por este sabor, posiblemente al asociarlo evolutivamente con fuentes de energía (Glaser et al., 2000). Los animales no presentaron capacidad innata por corregir una situación deficitaria en la provisión de proteína en la dieta.

En el Experimento 2, los lechones alimentados con la dieta AP mostraron una tendencia a un mayor consumo de aquellos aromas (estímulos condicionados) disueltos en agua que fueron asociados a la solución de maltodextrina 60 g/l durante el condicionamiento ( $P=0,10$ , Figura 1B). La preferencia de 44% observada por aromas asociados a la solución proteica (plasma animal 60 g/l) mostró una tendencia a ser menor que el valor neutro ( $P=0,06$ ). En cambio, los lechones alimentados con la dieta BP presentaron un consumo mayor de aquellos aromas que fueron asociados previamente a la solución proteica en comparación a los aromas condicionados con la solución de carbohidratos ( $P<0,01$ ). La preferencia de 61% por los EC asociados a la proteína en los lechones BP presentó una tendencia a ser mayor que el valor neutro de preferencia ( $P=0,07$ ).

Los resultados demuestran que los lechones pueden modificar su patrón de preferencias a su estado nutricional si previamente han tenido la oportunidad de asociar una determinada problemática a las consecuencias post-ingestivas del consumo de una u otra opción. Los animales pueden asociar las características oro-sensoriales de los alimentos con las consecuencias post-ingestivas y usar estas asociaciones para guiar e incluso cambiar elecciones dietarias (Forbes, 1998). En este sentido, está descrito que el aprendizaje juega un papel determinante en el esquema de selección dietaria (Kyriazakis et al., 1999). En conclusión, la preferencia por los aromas condicionados a fuentes proteicas se mostró efectiva para el desarrollo de un patrón de conducta alimentario diferenciado por parte de los lechones deficientes, que junto con el hedonismo por el sabor dulce, pueden ser las claves que explican los distintos resultados obtenidos en este trabajo.

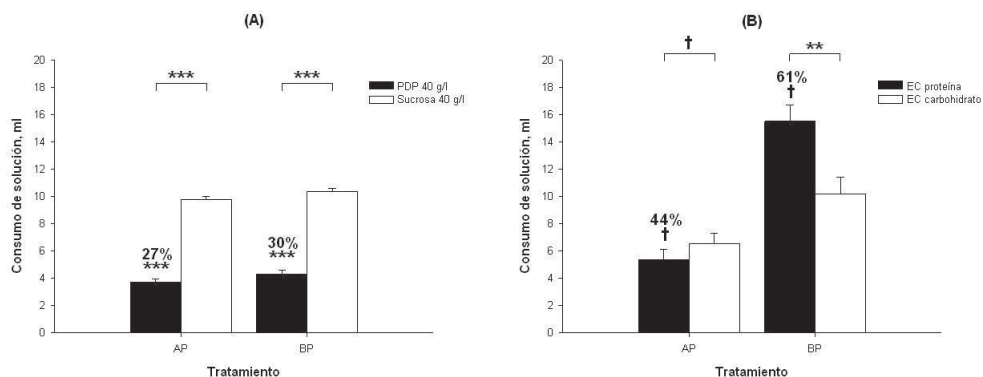
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Forbes, J. M. 1998. Appl. Anim. Behav. Sci. 57: 287-297.
- Glaser, D., Wanner, M., Tinti, J. M. & Nofre, C. 2000. Food Chem. 68: 375-385.
- Kyriazakis, I., Tolkamp, B. J. & Emmans, G. C. 1999. Proc. Nutr. Soc. 58: 765-772.
- Roura, E. & Tedó, G. 2009. Voluntary Feed Intake in Pigs. 103-138.

**Tabla 1.** Rendimiento productivo (PV, CMD, GMD e IC) de los lechones alimentados con una dieta alta (AP) o baja en proteína (BP) en los Experimentos 1 y 2.

	Experimento 1				Experimento 2			
	AP	BP	EEM <sup>1</sup>	P-valor	AP	BP	EEM <sup>1</sup>	P-valor
PV destete, kg	7,17	7,19	0,01	0,30	7,18	7,18	0,01	0,61
CMD, g	335 <sup>a</sup>	214 <sup>b</sup>	6,15	<0,001	326 <sup>a</sup>	221 <sup>b</sup>	9,79	<0,001
GMD, g	236 <sup>a</sup>	109 <sup>b</sup>	5,45	<0,001	278 <sup>a</sup>	122 <sup>b</sup>	6,30	<0,001
IC	1,44 <sup>a</sup>	1,97 <sup>b</sup>	0,05	<0,001	1,18 <sup>a</sup>	1,81 <sup>b</sup>	0,03	<0,001
PV día 18, kg	11,42 <sup>a</sup>	9,16 <sup>b</sup>	0,10	<0,001	12,46 <sup>a</sup>	9,50 <sup>b</sup>	0,12	<0,001

<sup>1</sup>EEM=Error estándar de la media



**Figura 1.** Efecto de una dieta alta (AP) o baja en proteína (BP) sobre el consumo y preferencia de los lechones por una solución de proteína (PDP) o sacarosa en Experimento 1, (A), o por aromas (EC) condicionados a proteína (plasma animal) o carbohidratos (maltodextrina) en Experimento 2, (B). Los corchetes indican un consumo de las soluciones diferente; los números, los valores de preferencia por dicha solución (†= $P<0,1$ , \*\*= $P<0,01$ , \*\*\*= $P<0,001$ ).

## HAVE THE PIGLETS FED WITH A LOW PROTEIN DIET THE ABILITY TO SELECT AND PREFER PROTEIN SOURCES?

**ABSTRACT:** The aim of the present work was to study whether weaned piglets with protein deficiency were able to select and prefer protein-related sources to overcome the deficiency. A total of 480 piglets were used in two experiments in which were fed with a high protein (HP, 204 g CP/kg) or low protein diet (LP, 142 g CP/kg) designed to contain an optimal or deficient CP content. In Experiment 1, the innate ability of piglets to prefer a protein (porcine digestible peptides 40 g/l) over a carbohydrate (sucrose 40g/l) solution was assessed by using a 3 min choice test. In Experiment 2, two flavors were conditioned with protein (animal plasma 60 g/l) or carbohydrate (maltodextrin 60 g/l) solutions in order to evaluate the learning effect on diet selection. Piglets preferred ( $P<0.001$ ) sucrose over protein solution independently of the dietary CP content in Exp 1. However, piglets fed the LP diet showed a higher ( $P<0.01$ ) intake of flavors conditioned with the protein solution than the carbohydrate solution (Exp 2). The results reveal the importance of the associative learning between the orosensorial properties and post-ingestive consequences of feedstuffs on feed selection patterns in pigs.

**Keywords:** protein, protein deficiency, pig, preference

## INCLUSIÓN DE UN PREBIÓTICO (*Saccharomyces cerevisiae*) Y UN PROBIÓTICO (*Pediococcus acidilactici*) EN DIETAS PARA LECHONES DESTETADOS PRECOZMENTE. EFECTO ZOOTÉCNICO

De Mercado<sup>1</sup>, E., Tomás<sup>2</sup>, C., Gómez-Izquierdo<sup>1</sup>, E., Gómez-Fernández<sup>1\*</sup>, J.

<sup>1</sup> Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL. Ctra. Riaza-Toro s/n, 40353 Hontalbilla (Segovia). <sup>2</sup> Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA-IVIA), Segorbe (Castellón).  
Correo electrónico: \*gomferjs@itacyl.es

### INTRODUCCIÓN

La ganadería industrial e intensiva impone un protocolo de destete precoz y brusco que causa profundos cambios en la fisiología gastrointestinal, en el rendimiento y bienestar de los animales. Pluske (2013) y Heo et al. (2012) han propuesto alternativas para “compatibilizar” la economía productiva con las limitaciones legales en producción ganadera, proponiendo el re-equilibrio entre las distintas poblaciones de la microbiota, de tal forma que se recupere la función digestiva y, con ella, se optimice el rendimiento productivo de los animales. En este trabajo hemos ensayado un probiótico a base de *Pediococcus acidilactici* y un prebiótico mananoligosacárido derivado de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*, en las fases prestárter (Pst) y estárter (St) de un cruce comercial de cerdo blanco.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 225 lechones (mitad de cada sexo; machos castrados) procedentes de un cruce LW-Pietrain x LD-LW, con  $8,20 \pm 1,60$  kg ( $28 \pm 2$  días de edad). El ensayo se realizó en la nave de transición del Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL, empleando dos salas con 8 departamentos, cada uno para 15 animales (0,25 m<sup>2</sup>/lechón), chupete y tolva de 6 bocas. Una vez identificados, se distribuyeron por sexo (50% en cada departamento) y peso entre los 3 tratamientos: A) control; B) *Pediococcus acidilactici* al 0,1%, con  $1 \cdot 10^9$  UFC/g de producto, y C) derivado de *Saccharomyces cerevisiae* al 0,1%, con 4% grasa, 31% proteína, y 9,40% de fibra ácido detergente. El diseño experimental fue en bloques completos al azar, con 15 réplicas totales, 5 por tratamiento y 15 lechones por réplica. Se controló el consumo medio diario (CMD), la ganancia media diaria (GMD) y el índice de conversión (IC), a los 28, 39 y 60 días de edad. Se monitorizaron en todo momento la humedad relativa, ventilación y temperatura, así como el estado sanitario. El pienso fue el mismo para todos los tratamientos, según la fase (Pst y St), añadiendo el probiótico en el tratamiento B y el prebiótico en el C (tabla 1). Se suministraron *ad libitum*, en gránulo de 2,5 mm, sin ZnO, y medicado sólo el Pst con colistina sulfato (120 ppm) y penicilina (450 ppm).

Los datos se analizaron mediante los procedimientos GLM y REG del SAS® 9.1 (2004), siendo el tratamiento el efecto principal. La covariable (peso inicial: P0) y la sala (efecto bloque) se retiraron del modelo al no ser significativos ( $P > 0,05$ ). Se realizó un análisis de varianza con el siguiente modelo:  $Y_{ij} = \mu + \text{tratamiento}_i + \varepsilon_{ij}$ , donde: Y: variable productiva (CMD, GMD, IC),  $\mu$ : media general y  $\varepsilon$ : error residual. También se obtuvieron contrastes ortogonales: A vs B, C; B vs C, y se compararon las medias individuales con un t-test, ajustándose por mínimos cuadrados.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos. Durante la fase Pst (28 a 39 días de edad), no hubo diferencias entre las variables productivas de los tres tratamientos ( $P < 0,05$ ). Es probable que los antibióticos añadidos al pienso durante esta fase y las óptimas condiciones de manejo y sanidad de un centro experimental, más favorables que en una granja comercial (Halas y Nocht, 2012), hayan enmascarado el efecto y/o vuelto innecesario el añadido del probiótico y prebiótico (Tester y Al-Ghazzewi, 2013).

En la fase de St (39 a 60 días de edad), sin medicación antibiótica alguna en pienso, sí que encontramos diferencias significativas. Con un mismo CMD ( $P > 0,05$ ), la GMD es mayor en el pienso C que en A y B ( $P < 0,05$ ), con un peso, igualmente, más elevado ( $P < 0,05$ ). Por el contrario, el IC es más favorable en los dos piensos con aditivos, B y C, que en el control A ( $P < 0,05$ ).

Globalmente (28-60 días de edad), los resultados de la fase Pst no compensan las diferencias obtenidas en la fase St, con mejor IC en los tratamientos B y C que en el pienso

A ( $P < 0,05$ ), el mismo CMD, y una GMD y peso final (P2) más elevados en el pienso C ( $P < 0,05$ ).

En conjunto -contrastes ortogonales-, los piensos con aditivos B y C mejoran significativamente el IC en la fase St y en el periodo global, en relación con el pienso control A ( $P < 0,05$ ).

Las revisiones consultadas sobre la inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* (SC) en piensos a dosis entre el 0,1% y el 0,4% ofrecen buenos resultados (Miguel et al., 2004), aunque no constantes (Kocher y Scheidemann, 2005). Así, por ejemplo, Corassa et al. (2012) encontraron mejoras ( $P < 0,05$ ) del IC del 22% durante la fase Pst, pero no en el St, con dietas al 0,4% de SC. Castillo (2006), con dietas suplementadas al 0,2%, obtuvo reducciones ( $P < 0,05$ ) del IC durante la fase de St y en el periodo global de la transición. Por su parte, Zhao et al. (2012) encontraron incrementos de un 23% en consumo, un 33% en ganancia y mejoras de un 8% de la conversión ( $P < 0,05$ ), aunque sólo en Pst, con SC al 0,1%, sin efecto positivo alguno ( $P > 0,05$ ) en la fase de St.

*Pediococcus acidilactici* (PA) es un probiótico reconocido (Gaggia et al., 2010), con pocas referencias de su uso en solitario para mejorar rendimientos, ya que es utilizado preferentemente en la industria alimentaria por la especificidad de algunas cepas contra *Listeria* spp. y otras (Díez et al., 2011; Ross et al., 2010), aunque también se ha investigado su uso como inóculo en dietas líquidas, fermentadas, para lechones (Geary, 1999; Wang, 2012). Algunos trabajos han avanzado en sus beneficios (Giancamillo et al., 2010) para el tracto gastrointestinal, a pesar de la pobre colonización del mismo observada por otros (Wang, 2012). Lessard et al. (2009) a nuestras mismas dosis, no encontraron efecto en la GMD hasta 42 días post-destete, mientras que Giancamillo et al. (2008), con dosis dobles y alimentación líquida, comprobaron mejoras ( $P < 0,05$ ) en GMD de lechones de 15 a 42 días post-destete. Por ello, coincidimos con Ohh (2011) y Pieper et al. (2010) en que se debe seguir investigando las pautas de utilización de probióticos y prebióticos, con el fin de que se optimice su empleo en condiciones comerciales de producción.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Castillo, M. 2006. Ph.D. Thesis. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Corassa, A., Lopes, D. & Bellaver, C. 2012. Arch. Zootec. 6(235): 467-476.
- Díez, L., Rojo-Bezares, B., Zarazaga, M., Rodríguez, J.M., Torres, C. & Ruiz-Larrea, F. 2011. Food Micro. 31(3): 167-172.
- Gaggia, F., Mattarelli, P. & Biavati, B. 2010. Int. J. of Food Micro. 141(1): S15-S28.
- Geary, T., Brooks, P., Beal, J. & Campbell, A. 1999. J. Sci. Food Agric. 79: 633-640.
- Giancamillo, A., Vitari, F., Bosi, G., Savoini, G. & Domeneghini, C. 2010. Neurogastroenterol. Motil. 22(9): e271-8.
- Giancamillo, A., Vitari, F., Savoini, G., Bontempo, V., Bersani, C., Dell'Orto, V. & Domeneghini, C. 2008. Histol. Histopathol. 23(6): 651-664.
- Halas V. & Nochtá, I. 2012. Animals. 2: 261-274.
- Heo, J., Opapeju, F., Pluske, J., Kim, J., Hampson, D. & Nyachoti, C. 2012. J. Anim. Physiol. & Anim. Nutr. • Kocker, A. & Scheidemann, C. 2005. Tagungsband 4 BOKU-Symp. • Lessard, M., Dupuis, M., Gagnon, N., Nadeau, É., Matte, J., Goulet, J. & Fairbrother, J. 2009. J. Anim. Sci. 87: 922-934.
- Miguel, J., Rodríguez-Zas, S. & Pettigrew, J. 2004. J. Swine Health Prod. 12: 296-307.
- Ohh, S.P. 2011. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 24(4): 573-586.
- Pieper, R., Janczyk, P., Urubschurov, V., Hou, Z., Korn, U., Pieper, B. & Souffrant, W. 2010. Liv. Sci. 133: 98-100.
- Pluske, J. 2013. J. Anim. Sci. & Biotechnol. 4(1): 1.
- Ross, R., Mills, S., Hill, C., Fitzgerald, G., Stanton, C. 2010. International Dairy J. 20: 269-276.
- SAS Institute, 2004.
- Tester, R. & Al-Ghazzewi, F.H. 2013. Food Res. International. 50(1): 384-391.
- Wang, J., Yin, F., Zhu, C., Yu, H., Niven, S., de Lange, C. & Gong, J. 2012. Liv. Sci. 145(1-3): 79-86.
- Zhao, P., Jung, J. & Kim, I. 2012. J. Anim. Sci., 90(3): 833-839.

#### INCLUSION OF A PREBIOTIC (*Saccharomyces cerevisiae*) AND PROBIOTIC (*Pediococcus acidilactici*) IN EARLY WEANED PIGLET DIETS. ZOOTECHNICAL PERFORMANCE.

**ABSTRACT:** A total of two hundred twenty-five crossbred piglets LW-Pietrain x LD-LW (barrows and gilts) with an initial BW of  $8.20 \pm 1.60$  kg ( $28 \pm 2$  days of age), were used to investigate the effect of two additives on the productive performance. There were three dietary treatments with the same energetic and protein levels, in a complete randomized

block design (two blocks of 8 and 7 pens, 15 piglets/pen): A, control; B, control with 0.1% probiotic *Pediococcus acidilactici* ( $10^9$  CFU/kg feed); C, control with a derived of prebiotic *Saccharomyces cerevisiae* (0.1% in feedstuff).

No differences were observed by inclusion probiotic (B) or prebiotic (C) in the first test period (28-39 days of age). However, in the second phase (39 to 60 days of age), the addition of prebiotic and probiotic significantly improved ADG (354 vs 298, 297 g/d. C, B, A, respectively;  $P < 0.05$ ) and FC (1.96 vs 2.09 vs 2.23 g/d C, B, A, respectively;  $P < 0.05$ ), with the same ADFI ( $P > 0.05$ ). In overall experimental period (28-60 days of age) use of prebiotics improved ADG (353 vs 319, 310 g/d C, B, A;  $P < 0.05$ ), and the use of both additives significantly improved FC ( $P < 0.05$ ).

We conclude that it should further investigate the patterns of use of probiotics and prebiotics to optimize their use in commercial production conditions.

**Key Words:** piglet, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pediococcus acidilactici*.

**Tabla 1:** Análisis químico de los piensos.

Nutrientes %	Pst (A, B, C) <sup>1</sup>	St (A, B, C) <sup>2</sup>
Proteína bruta	18,91	18,69
Grasa bruta	6,49	6,31
Fibra bruta	2,53	3,26
Almidón	42,85	43,10
Cenizas	5,18	5,09
Calcio	0,79	0,78
Fósforo total	0,60	0,59
Lisina	1,54	1,41
EN	2,450 Mcal/kg	2,450 Mcal/kg
Sulfato cúprico (pentah)	155 mg/kg	150 mg/kg
Vitamina A	10.000 UI/kg	10.000 UI/kg
Vitamina D <sub>3</sub>	2.000 UI/kg	2.000 UI/kg
Vitamina E (α-tocoferol)	150 mg/kg	100 mg/kg

<sup>1,2</sup> Probiótico y Prebiótico añadidos exclusivamente a los piensos B y C, respectivamente.

**Tabla 2:** Efecto de los diferentes piensos experimentales sobre los parámetros productivos en las fases analizadas.

Variables <sup>1</sup>	Tratamientos					Contrastes	
	A	B	C	EEM <sup>2</sup>	P-valor <sup>3</sup>	AvsBC	BvsC
P0	8,24	8,20	8,20	0,025	ns	ns	ns
P1	11,92	12,16	12,06	0,119	ns	ns	ns
CMD01	0,352	0,375	0,366	0,010	ns	ns	ns
GMD01	0,334	0,360	0,351	0,011	ns	ns	ns
IC01	1,05	1,04	1,05	0,023	ns	ns	ns
P2	18,16 <sup>b</sup>	18,41 <sup>b</sup>	19,50 <sup>a</sup>	0,348	*	ns	*
CMD12	0,659	0,625	0,693	0,022	ns	ns	*
GMD12	0,297 <sup>b</sup>	0,298 <sup>b</sup>	0,354 <sup>a</sup>	0,013	*	ns	*
IC12	2,23 <sup>a</sup>	2,09 <sup>b</sup>	1,96 <sup>c</sup>	0,041	**	**	*
CMD02	0,557	0,541	0,584	0,017	ns	ns	ns
GMD02	0,310 <sup>b</sup>	0,319 <sup>b</sup>	0,353 <sup>a</sup>	0,011	*	ns	*
IC02	1,80 <sup>a</sup>	1,69 <sup>b</sup>	1,65 <sup>b</sup>	0,023	**	***	ns

<sup>1</sup> Variables: P: peso. 0: 28 días de edad; 1: 39 días de edad; 2: 60 días de edad. <sup>2</sup> Error Estándar de la Media. 01: fase de Pst; 12: fase de St; 02: fase global de transición. <sup>3</sup> P-valor: significación; ns: ( $P < 0,05$ ); \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ . Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

## EVOLUCIÓN DEL CRECIMIENTO, CALIDAD DE LA CANAL Y DE PIEZAS NOBLES EN CERDOS GRASOS ALIMENTADOS CON GUISANTE (*Pisum sativum*) Y ALBERJÓN (*Vicia narbonensis*) COMO FUENTE PROTEICA.

De Mercado<sup>1</sup>, E., Gómez-Fernández<sup>1</sup>, J., Muzquiz<sup>2</sup>, M., Guillamón<sup>2</sup>, E., Varela<sup>2</sup>, A., Tomás<sup>3</sup>, C., López-Nuez<sup>4</sup>, P., Gómez-Izquierdo<sup>1\*</sup>, E.

<sup>1</sup> Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL. Ctra. Riaza-Toro s/n, 40353 Hontalbilla (Segovia). <sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigación Agraria y Agroalimentaria (INIA), Madrid-Soria. <sup>3</sup> Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA-IVIA), Segorbe (Castellón). <sup>4</sup> Copiso Soria Sociedad Cooperativa, Soria. Correo electrónico: \*gomizqem@itacyl.es

### INTRODUCCIÓN

El principal inconveniente de las leguminosas grano para su aplicación en nutrición de ganado porcino es la presencia de factores antinutritivos (FAN). Los FAN actúan de diferentes maneras; en general, alterando la absorción de nutrientes, principalmente las proteínas, y disminuyendo el consumo al transmitir sabores desagradables al pienso (Gilani et al., 2005). La industria de la alimentación animal utiliza distintos métodos para eliminar o disminuir el efecto de los FAN: molienda, calor, presión, micronizado, solos o combinados, que suponen el encarecimiento de los piensos (Brenes y Brenes, 1993; Stein y Bholke, 2007). El contenido en inhibidores de proteasas (IP) limita el porcentaje de inclusión de guisantes sin tratar en los piensos, siendo preciso adaptar la variedad (cantidad de IP) a la fase productiva de los cerdos, con resultados muy interesantes (Stein et al., 2006). Los alberjones, tienen una cantidad de proteína más elevada que los guisantes, con un aminograma más adecuado para ganado porcino (Hadjipanayiotou y Economides, 2001), sin embargo, la ausencia de resultados experimentales y la presencia, además de IP, de otro FAN: el  $\gamma$ -glutamyl-S-ethenyl cisteine (GEC), que a niveles elevados disminuye la palatabilidad del pienso, les hace menos interesantes para monogástricos (Enneking, 1995). El objetivo del presente ensayo fue reemplazar soja por guisante variedad cartouche, solo o con un 10% de alberjón y sin tratamientos previos, en piensos de la fase de cebo de cerdos grasos, comparando el crecimiento y los rendimientos de canal y piezas nobles.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 192 lechones (50% de cada sexo; machos castrados), con un peso inicial de  $30,78 \pm 4,06$  kg, (73  $\pm$  2 días de edad) y genética PIC-L65 x (Large White x Landrace). Los animales se agruparon en función del peso inicial y el sexo: machos castrados (MC) y hembras (H), en cuatro salas, con 12 departamentos de 5,49 m<sup>2</sup> cada uno (réplica con 4 cerdos; 1,35 m<sup>2</sup>/cerdo; en los datos de matadero la réplica fue el animal: n=165), tolva tipo holandés y bebedero de chupete. El diseño fue al azar con 6 tratamientos (factorial 3 x 2), con 3 piensos (16 réplicas de cada uno; 24 por sexo), isoenergéticos (2500 kcal EN/kg), que diferían en las fuentes proteicas (Tabla 1): A, control; B, 10% de alberjón ZV220 y guisante cartouche; C, guisante cartouche. El pienso se suministró *ad libitum* y en gránulo de 2,5 mm. Se controló el peso (P) a los 73, 87, 95, 107, 128, 148, 162 y 170 días de edad en cada réplica. Cuando alcanzaron  $122 \pm 18,80$  kg PV medio, y con un ayuno previo de 12 horas se sacrificaron, siendo aturdidos en túnel de CO<sub>2</sub> (85% durante 45"), sangrados y faenados posteriormente. La canal se pesó en frío y el despique se realizó en caliente. La actividad de inhibidores de tripsina (Tabla 2) se valoró con el método de Muzquiz et al. (2004), usando BAPNA (N $\alpha$ -benzoil-DL-arginina-P-nitroanilida) como sustrato. En el caso de los inhibidores de quimotripsina, se empleó el método de Sathe y Salunkle (1981) usando BTEE (N-Benzoyl-Tyrosine-Ethyl Esther) como sustrato. El GEC se valoró exclusivamente en alberjones, con la técnica de Sánchez-Vioque et al. (2011).

Los datos se analizaron mediante los procedimientos GLM y REG del SAS® 9.1 (2004), siendo el pienso y el sexo los efectos principales y el peso inicial la covariable. Se realizó un análisis de covarianza con el siguiente modelo:  $Y_{ijk} = \mu + Pienso_i + Sexo_j + \alpha P_0 + \varepsilon_{ijk}$ , donde: Y: variable productiva (pesos, datos de canal y de piezas nobles, espesor tocino dorsal, % de magro),  $\mu$ : media general,  $\alpha$ : coeficiente de regresión parcial entre P<sub>0</sub> e Y, P<sub>0</sub>: peso inicial covariable y  $\varepsilon$ : error residual. Las medias se compararon con un t-test, ajustándose por mínimos cuadrados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inclusión del 10% de alberjón (B) empeoró el peso desde el primer control (P2; Tabla 2), aumentando la diferencia hasta el peso final en relación con los tratamientos A y C ( $P < 0,05$ ). No hay demasiada información sobre utilización de alberjones en nutrición de monogástricos, limitando su porcentaje en piensos el contenido de GEC, factor que disminuye el consumo al hacer menos palatable el pienso y, en consecuencia, el crecimiento (Enneking, 1995; Wali et al., 2005). El tratamiento C (guisante cartouche) igualó el crecimiento de A al final de la fase de cebo (peso 5), permaneciendo sin variación hasta el momento del sacrificio ( $P > 0,05$ ). Del mismo modo, los pesos y rendimientos de canal y piezas nobles no difirieron entre A y C, siendo inferiores en B ( $P < 0,05$ ). El contenido magro de la canal fue igual en los tres tratamientos ( $P > 0,05$ ), y el espesor de tocino dorsal menor en B ( $P < 0,05$ ). El contenido en IP de los guisantes es muy variable (Grosjean et al., 2001), y es preciso conocer la cantidad en la variedad utilizada y adaptarla a la edad de los cerdos. El efecto del sexo se manifiesta con pesos significativamente inferiores a partir del peso 5 en las hembras ( $P < 0,05$ ), pero con mejores rendimientos de canal y de piezas nobles, exceptuando la paleta, y menor engrasamiento en relación con los machos ( $P < 0,05$ ), resultados en consonancia con trabajos previos (Latorre, 2003). Concluimos que niveles del 10% de alberjón ZV220, limitan el crecimiento de los animales; por el contrario, guisante variedad cartouche con un contenido en IP  $\leq 10$  TIU-CIU suple a la soja a partir de los 30 kg de PV sin mermas en el rendimiento productivo, de canal y piezas nobles.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brenes, A. & Brenes, J. 1993. IX Curso de especialización FEDNA. • Enneking, D. 1995. PhD thesis, University of Adelaide. • Gilani, G. S., Cockell, K. A. & Seperh, E. 2005. JAOAC, 88(3): 967-987. • Hadjipanayiotou, M., Economides, S. 2001. Liv. Res. Rural Dev. 13 (6). • Grosjean, F., Jondreville, C., Wiliatte-Hazard, I., Skiba, F., Carruée, B. & Gâtel, F. Can. J. Anim. Sci., 80, 643-652. • Latorre, M. A. 2003. Tesis Doctoral UPM. • Muzquiz, M., Welham, T., Altares, P., Goyoaga, C., Cuadrado, C., Romero, R., Guillamón, E. & Domoney, C. 2004. J. Sci. Food Agric. 84: 556-560. • Sánchez-Vioque, R., Girón, J., Rodríguez, M.F., Vioque, J., De los Mozos, M., Santana, O., Izquierdo, M. E. & Alaiz, M., 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 165: 125-130. • SAS Institute, 2004. • Sathe, S. K. & Salunkhe, D. K. 1981. J. Food Sci. 46: 626-629. • Stein, H. H. & Bohlke, R.A. 2007. J. Anim. Sci. 85(6): 1424-1431. • Stein, H. H., Everts, A. K. R., Sweeter, K. K, Peters, D.N., Maddock, R. J., Wulf, D. M. & Pedersen, C. 2006. J Anim. Sci. 84 (11): 3110-3117. • Wali, S. A., Hobi, A. A. & Nouri, A. 2005. J. Biol. Sci. 5(2) : 111-113.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen al Dr. Marcelino de los Mozos, del Centro de Investigación Agraria de Albaladejito (Cuenca), la valiosa colaboración y asistencia técnica en los análisis de GEC. Este trabajo ha sido financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (IDI-2010-0284) y la Agencia de Inversiones y Servicios de Castilla y León (04-09-SO-0013).

## GROWTH PERFORMANCE, CARCASS QUALITY AND MAIN LEAN CUTS OF FATTY PIGS FED WITH PEA (*Pisum sativum*), AND NARBON VETCH (*Vicia narbonensis*) AS A SOURCE OF PROTEIN.

**ABSTRACT:** A total of one hundred ninety-two crossbred pigs PIC-L65 x (Large White x Landrace) with an initial BW of  $30.78 \pm 4.06$  kg ( $73 \pm 2$  days of age) were used to assess the substitution of soybean meal by pea (*Pisum sativum*) or pea with 10% narbon vetchs (*Vicia narbonensis*) in fatty pigs diets. There were six experimental treatments (48 total replicas and four pigs per replicate. The individual was the replicate in carcass quality) with barrows and gilts, and three feedstuff (*ad libitum*, granulate; with the same energetic and proteine levels): 1) soybean meal 47; 2) pea; 3) pea with 10% narbon vetch. We evaluated the effect of anti-nutritional factors: protease inhibitors in pea and narbon vetch (trypsin -TIU- and chymotrypsin -CIU- inhibitors), and  $\gamma$ -glutamyl-S-ethenyl-cysteine in narbon vetch. Growth, carcass yield and main lean cuts was similar in treatments A and B ( $P > 0.05$ ), being worse in diet C ( $P < 0.05$ ). The slaughter weight of males was higher with lower carcass yield and main lean cuts than females ( $P < 0.05$ ). We conclude that diets with a 10% of narbon



vetch ZV220, limit the growth of pigs, by contrast, pea variety cartouche containing  $\leq 10$  TIU-CIU, replaces to soybean from the 30 kg without losses in BW yield, carcass and main lean cuts.

**Keywords:** Fatty pigs, narbon vetch, pea, carcasse quality.

**Tabla 1.** Materias primas mayoritarias, análisis calculado y FAN de los piensos experimentales, Guisante y alberjón.

Materias primas %	Crecimiento 1-3			Cebo 3-5			Acabado 5-8		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Soja 47	15,35			10,90			8,70		
Guisante cartouche		42,98	61,81		37,80	51,83		22,70	37,10
Alberjones		9,90			10,00			10,00	
Cebada	52,06	15,84	6,93	57,78	22,00	18,00	60,62	37,40	33,00
Trigo	24,75	24,5	24,75	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00
Grasa 3/5	3,76	3,07	2,97	3,50	3,00	2,90	3,20	2,90	2,80
<b>Análisis calculado %</b>									
PB	15,40	15,59	16,24	13,64	14,94	14,04	12,77	13,28	13,43
GB	5,40	4,52	4,42	5,11	4,45	4,36	4,82	4,40	4,32
FB	3,76	4,82	4,23	3,81	4,81	4,19	3,86	4,75	4,13
Cenizas	5,63	5,30	5,21	5,34	5,15	5,05	5,12	4,98	4,88
Lisina	1,00	1,00	1,00	0,85	0,94	0,88	0,74	0,78	0,74
					Soja 47	Guisante	Alberjón		
Inhibidores de tripsina (TIU/mg de muestra)					0,61 $\pm$ 0	9,87 $\pm$ 0,07	5,50 $\pm$ 0,19		
Inhibidores de quimotripsina (CIU/mg de muestra)					3,56 $\pm$ 0,06	10,16 $\pm$ 0,18	5,41 $\pm$ 0,27		
					GEC % MF	-	-	1,52	

**Tabla 2.** Datos productivos según pienso y sexo.

Variables <sup>3</sup>	PIENSO					SEXO			
	A	B	C	eem <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>	machos	hembras	eem <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
Peso 1	32,59	29,28	30,47	cov <sup>3</sup>	-	30,61	30,95	cov <sup>3</sup>	-
Peso 2	41,87 <sup>a</sup>	38,83 <sup>b</sup>	39,61 <sup>b</sup>	0,485	**	40,24	39,95	0,301	ns
Peso 3	48,61 <sup>a</sup>	44,84 <sup>b</sup>	45,97 <sup>b</sup>	0,585	*	46,32	46,62	0,411	ns
Peso 4	58,36 <sup>a</sup>	52,41 <sup>b</sup>	55,07 <sup>b</sup>	0,890	**	55,39	55,17	0,553	ns
Peso 5	81,19 <sup>a</sup>	72,50 <sup>b</sup>	77,53 <sup>a</sup>	1,338	**	78,45	75,70	0,831	*
Peso 6	102,81 <sup>a</sup>	92,36 <sup>b</sup>	100,96 <sup>a</sup>	1,370	**	101,26	96,15	0,997	***
Peso 7	119,46 <sup>a</sup>	106,05 <sup>b</sup>	116,83 <sup>a</sup>	1,620	***	117,22	111,01	1,012	***
Peso 8	127,36 <sup>a</sup>	115,39 <sup>b</sup>	125,59 <sup>a</sup>	1,603	***	125,69	119,87	0,997	***
rendimiento canal	77,58 <sup>a</sup>	75,73 <sup>b</sup>	76,97 <sup>a</sup>	0,212	***	76,46	77,06	0,168	*
% magro <sup>4</sup>	56,29	56,38	55,92	0,450	ns	55,19	57,20	0,357	***
tocino dorsal mm	25,45 <sup>a</sup>	23,45 <sup>b</sup>	25,54 <sup>a</sup>	0,535	**	26,25	23,37	0,424	***
canal kg	97,85 <sup>a</sup>	88,64 <sup>b</sup>	97,14 <sup>a</sup>	1,117	***	96,63	92,46	0,886	**
jamón kg	13,05 <sup>a</sup>	11,82 <sup>b</sup>	12,94 <sup>a</sup>	0,131	***	12,88	12,41	0,104	**
chuletero kg	6,01 <sup>a</sup>	5,47 <sup>b</sup>	5,95 <sup>a</sup>	0,069	***	5,86	5,76	0,055	ns
paleta kg	7,36 <sup>a</sup>	6,64 <sup>b</sup>	7,31 <sup>a</sup>	0,087	***	7,27	6,94	0,069	**
% jamón	26,74 <sup>b</sup>	26,98 <sup>a</sup>	26,68 <sup>b</sup>	0,056	***	26,69	26,92	0,044	***
% chuletero	12,31	12,39	12,27	0,070	ns	12,15	12,49	0,056	***
% paleta	15,04 <sup>a</sup>	14,97 <sup>b</sup>	15,04 <sup>a</sup>	0,008	***	15,03	15,00	0,007	**

<sup>1</sup> eem: error estándar de la media. <sup>2</sup> P: significación estadística. ns: no significativo; \*P < 0,05. \*\* P < 0,01. \*\*\* P < 0,001; <sup>3</sup> 1 a 3: crecimiento; 3 a 5: cebo; 5 a 8 acabado; <sup>4</sup> % magro: según Autofom.

## EFFECTOS DE LA BETAÍNA Y EL CLA SOBRE EL METABOLISMO HEPÁTICO EN CULTIVOS PRIMARIOS DE HEPATOCITOS PORCINOS

Rojas Cano, M.L., Lachica, M. y Fernández-Figares, I.  
Instituto de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Camino del Jueves  
s/n, Armilla, 18100 Granada. E-mail: ifigares@eez.csic.es

### INTRODUCCIÓN

La betaína y el ácido linoleico conjugado (CLA) tienen el potencial de alterar el crecimiento y la composición corporal en cerdos (Fernández-Figares et al., 2002, 2008). Sin embargo, los posibles mecanismos mediante los que la betaína y el CLA actúan sobre el crecimiento del animal y la composición de la canal son todavía desconocidos. Además, se sabe relativamente poco sobre cómo la betaína y el CLA afectan al metabolismo hepático.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los hepatocitos se aislaron de cinco cerdos Ibéricos puros (17-22 kg PV). Se alimentaron de forma restringida (85% *ad libitum*) hasta el día antes del aislamiento de las células. Tras el sacrificio, a partir del lóbulo lateral izquierdo del hígado se aislaron los hepatocitos (Fernández-Figares et al., 2004). Los hepatocitos se sembraron ( $4,5 \times 10^6$ ) en matraces T-25 permeables al aire (Fernández-Figares et al., 2012). Tras un periodo de adhesión de 3 h, los matraces fueron lavados dos veces con suero salino tamponado con HEPES y a continuación se añadió el medio basal suplementado con 5% de suero fetal bovino. Al día siguiente, los matraces se lavaron dos veces con suero salino tamponado con HEPES y el medio se sustituyó por medio basal sin suero, suplementado con dexametasona (1 nM), dimetil sulfóxido (0,1 mg/l), L-carnitina (1 mM),  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (100 nM), insulina (1 y 100 ng/ml), glucagón (1 y 100 ng/ml) y c9,t11-C18:2 (c9,t11-CLA; 0 o 100  $\mu\text{M}$ ) o t10,c12-C18:2 (t10,c12-CLA; 0 o 100  $\mu\text{M}$ ) o c9,c12-C18:2 (LA, 0 o 100  $\mu\text{M}$ ) y betaína (0 o 1 mM), cultivándose durante 24 h. Se usaron tres matraces para cada condición de cultivo.

Para su adición al medio, los ácidos grasos se acomplejaron con albúmina siendo la relación molar ácido graso/albúmina menor de 3. Las células se cultivaron durante 24 h con distintos niveles de insulina y glucagón y los isómeros individuales del CLA o del ácido linoleico (LA) adicionando o no betaína. Transcurrido este tiempo se recogió el medio de cultivo en el que se determinó enzimáticamente colesterol, triglicéridos, urea y lactato utilizando un analizador de parámetros bioquímicos Cobas Integra 400. Las células se recogieron para determinar la proteína en los homogeneizados mediante el procedimiento de Lowry. Todos los datos fueron normalizados con el contenido en proteína del cultivo.

Los datos se analizaron con el modelo mixto del SAS usando el cerdo como factor al azar. El diseño fue de bloques al azar en el que los cerdos eran los bloques.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 1. En vertebrados, la mayor parte del colesterol es sintetizado en el hígado, siendo una pequeña parte incorporada en las membranas de los hepatocitos y el resto exportado. Ni el tipo de ácido graso ni la betaína tuvieron efecto ( $P > 0,10$ ) sobre la síntesis de colesterol en nuestros experimentos. Sin embargo, en cerdos Ibéricos alimentados con dietas suplementadas con CLA, el colesterol sérico total aumentó (Fernández-Figares et al., 2012) aunque la betaína no tuvo efecto alguno. En la línea celular HepG2, t10,c12-CLA y c9,t11-CLA aumentaron el colesterol libre en las células respecto al control sin ácidos grasos añadidos (Viswanadha et al., 2008).

No encontramos un efecto del tipo de ácido graso sobre la exportación de triglicéridos hepática ( $P > 0,10$ ). Conde-Aguilera et al. (2012) tampoco encontraron un efecto medible de una mezcla de isómeros del CLA sobre el contenido de triglicéridos en hepatocitos porcinos, contrariamente al aumento de los mismos producido por el t10,c12-CLA en hepatocitos bovinos (Mashek y Grummer, 2004). *In vivo*, sin embargo, los triglicéridos séricos aumentaron en cerdos Ibéricos alimentados con dietas suplementadas con CLA (Fernández-Figares et al., 2012), sin efecto significativo en cerdos alimentados con betaína. La betaína produjo una disminución (27%,  $P < 0,001$ ) de la exportación de triglicéridos en hígado independientemente del ácido graso presente.

El lactato es un precursor de la glucosa vía gluconeogénesis, produciéndose a partir del lactato en la fermentación anaerobia de la glucosa. Aunque la betaína no afectó a la síntesis de lactato, ambos isómeros del CLA disminuyeron (15%,  $P < 0,001$ ) la misma. Esto es compatible con la disminución de la gluconeogénesis en hepatocitos porcinos cultivados con una mezcla de isómeros del CLA (Conde-Aguilera et al., 2012) pero contrasta con la falta de efecto del CLA en la gluconeogénesis en hepatocitos bovinos (Mashek y Grummer, 2004) y con el aumento de glucosa metabolizada hasta lactato en hepatocitos de rata (Pérez-Matute et al., 2007).

El hígado es el principal órgano encargado del catabolismo nitrogenado, sintetizando urea a partir del amonio producido. La adición de betaína produjo un efecto inhibitorio de la producción basal de urea (11%,  $P < 0,01$ ) al igual que los ácidos grasos c9,t11-CLA y t10,c12-CLA (10 y 19%, respectivamente;  $P < 0,01$ ). Este efecto también se encontró en cerdos Ibéricos alimentados con dietas suplementadas con betaína y/o CLA, observándose una menor cantidad de urea sérica que en el grupo control (Fernández-Figares et al., 2012). Parece producirse un efecto beneficioso tanto del CLA como de la betaína sobre el metabolismo de los aminoácidos presentes en el medio.

Nuestras observaciones muestran que la betaína y el CLA tienen un impacto a nivel hepático en el metabolismo proteico y energético del cerdo. Así, la betaína disminuyó la síntesis de triglicéridos hepáticos y la producción basal de urea, y el CLA el uso anaeróbico de la glucosa y la producción basal de urea. Una menor producción de urea puede ser debido a un uso más eficiente de la proteína, y una menor producción de lactato es compatible con una mayor sensibilidad a la insulina. Es necesario un mejor conocimiento de los mecanismos de acción de la betaína y el CLA para hacer un uso racional de los mismos en nutrición animal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Conde-Aguilera, J. A., Lachica, M., Nieto, R. & Fernández-Figares, I. 2012. Metabolic regulation of fatty acid esterification and effects of CLA on glucose homeostasis in pig hepatocytes. *Animal* 6: 254-261.
- Fernández-Figares, I., Conde-Aguilera, J. A., Nieto, R., Lachica, M. & Aguilera, J. F. 2008. Synergistic effects of betaine and conjugated linoleic acid on growth and carcass composition of growing Iberian pigs. *J. Anim. Sci.* 86: 102-111.
- Fernández-Figares, I., Lachica, M., Martín, A., Nieto, R., González-Valero, L., Rodríguez-López, J.M. & Aguilera, J. F. 2012. Impact of dietary betaine and CLA on insulin sensitivity, protein and fat metabolism of obese pig. *Animal* 6: 1058-1067.
- Fernández-Figares, I., Shannon, A.E., Wray-Cahen, D., & Caperna, T.J. 2004. The role of insulin, glucagon, dexamethasone and leptin in the regulation of ketogenesis and glycogen storage in primary cultures of porcine hepatocytes prepared from growing pigs. *Domest. Anim. Endocrin.* 27:125-140.
- Fernández-Figares, I., Wray-Cahen, D., Steele, N. C., Campbell, R. G., Hall, D. D., Virtanen, E. & Caperna, T. J. 2002. Effect of dietary betaine on energy utilization and partitioning in the young growing feed restricted pig. *J. Anim. Sci.* 80: 421-428.
- Mashek, D. G. & Grummer, R. R. 2004. Effects of conjugated linoleic acid isomers on lipid metabolism and gluconeogenesis in monolayer cultures of bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 87: 67-72.
- Pérez-Matute, P., Martí, A., Martínez, J. A., Fernández-Otero, M. P., Stanhope, K. L., Havel, P. J. & Moreno-Aliaga, M. J. 2007. Conjugated linoleic acid inhibits glucose metabolism, leptin and adiponectin secretion in primary cultured rat adipocytes. *Mol. Cell. Endocrinol.* 30: 50-58.
- Viswanadha, S., Mcgilliard, M. L., Gandour, R. D. & Herbein, J. H. 2008. Alterations in CPT-1 mRNA and fatty acid profile in hepatic cell lines in response to treatment with t10,c12- or c9,t11-conjugated linoleic acid. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110: 16-22.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen el asesoramiento estadístico realizado por el Dr. L. Lara. Los análisis bioquímicos fueron realizados por el Laboratorio de Técnicas Instrumentales, Universidad de León. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2009-08916, Ministerio de Economía y Competitividad.

**Tabla 1.** Producción de colesterol, triglicéridos, lactato y urea en el medio de hepatocitos porcinos cultivados en presencia de ácidos grasos -ácido linoleico (LA) o ácido linoleico conjugado (CLA)-, distintos niveles de insulina y glucagón, y betaína.

	Colesterol μmol/mg prot	Triglicéridos μg/mg prot	Lactato mmol/mg prot	Urea μg/mg prot
LA	58 <sup>a</sup>	660 <sup>a</sup>	2,42 <sup>a</sup>	129 <sup>a</sup>
LA+Betaína	55 <sup>a</sup>	470 <sup>b</sup>	2,27 <sup>a</sup>	115 <sup>b</sup>
CLA9,11	51 <sup>a</sup>	650 <sup>a</sup>	2,12 <sup>ad</sup>	115 <sup>b</sup>
CLA9,11+Betaína	50 <sup>a</sup>	490 <sup>b</sup>	2,13 <sup>ad</sup>	113 <sup>b</sup>
CLA10,12	57 <sup>a</sup>	640 <sup>a</sup>	1,99 <sup>bcd</sup>	104 <sup>b</sup>
CLA10,12+Betaína	49 <sup>a</sup>	455 <sup>b</sup>	2,07 <sup>bc</sup>	112 <sup>b</sup>
Error estándar	4,0	14	0,055	4,3

<sup>abcd</sup>Para las comparaciones realizadas, valores dentro de la misma columna con distinto superíndice son significativamente diferentes (P<0,05).

### EFFECT OF BETAINE AND CLA ON METABOLISM OF PORCINE HEPATOCYTES

**ABSTRACT:** Betaine and CLA have the potential to improve growth parameters and reduce body fat in pigs. To determine possible mechanisms of action that might explain their nutrient partitioning effect, hepatocytes were isolated from piglets (n=5; 20 kg BW) by collagenase perfusion and seeded into T-25 flasks. Monolayers were established in medium containing fetal bovine serum for 1 d and switched to a serum-free medium for the remainder of the culture period. Hepatocytes were maintained in William's E amended with β-mercaptoethanol (0.1 mM), antibiotics (gentamicin, penicillin, streptomycin and amphotericin-B), DMSO (0.1 mg/L), dexamethasone (10<sup>-9</sup> M), insulin (1 and 100 ng/mL), glucagon (0 and 100 ng/mL), betaine (0 and 1 mM) and albumin (bound fatty acids (c9,t11-C18:2, t10,c12-C18:2 or c9,c12-C18:2; 0 and 100 μM)) for 24 h. Media was collected for cholesterol, triglycerides, lactate and urea determination and cells harvested for protein analysis. CLA addition decreased lactate and urea production (15%, 0.001<P<0.01) with no effect on cholesterol and triglycerides production (P>0.10). Similarly, betaine decreased urea production (11%, P<0.01) and triglycerides concentration in the media (27%, P<0.001). These results indicate that betaine and CLA have a beneficial effect in the pig liver decreasing triglyceride export, lowering lactate production and improving amino acid utilization.

**Keywords:** betaine, CLA, hepatocytes, pig.

## INFLUENCIA DE LA FUENTE Y EL NIVEL DE GLICERINA CRUDA EN EL PIENSO SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN POLLOS DE 1 A 21 DÍAS DE EDAD

Mandalawi<sup>1</sup>, H. A., Kimiaetalab<sup>1</sup>, M. V., Obregon<sup>2</sup>, V., Menoyo<sup>1</sup>, D. y Mateos<sup>1</sup>, G. G.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, UPM. Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid.

<sup>2</sup>Bio-Oils Huelva, S.L. Polígono Industrial Nuevo Puerto, 21810 Huelva.

gonzalo.gmateos@upm.es

### INTRODUCCIÓN

Las cantidades de grasas y aceites destinadas a la producción de biodiesel han aumentado en los últimos años a nivel mundial (National Biodiesel Board, 2012). La glicerina cruda (Gly) es un subproducto de la industria del biodiesel que contiene cantidades variables de humedad, cenizas y glicerol. La Gly es una fuente atractiva de energía que se utiliza actualmente como sustituto parcial del grano de cereal en dietas para avicultura y otras especies domésticas (Swiatkiewicz y Koreleski, 2009). Se estima que el nivel máximo de Gly a utilizar en piensos para broilers varía entre 5 y 10% (Cerrate et al., 2006). A estos niveles de inclusión, la Gly no presenta efecto negativo alguno sobre la salud o los parámetros productivos de las aves. Sin embargo, la calidad de las Gly comerciales varía en función de su origen, composición y proceso de obtención. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la fuente y el nivel de glicerina cruda en el pienso sobre el rendimiento productivo en pollos de engorde de 1 a 21 días de edad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudió en 630 pollos Ross 308 sin sexar de 1 d de edad el efecto de la fuente (B-Gly, 81,6% glicerol y A-Gly, 87,5% glicerol) y del nivel (2,5, 5,0, 7,5 y 10,0%) de Gly sobre los parámetros productivos. Ambas Gly fueron obtenidas a partir del mismo lote de aceite de soja inicial, pero se procesaron bajo distintas condiciones a fin de reducir el contenido en humedad (y aumentar el de glicerol) en proporciones diferentes. Todos los piensos fueron isonutritivos en base a la composición de alimentos de FEDNA (2010) y se suministraron en forma de migas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Composición y análisis calculado de los piensos experimentales (% ssf)

Gly (%)	Control	B-Gly <sup>1</sup>				A-Gly <sup>2</sup>			
	0	2,5	5,0	7,5	10,0	2,5	5,0	7,5	10,0
Ingrediente									
Maíz	56,1	53,4	50,7	47,7	45,0	53,5	50,7	47,9	45,1
Harina de soja (47,5%PB)	34,7	35,1	35,6	36,1	36,5	35,1	35,6	36,0	36,5
Aceite de soja	3,5	3,4	3,3	3,3	3,2	3,3	3,2	3,1	3,0
Glicerina bruta	-	2,5	5,0	7,5	10,0	2,5	5,0	7,5	10,0
Otros <sup>3</sup>	4,7	4,6	4,5	4,4	4,3	4,6	4,5	4,5	4,4
Celite <sup>4</sup>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Análisis calculados									
EMAn (Kcal/kg)	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000
Proteína bruta	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5
Extracto etéreo	6,1	6,0	5,9	5,8	5,7	6,0	5,8	5,6	5,4
Lys digestible <sup>5</sup>	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2

<sup>1</sup>Glicerina con 81,6% de glicerol.

<sup>2</sup>Glicerina con 87,5% de glicerol.

<sup>3</sup>Incluye minerales, vitaminas y aminoácidos industriales.

<sup>4</sup>Tierra de diatomeas (Celite Ibérica, Alicante, España) utilizado para la determinación de la digestibilidad de los nutrientes en un estudio posterior.

<sup>5</sup>Resto de aminoácidos según criterio de proteína ideal.

El ensayo (1 a 21 d de edad) fue completamente al azar con un pienso control en base de maíz y harina de soja sin Gly añadida y 8 piensos adicionales que formaban un factorial 2 × 4, con 2 fuentes de Gly con un contenido en glicerol variable (A-Gly, 87,5% y B-Gly, 81,6%) según condiciones del procesado y 4 niveles de inclusión (2,5, 5,0, 7,5 y 10,0%). Cada

tratamiento se replicó 7 veces y la unidad experimental fue la jaula con 10 pollitos Ross-380 sin sexar. Se controló el peso de las aves y el consumo de pienso por réplica semanalmente. A partir de estos datos se calculó la ganancia de peso (GMD), el consumo de pienso (CMD) y la conversión alimenticia (IC) por periodo y en el global de la prueba. Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 1990) para diseños completamente al azar y se estudiaron los efectos principales (tipo y nivel de Gly) y sus interacciones. Además, se realizaron contrastes polinomiales para estudiar la respuesta lineal (L) y cuadrática (Q) de la inclusión de niveles crecientes de Gly (0, 2,5, 5,0, 7,5 y 10,0%) sobre los diversos parámetros productivos. Se consideraron valores significativos para  $P < 0,05$  y valores entre 0,05 y 0,10 se consideraron como tendencias. En caso de significancia del modelo, las medias se compararon mediante el test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron interacciones entre la fuente y el nivel de Gly en el pienso para ninguna de las variables estudiadas y por tanto, sólo se presentan los efectos principales. La fuente de Gly no afectó al crecimiento de las aves en ninguno de los períodos considerados (Tabla 2). Sin embargo, la inclusión de Gly en el pienso tendió a mejorar la GMD (L,  $P = 0,108$ ) y mejoró el IC (L,  $P < 0,01$ ). La mayoría de las mejoras observadas al incluir Gly en el pienso ocurrieron durante los primeros 14 d de vida. Por ejemplo, de 1 a 7 d y de 7 a 14 d el IC mejoró (L,  $P < 0,01$  y  $P = 0,096$ , respectivamente) con la inclusión de Gly pero no se observaron diferencias de 14 a 21 d de edad (datos no presentados). Por tanto, la glicerina cruda puede utilizarse de forma satisfactoria en piensos para broilers a niveles de al menos el 10%.

**Tabla 2.** Influencia de la fuente y el nivel de glicerina cruda (Gly) del pienso sobre los parámetros productivos en pollos de 1 a 21 d de edad

Item	1-7 d			1-21 d		
	GMD (g)	CMD (g)	IC	GMD (g)	CMD (g)	IC
Fuente de Gly <sup>1</sup>						
B-Gly	21,5	23,2	1,08	37,0	49,2	1,33
A-Gly	21,7	23,4	1,08	37,1	49,2	1,33
Nivel de Gly (%)						
0	21,7	23,8 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	36,4	49,2	1,35 <sup>a</sup>
2,5	21,7	23,4 <sup>ab</sup>	1,08 <sup>ab</sup>	37,0	49,3	1,33 <sup>ab</sup>
5	21,8	23,5 <sup>ab</sup>	1,08 <sup>ab</sup>	37,2	49,0	1,32 <sup>ab</sup>
7,5	22,0	23,6 <sup>ab</sup>	1,08 <sup>ab</sup>	37,4	49,7	1,33 <sup>ab</sup>
10	21,0	22,4 <sup>b</sup>	1,07 <sup>b</sup>	37,4	49,0	1,31 <sup>b</sup>
EEM (n=7) <sup>2</sup>	0,45	0,43	0,009	0,65	0,79	0,011
			Probabilidad <sup>3</sup>			
Gly	0,445	0,613	0,660	0,917	0,959	0,637
Nivel Gly						
Lineal	0,213	0,008	0,006	0,108	0,967	0,002
Cuadrático	0,160	0,230	0,466	0,476	0,764	0,453

<sup>1</sup>Glicerina con 81,6% (B) ó 87,5% (A) de glicerol

<sup>2</sup>n = 7 réplicas de 10 pollitos por tratamiento

<sup>3</sup>Las interacciones entre efectos principales no fueron significativas ( $P > 0,05$ )

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cerrate, S., Yan, F., Wang, Z., Coto, C., Sacakli, P. & Waldroup, P. W. 2006. Int. J. Poult. Sci. 11:1001-1007.
- FEDNA. 2010. De Blas, C., Mateos, G. G. & Rebollar, P. G. (Eds). Tablas FEDNA de Composición y Valor Nutritivo de Alimentos para la Fabricación de Piensos Compuestos. 3ª ed. FEDNA, Madrid, España.
- National Biodiesel Board. 2012. Official Site of the National Biodiesel Board.
- Swiatkiewicz, S. & Koreleski, J. 2009. Poult. Sci. 88:615-619.

**Agradecimientos:** El presente trabajo ha sido parcialmente financiado por la Comunidad de Madrid (S2009/AGR-1704) y la empresa Bio-Oils Huelva, S.L.

### **INFLUENCE OF SOURCE AND LEVEL OF RAW GLYCERIN IN THE DIET ON GROWTH PERFORMANCE IN BROILERS FROM 1 TO 21 DAYS OF AGE**

**ABSTRACT:** In total, 630 one-d-old straight-run Ross 308 chicks, were used to study the influence of type and level of inclusion of raw glycerin (Gly) in the diet on growth performance of broilers from 1 to 21 d of age. There was a control diet based on corn and soybean meal and 8 additional diets that formed a 2×4 factorial with 2 type of Gly, varying in glycerol content (H-Gly, 87.5% glycerol and L-Gly, 81.6% glycerol) and 4 levels of Gly inclusion (2.5, 5.0, 7.5, and 10%). The 2 types of Gly were obtained from the same batch of soy oil but they were processed under different set of conditions (primarily temperature) to reduce the moisture content and increase that of glycerol. From d 1 to 21, Gly inclusion improved FCR of the chicks linearly ( $P < 0.01$ ). From d 1 to 7, ADFI and FCR increased linearly ( $P \leq 0.01$ ) as the Gly content of the diet increased. It is concluded that raw Gly, a co-product of the biodiesel industry, can be used efficiently as a source of energy at levels of at least 10% in diets for broilers from 1 to 21 d of age.

**Keywords:** broiler performance, glycerol, raw glycerin.

## EFFECTO DEL CRUCE Y DEL ACABADO EN EL CRECIMIENTO DE POTROS SACRIFICADOS A 18 MESES

Crecente, S.<sup>1</sup>, Franco, F.<sup>2</sup>, Lorenzo, J.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. Carretera Betanzos-Santiago Km 7 - 15318 - Abegondo (A Coruña), España. santiago.crecente.campo@xunta.es

<sup>2</sup> Centro Tecnológico de la Carne de Galicia, Rúa Galicia Nº 4, Parque Tecnológico de Galicia, San Cibrao das Viñas, 32900 Ourense, España. jmlorenzo@ceteca.net

### INTRODUCCIÓN

El caballo de monte gallego constituye una población mestiza, fruto de los cruces entre la raza original (Pura Raza Galega) y razas foráneas. El objetivo de los cruces era incrementar la corpulencia del conocido como 'poni gallego'. Aún así la población actual se puede seguir considerando como de tipo medio-pequeño, siendo lo más frecuente que los ejemplares no superen los 400 kg de peso vivo (PV).

La población equina actual en Galicia ocupa terrenos de monte marginales, de difícil acceso, normalmente con pasto de matorral y, a menudo, en régimen de libertad. Estudios previos confirman el reducido tamaño de los potros de caballo gallego (Franco *et al.*, 2013), sacrificados normalmente al destete, con 6-9 meses de edad, y 160-180 kg de peso vivo. Se trata de un peso muy inferior al que demanda la industria cárnica, surtida principalmente por razas de aptitud cárnica, que dan canales con un peso superior a 250 kg (Sariés y Beriain, 2005; Juárez *et al.*, 2009). El cruce de caballo gallego con la raza Hispano-Bretón (HB) permite aumentar el PV medio de los potros cruzados en 60 kg respecto de los gallegos sacrificados con 15 meses de edad (Franco *et al.*, 2013). Como estos pesos todavía están alejados de los que demanda la industria se planteó este estudio.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del cruce de caballo gallego con HB, y de la suplementación durante el acabado, sobre los parámetros de crecimientos de potros sacrificados a los 18 meses.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se emplearon un total de 17 potros cruzados con HB, procedentes del cruce de yeguas de caballo gallego y un semental HB, y 10 potros gallegos.

El sistema de cría se basa en partos de primavera. En el mes de marzo del año siguiente al nacimiento (10-11 meses de vida) se realizó el destete de los potros, alimentándose a continuación, durante los meses de primavera, exclusivamente de pasto herbáceo. Posteriormente, en julio, se empezó a suministrar alimento concentrado en pequeñas cantidades junto con el pasto, incrementándose la dosis progresivamente, con el fin de realizar una fase de adaptación al pienso antes de estabular para la fase de cebo, tratando de evitar cólicos intestinales ocasionados por cambios bruscos en la alimentación.

A mediados de julio tuvo lugar la entrada en cuadra, en ese momento los potros estaban recibiendo 1,5 kg de concentrado/potro y día. La alimentación en la cuadra tuvo como base una mezcla forrajera de silo de hierba y heno. Además, se continuó con la suplementación con pienso concentrado, separando los potros en dos grupos, uno al que se le suministraron 1,5 kg de pienso y otro al que se le suministraron 3 kg. El grupo que recibió 1,5 kg de pienso estuvo formado por 8 potros cruzados y 6 potros gallegos, mientras que el grupo de 3 kg de pienso se compuso de 9 potros cruzados y 4 gallegos. La fase de acabado tuvo una duración de 3 meses.

La evolución de peso de los potros se controló realizando pesadas cada 30 días (cada 15 días durante el acabado). Finalmente se realizó un análisis estadístico mediante un análisis de varianza (ANOVA), fijando el nivel de significación en 0,05.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución del PV de los potros desde el destete hasta el sacrificio se muestra en la Figura 1. La ganancia media diaria de peso vivo (GMD) se muestra en la Tabla 1.

La GMD en la primavera alcanzó 0,27 kg/día en los potros gallegos y 0,42 kg/día en los potros cruzados, siendo la diferencia no significativa ( $P=0,057$ ). Las máximas GMD tuvieron lugar en el mes de abril, disminuyendo progresivamente a medida que avanzaba la primavera. En el mes de junio el grupo cruzado mostró una GMD significativamente superior



( $P=0,01$ ) al grupo gallego. Este hecho podría estar relacionado con la mayor capacidad de crecimiento de la raza HB frente a la gallega.

Una vez se inició la fase de acabado la GMD aumentó notablemente, superando en los dos grupos los 1,1 kg/día durante la suplementación en el pasto. Claramente se produjo un efecto del acabado en la GMD, que triplicó el valor alcanzado al final de la primavera.

Una vez estabulados los potros se obtuvieron GMD negativas, con un descenso de peso muy acusado durante los primeros 15 días. Esto podría ser explicado por dos motivos: a) cambio de alimentación en pastoreo a consumo de forraje en un pasillo de alimentación; b) entrada en un recinto cerrado: al ser animales criados en el exterior durante toda su vida, el cambio a un lugar cerrado ocasiona cierto estrés.

Tras 15 días de estabulación los potros comenzaron a subir de peso. No se observaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ) en el PV en función de la cantidad de pienso suplementada, mientras que el cruce sí que tuvo un efecto significativo en el peso vivo, llegando al sacrificio con 310 kg y 218 kg ( $P<0,001$ ), para el grupo de potros cruzados y gallegos, respectivamente.

Las GMD de la fase de acabado se pueden considerar bajas, ya que no superaron los 0,5 kg por potro y día. En la fase final del acabado, cuando los potros ya están totalmente adaptados a la alimentación y al manejo en cuadra, las GMD fueron máximas, alcanzando los 0,65 kg/día y 0,81 kg/día en los grupos suplementados con 1,5 kg y 3 kg, respectivamente.

Desde un punto de vista económico, la dosis de 3 kg de pienso fue claramente ineficiente, ya que no suponen un incremento suficiente en la GMD para sufragar los gastos de 1,5 kg de pienso extra.

En estudios previos (Franco *et al.*, 2013), realizando el acabado con una suplementación de pienso en el pasto durante la primavera, se alcanzaron GMD para toda la fase de acabado notablemente superiores a las del presente estudio. La inexistencia de la fase de adaptación a la cuadra y al cambio de alimentación seguramente fue decisiva. De este modo, el cebo en cuadra quedaría cuestionado para potros criados en régimen de semilibertad.

En todo caso, si se pretende realizar una fase de acabado en estabulación se deberían tener en cuenta los siguientes aspectos: a) unos días antes de que los potros entren en establo sería aconsejable aportar algo de forraje del que se van alimentar, para facilitar su adaptación; b) se deberían eliminar elementos metálicos, o de otra naturaleza, que asusten a los animales o les impidan acceder con facilidad al comedero y c) sería recomendable utilizar algún caballo 'guía' acostumbrado a estar en cuadra, para que los otros potros puedan imitar su comportamiento, facilitando así la fase de adaptación.

Siguiendo las anteriores recomendaciones, en un sistema semiextensivo basado en el pastoreo, con una fase de acabado de 3 meses, se podrían obtener potros cruzados con un PV medio de 350 kg a los 18 meses de edad.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

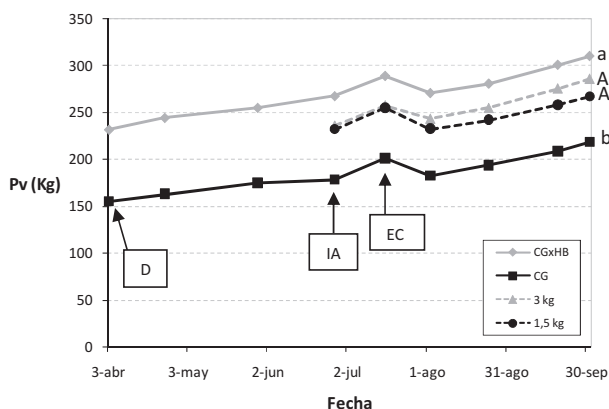
- Franco, F., Crecente, S., Vázquez, J.A., Gómez, M., & Lorenzo J.M. 2013. Meat Sci. 93: 547-556.
- Juárez, M., Polvillo, O., Gómez, M.D., Alcalde, M.J., Romero, F., & Varela, M. 2009. Meat Sci. 83: 224-228.
- Sarriés, M.V. & Beriain, M.J. 2005. Meat Sci. 70: 141-152.

**Agradecimientos:** Al proyecto "Efecto do cruce, sistema de manexo, sexo, dose de acabado e idade de sacrificio sobre a calidade da canal e da carne de poldro galego. Estudo vida útil, (Xunta de Galicia-10MRU004CT)"

**Tabla 1.** Ganancia media de peso vivo (GMD) en función de la raza y de la dosis de pienso.

Variables	Raza		Dosis pienso(kg/día)		Significancia	
	CG	CGxHB	1,5	3	Raza	Acabado
<b>GMD</b>						
Abril	0,36	0,60			n.s.	
Mayo	0,34	0,31			n.s.	
Junio	0,12	0,43			**	
Total primavera	0,27	0,42			n.s.	
Inicio acabado-entrada en cuadra (16-jul)	1,21	1,13	1,18	1,14	n.s	n.s.
16-jul - 2-ago	-1,08	-1,07	-1,3	-0,83	n.s.	n.s.
2-ago - 24-ago	0,50	0,45	0,43	0,52	n.s.	n.s.
24-ago - 1-oct	0,65	0,77	0,65	0,81	n.s.	n.s.
Todo el acabado	0,42	0,44	0,36	0,52	n.s.	n.s.

Significancia: \*\*( $p < 0,01$ ), n.s.: no significativo; CG: potros de caballo gallego; CGxHB: potros cruzados con Hispano-Bretón



**Figura 1.** Peso vivo (Pv) de los potros durante la fase de acabado en función de la raza y la dosis de pienso (3 kg vs 1,5 kg por potro y día). Letras diferentes, distinguiendo mayúsculas y minúsculas, indican diferencias significativas según el test t de Student ( $P < 0,001$ ) mediante comparación por pares. CG: potros de caballo gallego; CGxHB: potros cruzados con Hispano-Bretón. D: destete; IA: inicio acabado; EC: entrada en cuadra

### EFFECT OF CROSSBRED AND FINISHING DOSE ON FOALS GROWTH SLAUGHTERED AT 18 MONTHS

**ABSTRACT:** The aim of this work was to study the effect of crossbred and finishing dose on the growth of foals slaughtered at 18 months. A total of 17 crossbred foals with HB and 10 Galician foals were used. Foals were divided in two groups, one was fed with 1,5 kg of fodder per day and foal and the other one with 3 kg of fodder per day and foal. The average daily gain (ADG) was negative during the first indoors two weeks, due to both changes in feed type and stress caused by the change from the pasture to the stable. The ADG was positive in the rest of the finishing period, reaching the maximum at the last month (0,65 and 0,81 kg for 1.5 and 3 kg of fodder per day and foal, respectively). There were no significant differences ( $P > 0,05$ ) in ADG in the finishing period, both by breed and fodder dose. There were significant differences ( $P < 0,001$ ) on live weight between crossbred and Galician foals.

**Keywords:** Foal, Crossbred, Finishing dose, ADG

## **EFFECTO DE LA INCORPORACION DE ACEITES ESENCIALES DE ROMERO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE DE CABRA Y EL CRECIMIENTO DE LOS CABRITOS**

S. Smeti<sup>1,2</sup>, H. Hajji<sup>1</sup>, N. Atti<sup>1</sup>, F. Muñoz<sup>3</sup> and M. Mahouachi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Production Animale et Fourragères, INRAT. 2049 Ariana (Tunez). <sup>2</sup> Faculté des Sciences de Bizerte. Bizerte (Tunez). <sup>3</sup> CITA. Zaragoza (Spain). <sup>4</sup> ESAK. Le Kef, Tunez. [sam\\_fsb@live.fr](mailto:sam_fsb@live.fr)

### **RESUMEN**

Veinte cabras autóctonas de Túnez fueron distribuidas en dos lotes, que fueron alimentados con una ración compuesta de 600 g de concentrado y heno de avena *ad libitum*. Se utilizaron dos tipos de concentrado, el concentrado testigo (C), compuesto por una mezcla de cebada, soja y suplemento vitamínico mineral, y el concentrado experimental (AER) que contenía la misma mezcla a la que se añadió 0.06% de aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.). Durante la realización del ensayo, se pesaron diariamente la oferta y el rehusado de las dietas y se tomaron, semanalmente y de forma individual, datos de peso y producción de leche.

La ingestión diaria de materia seca del heno no se vio afectada por la incorporación de aceites esenciales de romero. Sin embargo, este aditivo mejoró la producción diaria de leche de cabra (582 vs 442 ml en los lotes AER y C, respectivamente) y como consecuencia afectó al crecimiento de los cabritos con una ganancia de peso, especialmente en el periodo entre 10-30 días de edad (70 vs 94 g, en los lotes C y AER, respectivamente). En conclusión la suplementación de dietas de cabras con aceites esenciales de romero podría ser recomendable en la alimentación de cabras por sus mejoras en la producción.

Palabras clave: cabras, aceites esenciales de romero, producción.

### **INTRODUCCION**

En la fabricación de piensos se utilizan, cada vez más, aditivos provenientes de extractos de plantas. A menudo son los efectos indirectos de éstos sobre la población microbiana gastrointestinal que los convierten en un tipo de aditivo interesante. En rumiantes, algunos de estos productos permiten mejorar los efectos zootécnicos de producción de leche y carne.

En la actualidad, los aditivos que despiertan un mayor interés son los que provienen de plantas ricas en compuestos fenólicos tal como *Rosmarinus officinalis* L. Este arbusto mediterráneo contiene una variedad de metabolitos secundarios, caracterizados por su actividad antimicrobiana, capaces de manipular la fermentación microbiana para mejorar la eficiencia de la producción (Benchaar et al., 2008). El objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos de aceites esenciales de romero (AER) sobre los parámetros de producción en la cabra de Túnez.

### **MATERIAL Y METODOS**

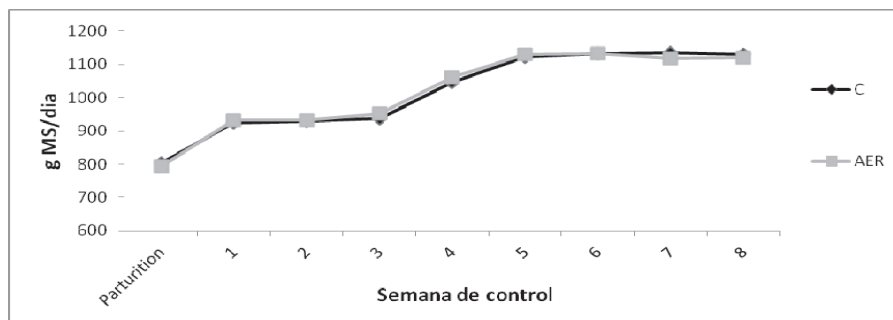
El experimento se llevó a cabo con veinte cabras autóctonas tunecinas distribuidas en dos grupos y alojadas en cajas individuales. Los animales fueron alimentados con heno de avena (70 g de proteína bruta (PB). Kg-1 materia seca (MS)) *ad libitum* y 600 g de concentrado (160 g PB. Kg-1 MS). Se utilizaron dos tipos de concentrado; el concentrado testigo (C) era una mezcla de cebada (80%), soja (18%) y suplemento vitamínico mineral (2%); el concentrado experimental (AER) contenía la misma mezcla más 0,06% de aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.). Los alimentos se distribuyeron diariamente en dos comidas (9 h y 15 h); los animales de los dos

grupos tenían acceso libre al agua. La cantidad de alimentos de la oferta y el rehusado se estimó diariamente. Se midió la producción individual de leche y los animales, adultos y jóvenes, se pesaron semanalmente. Los análisis estadísticos se realizaron mediante ANOVA en un diseño completamente aleatorizado (SAS, 2003). El modelo incluye efectos del tratamiento de la dieta y el error experimental para el consumo de MS, los resultados de crecimiento y de producción de leche.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Ingestión

Después del periodo de adaptación, el consumo de heno (Figura 1) se incrementó hasta alcanzar una ingestión diaria media de 1100 gMS/D durante el periodo de lactación. No hubo un aumento significativo en la ingestión diaria debida a la adición de los AE de romero en el concentrado, de forma similar a lo señalado por Benchaar et al. (2008) que no encontraron efectos de los AE sobre la ingestión de MS. Sin embargo, Blanluet et al. (2002) encontraron que una mezcla de AE aumentó la ingestión de materia seca de un ensilado y pradera, mejorando el crecimiento de las ovejas y su producción lechera. El aumento de la ingesta de heno después del parto se explica por el aumento en la capacidad del rumen.



**Figura 1. Efecto de la suplementación con aceites esenciales de romero sobre el consumo de heno en cabras lactantes.**

### Producción de leche

Los datos de la producción diaria de leche, en relación a las dietas, se muestran en la Tabla 1. La incorporación de AE de romero, aumenta significativamente la producción diaria de leche, las cabras del grupo AER produjeron un volumen de leche de 582 ml frente a los 442 ml producidos por el lote C. Sgoifo Rossi et al. (2005) encontraron también mayores producciones de leche en vacas alimentadas con AE, y también Chiofalo et al. (2004) observaron que la administración de silimarina, en el periodo de periparto a cabras y vacas, tuvo como resultado un pico superior de producción de leche, una prevención en la infiltración de la grasa hepática y un estado general de los animales más saludable.

Los datos relacionados con el crecimiento de los cabritos se muestran en la Tabla 1. Las cabras del lote C tuvieron una menor ganancia media de peso que las del lote AER y la diferencia entre ellos fue altamente significativa en el periodo comprendido entre 10 y 30 días, con ganancias de 94 vs 70 g respectivamente.

Los cambios en el peso y la GDP de los animales lactantes están relacionados con la producción de leche de la madre y dicha producción depende de la ración que reciba ésta, durante los periodos de gestación y lactación. En el presente trabajo, la suplementación con AE de romero aumentó la producción de leche de las cabras, lo que se vio reflejado en el crecimiento de los cabritos. Estableciéndose una correlación

positiva entre la producción de leche de la madre y el crecimiento de los cabritos (Atti *et al.*, 1991).

**Tabla 1. Efecto de la incorporación en la dieta de aceites esenciales de romero sobre la producción de leche (ml) y la ganancia media diaria (g) de los cabritos**

	<i>Lotes*</i>		<i>Estadísticos</i>	
	<i>C</i>	<i>AER</i>	<i>MSE</i>	<i>P</i>
Producción diaria de leche	442	582	135.4	0.001
Ganancia media diaria de los cabritos (10-30)	70	94	30.4	0.001

*Lotes\**: *C*= dieta testigo; *AER*= Dieta enriquecida con aceites esenciales de romero.

### CONCLUSION

La inclusión de aceites esenciales provenientes del romero mejoró la producción de leche de las cabras y, como consecuencia, el crecimiento de los cabritos. Por ello los aceites esenciales del romero serían una alternativa, como aditivo natural, para mejorar los rendimientos productivos en ganado caprino.

### BIBLIOGRAFIA

- Atti, N., Khaldi, G. & Bocquier, F. 1991. *Annales de l'INRAT*. 64 (3): 16 p.
- Benchaar, C., Calsamiglia, C., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., Mcallister, T.A. & Beauchemin, K.A. 2008. *Animal Feed Science and Technology*. 145: 209–228.
- Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquettes, J. & Chouinard, P.Y. 2007. *Journal of Dairy Science*. 90: 886–897.
- Blanluet, N., Frehner, M., Losa, R. & Archain, D. 2002. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants*. 9: pp 323.
- Chiofalo, B., Riolo, E.R., Fasciana, G., Liotta, L. & Chiofalo, V. 2010. *Veterinary Research Communications*. 34 (1): S197–S201.
- SAS. 2003. *SAS user's guide: Statistics version 9.1*. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Sgoifo Rossi, C.A., Dell'orto, V., Peri, V. & Pinotti, L. 2005. *AGRIOK News*. 32: 1–4.
- Tedesco, D., Galletti, S., Olivero, D., Tameni, M. & Rossetti, S. 2004. *Journal of Animal Science*. 82 (1): 355.

### EFFECT OF ROSEMARY ESSENTIAL OILS DIETARY INCORPORATION ON GOAT'S MILK PRODUCTION AND KID'S AVERAGE DAILY GAIN

**ABSTRACT:** Twenty local Tunisian goats were allocated into 2 groups. They were fed on oat-hay ad libitum and 600 g of concentrate. Two types of concentrate were used; the control one (C) was a mixture of barley, soybean and mineral-vitamin supplement, the experimental concentrate contained the same mixture more 0.06% of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils (REO). Distributed and refused foods were weighed daily. Animal's weight and individual milk yield were weekly recorded. The daily hay dry matter intake was not affected by rosemary essential oils incorporation. Whereas, this additive improved the goat's daily milk production (582 vs. 442 ml for REO and C groups, respectively); consequently, rosemary essential oils incorporation has affected kid's growth especially for the average daily gain at 10-30 day of age (70 vs. 74 g for C and REO groups, respectively). In conclusion, rosemary essential oils dietary supplementation could be recommended in goat's nutrition for its benefits on production.

**Key words:** goats; rosemary essential oils; production

## UTILIZACIÓN DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS PARA MEJORAR LA DIGESTIÓN DE FORRAJES TROPICALES. II. EFECTOS EN LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* Y LA DEGRADABILIDAD

Díaz, A.<sup>1</sup>, M.J. Ranilla<sup>1,2</sup>, C. Saro<sup>1</sup>, L.A. Giraldo<sup>3</sup> y M.D. Carro<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal, Universidad de León. 24071 León, España

<sup>2</sup> IGM (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Calle 59A No 63-20, Autopista Norte. Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Departamento de Producción Animal, E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria. 28040 Madrid, España

\*[mariadolores.carro@upm.es](mailto:mariadolores.carro@upm.es)

### INTRODUCCIÓN

Los forrajes tropicales presentan, en general, un menor valor nutritivo que los forrajes de zonas templadas. Sin embargo, su disponibilidad suele ser elevada y en numerosas ocasiones son el único recurso alimenticio disponible para los animales rumiantes. Esta situación limita la productividad de estos animales y por ello se han investigado diferentes estrategias para aumentar el valor nutritivo de los forrajes tropicales. Una de las metodologías propuestas para incrementar la utilización digestiva de los forrajes es el tratamiento de los mismos con enzimas fibrolíticas (Carro y Ranilla, 2001), pero todavía son escasos los estudios realizados con forrajes tropicales. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tres preparados enzimáticos en la fermentación ruminal *in vitro* y la degradabilidad de tres forrajes tropicales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron los efectos de tres enzimas: celulasa de *Trichoderma longibrachiatum* (**CEL**), xilanasas de microorganismos ruminales (**XIL**) y una mezcla a partes iguales de ambas (**MEZ**). A pH 6,5 y 39°C, 1 mg de **CEL** liberó por minuto 2,40 y 0,385  $\mu\text{mol}$  de glucosa y 1,72  $\mu\text{mol}$  de xilosa a partir de carboximetilcelulosa, almidón soluble y xilano de avena, respectivamente. En las mismas condiciones, **XIL** liberó por minuto 30,2  $\mu\text{mol}$  de xilosa a partir de xilano de avena, pero no se detectaron actividades carboximetilcelulasas ni amilasa. Como sustratos se utilizaron muestras de tres forrajes tropicales: *Pennisetum clandestinum*, *Dichanthium aristatum* Benth y *Acacia mangium*, cuya composición química se muestra en un trabajo anterior (Díaz *et al.*, 2013). Los forrajes se molieron (1mm) y se pesaron 500 mg de materia seca (MS) en botellas de 120 mL para su fermentación *in vitro*.

Las enzimas se disolvieron en una solución tampón de fosfato sódico 1 mM (pH=6,5) y se dosificaron directamente sobre los forrajes dentro de las botellas a una dosis de 20 unidades enzimáticas por g de forraje. La unidad enzimática se definió como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1  $\mu\text{mol}$  de glucosa o xilosa por minuto a partir del sustrato correspondiente a pH 6,5 y 39°C. Las soluciones enzimáticas se aplicaron a los forrajes 24 horas antes de la incubación, ya que previamente se comprobó que este pre-tratamiento aumentaba la efectividad de las mismas (Díaz *et al.*, 2013), y las botellas control (**CON**) recibieron solución tampón de fosfato sódico sin enzima. Las botellas se llenaron con 50 mL de una mezcla (1:4) de líquido ruminal procedente de cuatro ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de alfalfa de calidad media *ad libitum* y de medio de cultivo para microorganismos anaerobios. Tras su llenado, las botellas se cerraron y se incubaron a 39°C. Transcurridas 24 horas, las botellas se abrieron, se midió el pH de su contenido y se tomaron muestras para analizar la concentración en ácidos grasos volátiles (AGV) y amoníaco. Finalmente, el contenido de cada botella se filtró a través de crisoles provistos de una placa porosa, los cuales se secaron en estufa (100°C; 48 h) y se pesaron para calcular la degradabilidad de la MS (DMS). Posteriormente, se analizó el contenido en fibra neutro detergente (FND) del residuo para determinar la degradabilidad de la fibra (DFND). Se realizaron cuatro series de incubación, cada una con un inóculo ruminal diferente, de tal forma que se obtuvieron cuatro réplicas para cada tratamiento. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de la varianza y las diferencias entre tratamientos se analizaron mediante el test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla 1, el tratamiento de *P. clandestinum* y *D. aristatum Benth* con **CEL** aumentó ( $P<0,05$ ) la producción de propiónico y butírico, la DMS (6 y 9%, respectivamente) y la DFND (12 y 8%, respectivamente). En el caso de *D. aristatum Benth* se observó también un aumento ( $P<0,05$ ) en la producción de acético (22%) y del total de AGV (20%). Estos resultados indicarían que esta enzima favoreció la degradación de los dos forrajes, lo que resultó en una mayor producción de AGV. El tratamiento de *A. mangium* con **CEL** aumentó ( $P<0,05$ ) la producción de todos los AGV, pero no afectó ( $P>0,05$ ) a la DMS y DFND.

**Tabla 1.** Efecto del tratamiento de forrajes tropicales con diferentes enzimas durante 24 horas sobre el pH, la concentración de  $\text{NH}_3\text{-N}$  (mg/L), la producción ( $\mu\text{mol}$ ) total de ácidos grasos volátiles (AGV), de acético, propiónico y butírico, la relación acético:propiónico (Ac:Pr; mol/mol) y la degradabilidad de la materia seca (DMS; %) y de la fibra neutro detergente (DFND, %) en fermentaciones in vitro.

Forraje	Item	Tratamiento enzimático <sup>1</sup>				eem <sup>2</sup>	P =
		CON	CEL	XIL	MEZ		
<i>P. clandestinum</i>	pH	6,70	6,67	6,68	6,66	0,010	0,074
	$\text{NH}_3\text{-N}$	262 <sup>a</sup>	289 <sup>b</sup>	269 <sup>a</sup>	286 <sup>ab</sup>	6,5	0,049
	Total AGV	2018	2214	1909	2137	75,9	0,080
	Acético	1428	1531	1334	1490	58,0	0,160
	Propiónico	403 <sup>ab</sup>	457 <sup>c</sup>	388 <sup>a</sup>	436 <sup>bc</sup>	13,7	0,023
	Butírico	119 <sup>a</sup>	146 <sup>b</sup>	118 <sup>a</sup>	139 <sup>b</sup>	4,0	0,002
	Ac/Pr	3,57	3,39	3,46	3,44	0,054	0,214
	DMS	48,7 <sup>a</sup>	51,5 <sup>b</sup>	48,7 <sup>a</sup>	50,7 <sup>b</sup>	0,45	0,003
	DFND	41,3 <sup>a</sup>	46,1 <sup>b</sup>	41,9 <sup>a</sup>	44,4 <sup>b</sup>	0,47	<0,001
<i>D. aristatum Benth</i>	pH	6,65	6,62	6,63	6,63	0,009	0,943
	$\text{NH}_3\text{-N}$	157	171	167	163	5,6	0,353
	Total AGV	1887 <sup>a</sup>	2301 <sup>b</sup>	1756 <sup>a</sup>	2018 <sup>ab</sup>	101,4	0,023
	Acético	1366 <sup>a</sup>	1643 <sup>b</sup>	1268 <sup>a</sup>	1456 <sup>ab</sup>	74,8	0,034
	Propiónico	347 <sup>a</sup>	442 <sup>b</sup>	325 <sup>a</sup>	379 <sup>a</sup>	19,5	0,010
	Butírico	134 <sup>a</sup>	159 <sup>b</sup>	124 <sup>a</sup>	139 <sup>ab</sup>	6,8	0,033
	Ac/Pr	3,97 <sup>b</sup>	3,73 <sup>a</sup>	3,95 <sup>b</sup>	3,88 <sup>ab</sup>	0,048	0,028
	DMS	37,6 <sup>a</sup>	40,9 <sup>b</sup>	37,5 <sup>a</sup>	39,6 <sup>b</sup>	0,55	0,005
	DFND	35,2 <sup>a</sup>	38,0 <sup>c</sup>	34,3 <sup>a</sup>	37,4 <sup>b</sup>	0,72	0,002
<i>A. mangium</i>	pH	6,73	6,73	6,75	6,73	0,008	0,496
	$\text{NH}_3\text{-N}$	192	209	196	199	6,6	0,371
	Total AGV	1220 <sup>a</sup>	1497 <sup>c</sup>	1261 <sup>ab</sup>	1427 <sup>bc</sup>	56,8	0,021
	Acético	872 <sup>a</sup>	1059 <sup>bc</sup>	905 <sup>ab</sup>	1019 <sup>bc</sup>	42,0	0,034
	Propiónico	347 <sup>a</sup>	442 <sup>b</sup>	325 <sup>a</sup>	379 <sup>a</sup>	19,5	0,020
	Butírico	79,8 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup>	83,0 <sup>ab</sup>	91,3 <sup>bc</sup>	2,9	0,003
	Ac/Pr	3,78	3,64	3,83	3,75	0,078	0,112
	DMS	26,0	27,0	26,2	26,1	0,33	0,198
	DFND	22,7	23,4	22,3	22,1	0,40	0,179

<sup>1</sup> **CON:** control (sin tratamiento); **CEL:** celulasa de *Trichoderma longibrachiatum*; **XIL:** xilanasa de microorganismos ruminales; **MEZ:** mezcla 1:1 de **CEL** y **XIL**.

<sup>2</sup> error estándar de la media

<sup>a, b, c</sup> en la misma fila, los valores con diferente letra difieren ( $P<0,05$ )

No se observaron efectos ( $P>0,05$ ) de **XIL** sobre la fermentación de ningún forraje, lo que pudo deberse a que esta enzima es producida por microorganismos ruminales, por lo que podría bloquear los lugares de unión de las enzimas producidas por los microorganismos presentes en el inóculo e impedir su acción durante la incubación. Los efectos de **MEZ** sobre la fermentación de los forrajes fueron menores que los observados para **CEL**, ya que aumentó ( $P<0,05$ ) la DMS y DFND de *P. clandestinum* (4 y 8%, respectivamente) y *D. aristatum Benth* (5 y 6%, respectivamente), sin que se observaran cambios ( $P>0,05$ ) en la producción de AGV, con la excepción de un aumento de la producción de butírico con *P. clandestinum*. El tratamiento de *A. mangium* con **MEZ** provocó un incremento ( $P<0,05$ ) de la producción de acético, butírico y del total de AGV, sin que se observaran efectos en la degradabilidad.

En trabajos previos se observó que la celulasa utilizada en este trabajo (**CEL**) estimuló la fermentación *in vitro* de dietas con diferente relación forraje:concentrado (Giraldo *et al.*, 2007, 2008a) y aumentó la degradabilidad *in situ* de forrajes de calidad media y la actividad fibrolítica ruminal (Giraldo *et al.*, 2008b). Los resultados del presente estudio confirmarían la eficacia de esta enzima para estimular la fermentación ruminal *in vitro* de forrajes tropicales, aunque la magnitud de los efectos dependió del forraje utilizado.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carro, M.D., M.J. Ranilla. 2001. Las enzimas como aditivos en la alimentación de los animales rumiantes. *Mundo Ganadero* 134: 62-67.
- Díaz, A., M.J. Ranilla, C. Saro, L.A. Giraldo, M.D. Carro. 2013. Utilización de enzimas fibrolíticas para mejorar la digestión de forrajes tropicales: influencia del método de aplicación en la producción de gas *in vitro* y la composición química. ITEA (En prensa).
- Giraldo, L.A., M.L. Tejido, M.J. Ranilla, M.D. Carro. 2007. Effects of exogenous cellulase supplementation on microbial growth and ruminal fermentation of a high-forage diet in Rusitec fermenters. *J. Anim. Sci.* 85, 1962-1970.
- Giraldo, L.A., M.L. Tejido, M.J. Ranilla, M.D. Carro. 2008a. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on *in vitro* ruminal fermentation of substrates with different forage:concentrate ratios. *Anim. Feed Sci. Technol.* 141, 306-325.
- Giraldo, L.A., M.L. Tejido, M.J. Ranilla, S. Ramos, M.D. Carro. 2008b. Influence of direct-fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and ruminal activity in sheep fed a grass hay based diet. *J. Anim. Sci.* 86,1617-1623.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte de los Proyectos AGL2008-04707-C02-02 (financiado por el MICINN) y PCI-Iberoamérica A/4951/06 (financiado por MAE-AECID).

### USE OF FIBROLYTIC ENZYMES TO IMPROVE DIGESTION OF TROPICAL FORAGES: EFFECTS ON *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION AND DEGRADABILITY

**ABSTRACT:** This study was conducted to evaluate the effects of three exogenous fibrolytic enzymes (cellulase from *Trichoderma longibrachiatum* (CEL), xylanase from ruminal microorganisms (XYL) and a 1:1 mixture of both enzymes (MIX)) on the *in vitro* ruminal fermentation of three tropical forages (*Pennisetum clandestinum*, *Dichanthium aristatum Benth* and *Acacia mangium*). Forages were treated with enzymes for 24 h before *in vitro* incubation with ruminal fluid for 24 h. Both CEL and MIX treatments increased ( $P<0.05$ ) dry matter and fiber disappearance for *P. clandestinum* and *D. aristatum Benth*, but had no effects ( $P>0.05$ ) with *A. mangium*. In addition, CEL increased ( $P<0.05$ ) propionate and butyrate production for all forages. In contrast, no effects ( $P>0.05$ ) of XYL were detected for any forage. The results indicate that the treatment of tropical forages with CEL and MIX can stimulate their *in vitro* ruminal fermentation, but the xylanase used in this study did not produce any positive effect.

**Keywords:** cellulase, xylanase, *in vitro* ruminal fermentation, degradability



## COMPOSICIÓN DE LAS HECES Y RENDIMIENTO DE METANO EN CERDOS DE ACABADO ALIMENTADOS CON SUBPRODUCTOS DE CEREALES

Moset<sup>1,2</sup>, V., Ferrer<sup>2</sup>, P., Cambra-López<sup>2</sup>, M., Adell<sup>2</sup>, E., Borrás<sup>2</sup>, M., Cerisuelo<sup>1</sup>, A.\*

<sup>1</sup>Centro de Investigación de Tecnología Animal (CITA-IVIA). Pol. de la Esperanza, 100. 12400, Segorbe, Castellón. E-mail: cerisuelo\_alb@gva.es. <sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia.

### INTRODUCCIÓN

El metano (CH<sub>4</sub>) es un gas efecto invernadero (GEI) con un poder calorífico 21 veces superior al del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). El almacenamiento de purines representa una parte importante de las emisiones de CH<sub>4</sub> a la atmósfera. En España, el CH<sub>4</sub> emitido por la gestión del estiércol constituye alrededor del 2,3% de la emisión total de CO<sub>2</sub> equivalente de los cuales, alrededor del 89% se debe a la gestión de purines de cerdo (UNFCC, 2012).

Los países firmantes del protocolo de Kioto deben cuantificar sus emisiones de GEI. Los protocolos para estimar las emisiones de GEI a partir de purín han sido establecidas por el Panel Intergubernamental de expertos sobre el Cambio Climático (IPCC, 2006). Estos protocolos estiman la emisión de CH<sub>4</sub> usando el rendimiento final de metano (B<sub>0</sub>) de los purines, parámetro que expresa la cantidad máxima de CH<sub>4</sub> producida por un sustrato orgánico por gramo de materia orgánica y que depende directamente de su composición. Uno de los factores que más influye sobre la composición de los purines y por tanto sobre la emisión de CH<sub>4</sub> es la dieta. La composición de los piensos es capaz de modificar el comportamiento digestivo del animal, incluyendo factores como el aprovechamiento de los nutrientes (digestibilidad) y la capacidad de fermentación de los diferentes ingredientes a nivel intestinal.

La utilización de subproductos agroindustriales para alimentación animal es cada vez más frecuente debido al beneficio económico y medioambiental que supone en zonas productoras. La harina zootécnica y el cilindro de arroz son dos subproductos de cereales altamente disponibles hoy en día en la Comunidad Valenciana. La harina zootécnica es un subproducto del maíz que incluye el germen, cubiertas exteriores del grano, y otros subproductos de la molienda del maíz y se obtiene a partir de la industria cervecera. El cilindro de arroz es un subproducto que contiene parte del salvado y del germen del arroz y se obtiene en el proceso del pulido para la obtención de arroz blanco para consumo humano. Ambos son buenas fuentes energéticas en alimentación animal dado su alto contenido en grasa y su apreciable contenido en almidón. El objetivo principal de este trabajo fue valorar las consecuencias de la inclusión de estas fuentes de energía alternativa en piensos para cerdos en la fase de acabado (70-110 kg) sobre la composición de las heces y la producción de CH<sub>4</sub>.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se sometieron a estudio un total de 160 animales (machos y hembras) con un peso medio al inicio del estudio de 70,3 ± 6,67 kg. Los animales fueron distribuidos en 32 corrales de 5 animales/corral según peso inicial y sexo y divididos en dos tratamientos experimentales que consistieron en la administración de dos tipos de pienso: **pienso control (C)** que consistió en pienso convencional para animales de cebo y **pienso con subproductos (S)** con un 12,5% de harina zootécnica y un 8% de cilindro de arroz, ambos formulados para ser isoenergéticos e isoprotéicos. La tabla 1 muestra la composición analizada de las dietas.

El ensayo se prolongó hasta los 104,6 ± 9,45 kg de peso vivo (40 días). Los días 25 y 26 de estudio se tomaron muestras de heces directamente del recto de 1 animal / corral para determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) de las heces por cromatografía de gases mediante un cromatógrafo equipado con detector de ionización de llama (HP 68050 serie Hewlett Packard) siguiendo el método descrito por Jouany (1982) con la adición de un patrón interno (4-metil valérico) y del pH de las heces mediante un Phmetro (Crison Basic 20+, Crison, Barcelona, España). Posteriormente se realizó un pool de las heces recogidas por tratamiento para la determinación del B<sub>0</sub> mediante un ensayo *in vitro* de 120 días basado en la metodología propuesta por Angelidaki et al. (2009). Los días 35 y 36 de estudio se recogieron muestras de pienso y de heces de 2 animales / corral (12

animales/tratamiento) y se analizaron para materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), grasa bruta (GB), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) según la metodología propuesta por AOAC (2000) y Van Soest et al. (1991). La hemicelulosa y celulosa de las heces se calcularon a partir de las fracciones de fibra van Soest, siendo la hemicelulosa la diferencia entre NDF y ADF y la celulosa la diferencia entre ADF y la lignina.

TABLA 1: Composición de las dietas

Composición dietas <sup>1</sup>	Pienso control	Pienso subproductos
Materia Orgánica (%MS)	93	92
Proteína bruta (%MS)	15,4	15,1
Grasa bruta (%MS)	6,4	8,6
Fibra neutro detergente (%MS)	28,5	27,7
Fibra ácido detergente (%MS)	6,30	9,44
Lignina (%MS)	1,05	1,86

<sup>1</sup>MS = Materia seca.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los resultados relativos a la composición de las heces. En ambos tratamientos la suma de proteína, grasa, hemicelulosa, celulosa, lignina y AGV explica más del 90% del contenido total de sólidos volátiles.

Como se observa en la tabla, las heces provenientes de los cerdos alimentados con subproductos mostraron un mayor contenido en fibra, especialmente en la fracción de hemicelulosa y un menor contenido en proteína y grasa que las heces de los cerdos alimentados con el pienso control.

TABLA 2: Composición de las heces

Composición heces <sup>1,2</sup>	Numero de muestras	Pienso control	Pienso subproductos	EEM <sup>2</sup>	P-valor <sup>3</sup>
Materia seca, %	12	31,15	32,65	0,719	<i>n.s.</i>
Materia Orgánica (%MS)	12	79,98	80,26	1,098	<i>n.s.</i>
Proteína bruta (%MS)	12	19,45	14,93	0,551	<0,001
Grasa bruta (%MS)	12	9,13	7,69	0,284	<0,001
Fibra neutro detergente (%MS)	12	45,97	54,57	0,835	<0,001
Fibra ácido detergente (%MS)	12	22,52	28,87	0,626	<0,001
Hemicelulosa (%MS)	13	23,45	25,69	0,558	<0,01
Celulosa (%MS)	12	15,58	20,86	0,435	<0,001
Lignina (%MS)	12	6,93	8,02	0,283	<0,05
pH	32	5,96	6,08	0,038	<0,05
Ácidos grasos volátiles, g/L	32	2,9	2,8	0,01	<i>n.s.</i>

<sup>1</sup>MS = Materia seca; <sup>2</sup>Celulosa y hemicelulosa = Valores calculados a partir de las fracciones de fibra van Soest; <sup>3</sup>EEM = error estándar de la media; <sup>3</sup>ns = no significativo (P-valor>0,10)

En cuanto a la producción de CH<sub>4</sub>, las heces producidas por los animales alimentados con subproductos mostraron una menor B<sub>0</sub> que las de la dieta control (218.6 ± 7.69 vs 271.5 ± 10.33 mLCH<sub>4</sub>/g MO). Esto puede ser debido al mayor contenido en material poco degradable y por tanto, poco fermentable (hemicelulosa y lignina) y al menor contenido en material fácilmente fermentable (grasa y proteína) que contuvieron las heces de los cerdos alimentados con subproductos. De hecho, la B<sub>0</sub> de un sustrato orgánico depende directamente de las cantidades relativas de los siguientes componentes principales: lípidos, proteínas, hidratos de carbono, celulosa y lignina, poseyendo los lípidos y las proteínas mayores B<sub>0</sub> que los hidratos de carbono y siendo la celulosa y la lignina los compuestos con menores B<sub>0</sub> (Gunaselan, 2009). Valores elevados de celulosa y lignina en compuestos

orgánicos son claros indicadores de una baja biodegradabilidad del sustrato (Lesteur et al., 2010).

En conclusión la adición de harina zootécnica (12,5%) y cilindro de arroz (8%) en piensos para cerdos en la fase de acabado (70-110 kg) provoca una mayor concentración en material poco degradable (fibra) y un menor contenido en material fácilmente degradable (grasa y proteína) en las heces, lo que disminuyó el rendimiento de metano por gramo de materia orgánica de las mismas.

## REFERENCIAS

Angelidaki I., M. Alves, D. Bolzonella, L. Borzacconi, J. L. Campos, A. J. Guwy, S. Kalyuzhnyi, P. Jenicek and J. B. van Lier. 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology* 59:927-934.

AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD, USA.

Gunaseelan, V.N., 2009. Predicting ultimate methane yields of *Jatropha curcus* and *Morus indica* from their chemical composition. *Bioresource technology* 100, 3426-3429.

IPCC, 2006. Emissions from livestock and manure management. IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Volume 4. Agriculture, Forestry and Land Use. Kanagawa, Japan.

Jouany J.P., 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Scienc. Alimen.* 2(2), 131-144.

Lesteur, M., Bellon-Maurel, V., Gonzalez, C., Latrille, E., Roger, J.M. Junqua, G., Steyer, J.P. Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review. *Process Biochemistry*, 45: 433-440.

UNFCCC. Emissions Inventory of Greenhouse Gases in Spain Years 1990-2010. Submitted in March 2012.

[http://unfccc.int/national\\_reports/annex\\_i\\_ghg\\_inventories/national\\_inventories\\_submissions/items/6598.php](http://unfccc.int/national_reports/annex_i_ghg_inventories/national_inventories_submissions/items/6598.php)

van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. *J Dairy Sci* 74:3583-3597.

## COMPOSITION AND ULTIMATE METHANE YIELD IN FECES FROM FINISHING PIGS FED WITH CEREAL BY-PRODUCTS

### ABSTRACT:

The main objective of this study was to evaluate the impact of the inclusion of hominy feed and rice bran in finishing pig diets (70-110 kg) on feces composition and ultimate methane yield ( $B_0$ ).

A total of 160 finishing pig animals were used and divided in two diet treatments control (commercial diet) and by-product diet (with 12.5% of hominy feed and 8% of rice bran). Both diets were isoenergetic and isoproteic. The  $B_0$  from feces was determined in a batch assay during 120 days. Feces were also analyzed for dry matter, organic matter, crude protein, crude fat, fiber fractions (neutro detergent fiber, acid detergent fiber and acid detergent lignin), volatile fatty acids and pH.

Feces from pigs fed with by-products showed a higher fiber content and a lower crude fat and crude protein content, these feces also showed a lower ultimate methane yield than those obtained from control animals.

**Keywords:** hominy feed, rice bran, feces composition, methane

## **CONTROL DE CALIDAD “IN-SITU” EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN EN PLANTAS DE RECICLADO DE SUBPRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL, MEDIANTE EL USO DE UN EQUIPO NIRS PORTÁTIL.**

Vega, S.<sup>1</sup>, Pérez-Marín, D.<sup>1</sup>, Guerrero Ginel, J. E.<sup>1</sup>, Burón, T.<sup>2</sup>, Garrido-Varo, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ingeniería de Sistemas de Producción Agroganaderos, *Departamento de Producción Animal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agroalimentaria y de Montes, Universidad de Córdoba, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), Campus Rabanales, km. 396, N-IV, 14014, Córdoba. e-mail:s.vega.alonso@gmail.com*

<sup>2</sup>Rendergrasas S.L. *Ctra. Extremadura, S/N. 41909, Salteras, Sevilla, Spain*

### **INTRODUCCIÓN**

Empresas líderes en el mercado de los piensos destinados a la alimentación de mascotas, han establecido sistemas de control de calidad basados en tecnología NIRS para controlar que las materias primas que proporcionan sus proveedores, se encuentran dentro de sus especificaciones de calidad. Un análisis espectral NIRS, realizado a partir de grandes bibliotecas de espectros procedente de muestras de proveedores, permite a algunas de estas empresas tomar decisiones sobre la aceptación o rechazo de un determinado proveedor (Garrido et al., 2011). Sin embargo, la implantación de la tecnología NIRS en la industria de “rendering”, proveedora de subproductos de origen animal, una de las fuentes proteicas de mayor importancia en la industria de piensos para mascotas, es muy limitada. Varios años de colaboración en proyectos de I + D + i con una industria de rendering andaluza, han culminado en la implantación de la tecnología NIRS a nivel “at-line” (laboratorio) en dicha planta, mejorando las posibilidades reales de control de calidad sistemático y la apertura de nuevos mercados. El objetivo principal de este trabajo es el mostrar la capacidad de un instrumento MEMS-NIRS portátil, para su uso “on-line”/“in-situ”, en diferentes puntos del proceso de producción de harinas proteicas de origen animal.

### **MATERIAL Y METODOS**

Se han utilizado un total de 357 muestras de harina proteica de origen animal, proporcionadas por la empresa RENDER GRASAS S.L. La composición en especies de este colectivo es muy variada, existiendo 77 muestras de harina puras de cerdo, 82 puras de ave, 1 pura de vacuno y las restantes mezclas de especies. Los datos químicos de referencia de humedad (M), cenizas (ASH), proteína cruda (PC), se determinaron por el método AOAC 934.01, 942.05 y 976.06, respectivamente, (AOAC, 2000). Las muestras se analizaron, en primer lugar, en un instrumento monocromador FOSS NIRSystems 6500 SY-II (Silver Spring, MD, USA), que cubre al rango 400-2500nm, empleando una cápsula porta muestras rectangular, la cual presenta una ventana de cuarzo de 4,7 cm x 20 cm. Se recogieron dos espectros por muestra. Posteriormente, se analizaron en un instrumento portátil MEMS-NIRS, Phazir 2400 (1600-2400nm), en el cual se recogieron cinco espectros por muestra.

Para el desarrollo de las ecuaciones de calibración para la predicción de la composición química se siguió la metodología propuesta por Shenk y Westerhaus, (1996). Para la detección de espectros anómalos se utilizó el estadístico H (similar a la distancia de Mahalanobis), con un criterio de corte de  $H > 3$ . Una vez clasificados todos los espectros por orden de distancia H creciente al centro de la población, se seleccionaron 20 muestras representativas de la población, para ser utilizadas en la validación. Para el tratamiento quimiométrico de los datos espectroscópicos y químicos generados se empleó el software WinISI 1.05 (ISI, 2000). Los espectros fueron pre-tratados mediante derivación y tratamiento para la reducción del efecto “scatter”, previamente a la obtención de modelos de regresión MPLS (ModifiedPartialLeastSquares). Los estadísticos utilizados para la selección de las mejores ecuaciones de calibración fueron: el error típico de los residuales para el colectivo de calibración (ETC) y para el de validación cruzada (ETVC), el coeficiente de determinación para el proceso de calibración y de validación cruzada ( $r^2$ ). Finalmente, se utilizó el protocolo de validación recomendado por Windham et al.

(1989), que entre otros, fija límites de control para los valores del error típico de predicción corregido por el sesgo (ETP (C)).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las tablas 1 y 2 se recogen los estadísticos correspondientes a las mejores calibraciones NIRS desarrolladas para la predicción de la composición química de las harinas proteicas, además de los resultados obtenidos en la validación externa de ambos equipos.

**Tabla 1.** Estadísticos de calibración y validación para la predicción NIR de la composición química de harinas proteicas de origen animal (instrumento FossNIRSystems 6500).

Parámetros	Calibración		Validación				Límites de control	
	ETCV	r <sup>2</sup>	ETP	ETPc	Sesgo	r <sup>2</sup> <sub>VC</sub>	ETPc	Sesgo
%H	0,302	0,848	0,336	0,345	-0,013	<b>0,809</b>	0,393	±0,181
%CP	1,364	0,96	1,529	1,488	0,592	<b>0,938</b>	1,773	±0,819
%ASH	0,907	0,942	1,17	1,15	-0,34	<b>0,882</b>	1,178	±0,544

H Global=1,054, H de vecinos=0,431.

**Tabla 2.** Estadísticos de calibración y validación para la predicción NIR de la composición química de harinas proteicas de origen animal (instrumento portátil Phazir 2400).

Parámetros	Calibración		Validación				Límites de control	
	ETCV	r <sup>2</sup>	ETP	ETPc	Sesgo	r <sup>2</sup> <sub>VC</sub>	ETPc	Sesgo
%H	0,344	0,786	0,372	0,381	-0,034	<b>0,777</b>	0,448	±0,207
%CP	2,511	0,859	2,404	2,417	0,494	<b>0,821</b>	3,264	±1,506
%ASH	2,074	<b>0,67</b>	1,687	1,652	-0,513	<b>0,74</b>	2,696	±1,244

H Global=0,990, H de vecinos=0,303.

Tomando como referencia los estadísticos obtenidos en el instrumento de laboratorio, de altas prestaciones científicas, se observa (Tabla 1), que los valores obtenidos para los estadísticos ETVc y r<sup>2</sup><sub>VC</sub> para la predicción de humedad y proteína bruta son similares a los obtenidos en el equipo NIRS portátil de bajo coste (Tabla 2). Sin embargo, en el caso de cenizas, mientras las calibraciones obtenidas con el instrumento FOSS explican un porcentaje de la varianza alta (94%), ésta se reduce a un 67% en el caso del instrumento portátil. Estas diferencias podrían ser en parte explicadas por la diferencia que existe en rangos de medida entre ambos instrumentos (450-2500 nm vs 1600-2400nm) y, asimismo, por las diferencias de tamaño de la ventana óptica utilizada en ambos tipos de instrumentos (capsula natural de 94 cm<sup>2</sup> vs 0,8×1 cm<sup>2</sup> en el portátil) (Zamora et al., 2011). Ambas hipótesis se encuentran actualmente en fase de posterior estudio. No obstante, los resultados obtenidos en la validación externa nos indican que las calibraciones obtenidas con ambos instrumentos presentan un comportamiento similar, para los tres parámetros analíticos estudiados, cuando se aplican a 20 muestras externas. En todos los casos, los estadísticos ETPc y sesgo se encuentran dentro de los límites aceptables, y lo mismo ocurre para los valores de H global (H<3) y H de vecinos (H < 0.6). Actualmente se encuentra en fase avanzada la realización de la transferencia de grandes librerías espectrales (mayores de 1000 muestras) y de datos químicos, obtenidos en el instrumento NIRS situado en laboratorio, en la planta de RENDER, al instrumento

portátil utilizado en este estudio. Estos resultados permitirán aportar información valiosa a la empresa colaboradora y a otras industrias, para la toma de decisiones en cuanto a la incorporación de este sensor portátil para el control on-line del sistema de producción.

**Agradecimientos:** El presente trabajo se ha desarrollado en el marco del Proyecto de Excelencia Motriz AGR-6033 *“Incorporación on-site de la tecnología NIRS al control de productos y procesos en industria de la alimentación animal”* financiado por la Junta de Andalucía y del Proyecto RTA2012-00063- C02-02 *“Instrumentos NIRS portátiles de nueva generación para el análisis “onsite” en la industria de rendering”*, financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad. Los autores agradecen también a M<sup>a</sup> Carmen Fernández su trabajo en el manejo y análisis de muestras.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Garrido-Varo, A., Guerrero-Ginel, J.E., Gómez-Cabrera, A. y Pérez-Marín, D.C. 2011. Current status of NIRS technology in the feed industry. Proceedings of Cost Action FA0802 International Workshop WG2 & WG3 Feed for Health: “Feed Quality and Safety: technology, traceability and labeling”, Gijón, Spain, April 2011. • Shenk J.S. y Westerhaus M.O. 1996. Calibration the ISI way. En Near Infrared Spectroscopy: the future waves. Davies A.M.C., Williams, P.C. (Eds.). NIR Publications, Chichester, West Sussex, UK. pp. 198-202. • Windham W.R., Mertens D.R. y Barton II F.E. 1989. Protocol for NIRS calibration: sample selection and equation development and validation. En: Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality. Agriculture Handbook, nº 643. Martens G.C., Shenk J.S. y Barton II F.E. (Eds.) USDA-ARS, US Government Printing Office, Washington D.C., pp. 96-103. • Zamora-Rojas E., Pérez-Marín, D., De Pedro-Sanz E., Guerrero-Ginel J.E., Garrido-Varo A. 2011. In-situ Iberian pig carcass classification using a micro-electro-mechanical system (MEMS)-based near infrared (NIR) spectrometer. Meat Science 90 (2012) 636–642.

### ***QUALITY CONTROL "in-situ" IN THE RENDERING PLANT ANIMAL PRODUCTS, THROUGH THE USE OF A INSTRUMENT HANDHELD MEMS NIRS.***

**ABSTRACT:** Advances in NIRS instrumentation have enabled the development of new miniaturized spectrometers that combine NIRS technology with micro-electro-mechanical platforms, thus opening up new horizons for industrial NIRS applications. The main objective of this paper is to evaluate the potential of a handheld MEMS instrument *versus* a bench-top at-line instrument for the on-line quality control in a rendering plant. The results obtained show that both instruments produce equations of similar precision and accuracy for the prediction of moisture, crude protein and ashes.

**Keywords:** *processed animal proteins (PAPs), rendering plant, NIRS, handheld MEMS-NIRS.*

## DIGESTIBILIDAD Y RESPUESTA OVÁRICA DE CONEJAS REPRODUCTORAS ALIMENTADAS CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS n-3

Pascual, J.I.<sup>1</sup>, Rebollar, P.G.<sup>1</sup>, Aguado, E.<sup>2</sup>, Ausín L.<sup>2</sup>, Millán, P.<sup>2</sup>, de la Riba, S.<sup>2</sup>, García-García R.M.<sup>1</sup>, Arias-Álvarez M.<sup>2</sup>, Lorenzo P.L.<sup>2</sup>, García-Rebollar P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, E.T.S.I. Agrónomos, UPM. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, UCM. Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.

[pilar.grebollar@upm.es](mailto:pilar.grebollar@upm.es)

### INTRODUCCIÓN

Aumentar el número de gazapos destetados por coneja y parto es un objetivo importante para incrementar la rentabilidad del sector cunícola industrial con efectos directos. La mejora genética de la prolificidad en las líneas de madres ha demostrado ser una estrategia eficaz para alcanzar este objetivo; sin embargo otras vías, como la influencia de diferentes fuentes de grasa en las dietas de conejas reproductoras, han sido muy poco estudiadas. Los ácidos grasos (AG) n-3 interfieren en la fisiología reproductiva porque pueden modular las enzimas involucradas en el metabolismo de las prostaglandinas y del colesterol que es el precursor de los esteroides como la progesterona (revisado en Gulliver et al., 2012). El objetivo de este trabajo es estudiar si la suplementación con AG poliinsaturados (PUFA) n-3 de las dietas de conejas durante la recría puede afectar a la tasa de ovulación y a la síntesis esteroidogénica ovárica determinada mediante las concentraciones de progesterona plasmática.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 20 conejas (*Oryctolagus cuniculus*) híbridas (Neozelandés blanco x Californiano), alojadas en la granja experimental de la E.T.S.I. Agrónomos de Madrid (20-25°C, 16HL:8HO) se distribuyeron al azar en dos grupos (n=10) desde las 10 hasta las 16 semanas de edad, suministrándoles *ad libitum* dos piensos con igual composición en ingredientes y valor nutritivo (2400 Kcal ED/kg, 37% FND y 16% PB) pero suplementados con diferentes fuentes de grasa. En el pienso P (PUFA n-3) se incluyó un 1,5% de un suplemento (Optomega 50, Optivite, International Ltd., España), con un 50% de extracto etéreo, concentrado en PUFA n-3 [13% DHA (C22:6 n-3), 3% DAPA (C22:5 n-3), 7% EPA (C20:5 n-3), 7% C18:4 n-3 y 3% Linolénico (C18:3 n-3)] a partir de aceite refinado de salmón, y en el pienso C (control) se utilizó un 0,75% de manteca. A las 12 semanas de edad y con un peso medio de 4097±72,3 g se determinó la digestibilidad aparente de las dietas (n=10 conejas por tratamiento) durante 5 días en jaulas de metabolismo. Los análisis de piensos y heces se realizaron utilizando los métodos de la AOAC International (2000). Para estudiar la respuesta ovárica, a las 16 semanas de edad y con un peso medio de 4691±82,8 g, todas las conejas se trataron con 20 µg de GnRH, i.m. (Inducel-GnRH Lab. Ovejero) para inducirles la ovulación. Se tomaron un total de 5 muestras de sangre por punción de la arteria medial de la oreja (10:00-11:00 a.m.), antes de la inducción, una hora después, y los días 5, 7 y 9 de pseudogestación. Cada muestra de sangre se recogió en tubos con EDTA, se centrifugaron a 3.500 r.p.m durante 10' y el plasma se congeló a -20°C. Posteriormente, mediante enzimoanálisis, se analizaron las concentraciones de progesterona con un kit comercial (Progesterone ELISA, Demeditec Diagnostics GmbH, Germany). Todos los animales se sacrificaron el día 9 post-inducción de ovulación para determinar si habían ovulado y contar los cuerpos lúteos (CL) en la superficie ovárica. Para analizar el efecto de las dietas sobre el consumo de pienso, los coeficientes de digestibilidad y el nº de CL se realizó un análisis de varianza de una vía (tipo de dieta) utilizando el proc glm del SAS (SAS Institute Inc., 2001). Las concentraciones de progesterona se analizaron con un modelo de medidas repetidas (proc mixed) con la coneja como efecto fijo y el tipo de dieta como efecto principal.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante los dos meses que duró el experimento, las conejas que recibían el pienso suplementado con PUFA n-3 tendieron a consumir más que las del grupo control (220,8±6,0 vs. 204,8±6,0 g MS/día, respectivamente; P=0,077), pero no se observaron diferencias en el incremento diario de peso de los animales entre tratamientos (23,3 y 19,1 g/día para los

piensos P y C, respectivamente;  $P=0,125$ ). Durante la prueba de digestibilidad, el consumo de pienso y la digestibilidad de los nutrientes no fueron diferentes entre dietas (Tabla 1). Estos resultados confirman los obtenidos en otros trabajos (Fernández et al., 1994; Casado, et al., 2010) que no observaron diferencias en la digestibilidad o los resultados productivos de conejos en cebo que recibían dietas suplementadas con niveles más altos (un 3%) de fuentes de grasa con diferentes ratios de AG insaturados/saturados.

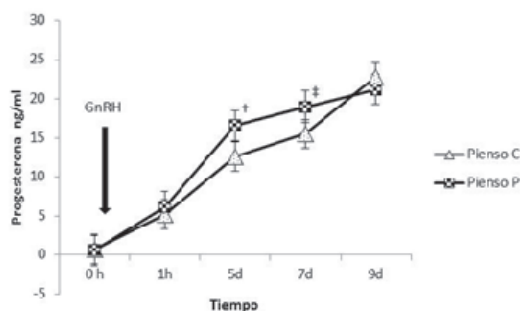
**Tabla 1.** Efecto de la suplementación de las dietas con PUFA n-3 sobre el consumo y digestibilidad aparente en conejas reproductoras de 12 semanas de edad.

Dietas <sup>a</sup>	P	C	EEM <sup>b</sup>	Prob.
Consumo de materia seca, g/d	118	125	7,11	0,371
Coefficientes de digestibilidad aparente(%)				
Materia seca	60,2	61,2	0,53	0,205
Energía bruta	60,5	61,1	1,39	0,572
Fibra neutro detergente	30,4	30,1	0,60	0,700
Proteína bruta	64,8	65,6	1,01	0,549
Energía digestible (Kcal/kg)	2372	2410	28,2	0,353

<sup>a</sup>P: pienso P (PUFA n-3); C: pienso C (control)

<sup>b</sup>EEM: error estándar de la media (n=10 conejas)

El 100% de las conejas alimentadas con el pienso suplementado con PUFA n-3 ovularon vs. el 90,0% con el pienso control ( $P=0,33$ ). El número medio de CL en la superficie ovárica fue similar en los dos grupos ( $9,6\pm 0,9$  y  $10,1\pm 1,0$  CL en el grupo P y C, respectivamente;  $P=0,686$ ). Estos resultados son similares a los obtenidos en otras especies de ovulación espontánea (Childs et al., 2008). Las concentraciones de progesterona de las conejas de los dos grupos aumentaron significativamente ( $P<0,05$ ) en respuesta a la inducción con GnRH una hora y 5 días después de la inducción de ovulación (0h), manteniéndose al mismo nivel el día 7 y el día 9 (Figura 1). Las conejas alimentadas con el pienso suplementado con PUFA n-3 tendieron a presentar concentraciones de progesterona superiores el día 5 y el día 7 post-inducción a las del grupo C ( $P=0,068$  y  $P=0,082$ ; respectivamente).



**Figura 1.** Evolución de la progesterona plasmática tras la inducción de ovulación con  $20 \mu\text{g}$  de GnRH i.m. en conejas alimentadas con un pienso enriquecido con PUFA n-3 (P) o con pienso comercial (C). (Diferencias entre medias por el efecto dieta, †:  $P=0,068$ ; ‡:  $P=0,082$ ).

A pesar de que los AG n-3 se asocian con bajos niveles de colesterol, precursor de la progesterona, esta última no sólo no se ve afectada sino que incluso puede aumentar porque los AG n-3 inhiben la síntesis de  $\text{PgF}_{2\alpha}$  interviniendo en el metabolismo y síntesis de su precursor, el ácido araquidónico (Cheng et al., 2001, 2005). Otros trabajos en vacuno han demostrado *in vitro* (Mattos et al., 2003) e *in vivo* (Mattos et al., 2004; Childs et al., 2008) que los AG n-3 reducen la acción luteolítica de las  $\text{PgF}_{2\alpha}$  en los primeros días de formación de los CL, favoreciendo que éstos produzcan más progesterona y disminuyan la



mortalidad embrionaria. Resultados similares se han descrito en cerdas (Smits et al., 2010, 2011). De estos resultados se concluye que la suplementación con PUFA n-3 de las dietas de conejas nulíparas no afecta al consumo, a la digestibilidad de los nutrientes ni a su tasa de ovulación, pero mejora los niveles de progesterona en los primeros días tras la inducción de ovulación. Una mayor progesteronemia podría favorecer los mecanismos fisiológicos involucrados en la implantación embrionaria que en la coneja acontecen en torno al día 7 post-cubrición, evitando la consiguiente reabsorción embrionaria temprana. Son necesarios más trabajos para confirmar que la prolificidad de las conejas se puede mejorar con la incorporación de PUFA n-3 en sus dietas.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Association of Official Analytical Chemists International. 2000. *Official Methods of Analysis of the AOAC International*. 17<sup>a</sup> edición. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. Casado, C., Moya, V.J., Fernández, C., Pascual, J.J., Cervera, C. 2010. *World Rab. Sci.* 18: 57-63. • Cheng, Z., Robinson, R.S., Pushpakumara, P.G., Mansbridge, R.J., Wathes, D.C. 2001 *J. Endocrinol.* 171: 463-473. • Cheng, Z.G, Abayasekara, D.R.E., Wathes, D.C. 2005. *Mol. Cell Biol. Lipids* 1736: 128-135. • Childs, S., Carter, F., Lynch, C.O., Sreenan, J.M., Lonergan, P., Hennessy, A.A., Kenny, D.A. 2008. *Theriogenol.* 70: 992-1003. • Fernández, C. Cobos, A., Fraga, M.J. 1994. *J. Anim. Sci.* 72:1508-1515 • Gulliver, C.E., Friend, M.A., B.J. King, Clayton, E.H. 2012. *Animal Reprod. Sc.* 131: 9-22. • Mattos, R., Guzeloglu, A., Badinga, L., Staples, C.R., Thatcher, W.W. 2003. *Biol. Reprod.* 69: 780-787. • Mattos, R., Staples, C.R., Arteché, A., Wiltbank, M.C., Díaz, F.J., Jenkins, T.C., Thatcher, W.W. 2004 *J. Dairy Sc.*, 87: 921-932. • SAS Institute. *SAS/STAT User's Guide (Release 8.2)*. SAS Institute Inc., 2001. • Smits, R.J., Luxford, B.G., Mitchell, M., Nottle, M.B. 2011 Midwest ADSA and ASAS. Des Moines, Iowa. March 14-16, 2011. Abstr. 192. Smits, M., Patterson, J. L., Webel, S.K., O'Donoghue, R.A., Foxcroft, G.R. 2010 Proc. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada-July 18-21, 2010. pp 58.

### DIGESTIBILITY AND OVARIAN RESPONSE OF RABBIT DOES FED SUPPLEMENTED DIETS WITH POLYUNSATURATED FATTY ACIDS n-3

**ABSTRACT:** Twenty rabbit does were fed ad libitum two isofibrous, isoenergetic and isoproteic diets (n=10) supplemented with two different fat sources: 0.75% lard for diet C (control) or 1.5% of a supplement (Optomega-50; Optivite International Ltd., España) containing a 50% of EE and 38% of n-3 polyunsaturated fatty acids for diet P (PUFA n-3). From 10 to 16 weeks of age does feed intake was determined and apparent digestibility of nutrients at 12 weeks of age, ovulation rate and plasma progesterone concentrations at 0, 60 min, 5, 7 and 9 days post-induction after administration of 20 µg of Gonadorelina (Inducel-GnRH, Lab. Ovejero) at 16 weeks of age were assessed. Average daily intake (150.5 g/d), apparent digestibility of DM (60.7±0.53%), NDF (30.2±0.60%), CP (65.2±1.01%) and digestible energy (2391±18.2 Kcal/Kg), ovulation rate (95%), and number of corpora lutea (9.8±0.7) were similar between dietary treatments. Plasma progesterone concentrations increased at 60 minutes (7.13±1.9 ng/ml) and 5 days (13.3±1.9 ng/ml) after induction with respect to day 0 (0.7±1.9 ng/ml;  $P<0.05$ ), remaining constant afterward in both groups (19.4±1.9 ng/ml). However, plasma progesterone of does fed diet P tended to be higher than for diet C on day 5 and 7 post-induction (16.6±1.9 vs.12.6±1.8 and 19.0±1.8 vs. 15.5±2.1 ng/ml,  $P=0.068$  and  $P=0.082$ ; respectively). Therefore, PUFA n-3 supplementation of does rabbit diets might be related with high progesterone levels and reduced early embryo mortality. More research is needed to determine if prolificacy of does rabbit could be improved by feeding n-3 PUFA enriched diets.

Keywords: digestibility, progesterone, PUFA n-3, rabbit

## **INTERFERENCIA DE LAS MUCINAS INTESTINALES EN LA DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL DE LA DIGESTA EN CONEJOS**

Abad-Guamán R., Romero C., Carabaño R., García J.

Dpto. de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid.

Dirección de contacto: javier.garcía@upm.es

### **INTRODUCCIÓN**

Las mucinas son glicoproteínas secretadas por la mucosa intestinal resistentes a la digestión por las enzimas endógenas del animal, están constituidas mayoritariamente por hidratos de carbono (>70%. Mantle y Takore, 1988) y su cuantificación se basa en su precipitación en etanol (Lien et al., 1997). Es un método sencillo y práctico, pero no es muy específico pues el residuo puede estar contaminado con proteínas unidas covalentemente, aunque su importancia cuantitativa parece ser limitada (Leterme et al., 1996, 1998ab), y fibra soluble, pues también precipita en etanol. De acuerdo con Libao-Mercado y Lange (2007) la utilización de este método sería más adecuada en muestras de contenido digestivo que en muestras de mucosa intestinal. La determinación de la concentración de fibra dietética total (FDT) en la digesta ileal podría estar sobrevalorada por la presencia de mucinas intestinales, dado que el etanol que se utiliza en la determinación de la FDT, para precipitar la fibra dietética soluble (FDS), también podría precipitar las mucinas. Este hecho podría explicar la obtención de valores de digestibilidad de FDT y de FDS más bajos de lo esperado o incluso negativos (Graham et al., 1986; Gidenne et al., 1992; Wilfart et al., 2007). De la misma manera, la cuantificación de las mucinas intestinales podría estar sobrevalorada debido a la precipitación de FDS. Los objetivos de este trabajo fueron i) confirmar la presencia de mucinas en la digesta ileal y fecal del conejo, ii) estudiar la forma de cuantificarlas libres de fibra soluble, iii) proponer una corrección para la determinación de FDT libre de mucinas en digesta, y iv) estudiar qué efecto tiene el tratamiento con pectinasa sobre el contenido en FDT de las pectinas de remolacha y manzana.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Dada la ausencia de un estándar de mucinas de conejo se tomó como referencia una muestra de moco del yeyuno, libre de digesta, obtenida de un conejo afectado por enteropatía epizoótica. Como fuentes de FDT se eligieron las pectinas de pulpa de remolacha (classic RU 301. Herbstreith & Fox), la lignocelulosa (Arbocel RC fine) y un pienso con un 26% de pulpa de remolacha (8,2% de FDS medida como FDT-aFNDmo-pb). Finalmente se tomó una muestra de digesta ileal y fecal de una coneja adulta canulada en ileon. Se determinó el contenido de mucinas en todas las muestras de acuerdo con el método de Lien et al. (1997), adaptado por Romero et al. (2011), basado en la precipitación de las mismas en etanol. El residuo obtenido fue tratado con pectinasa (10 ml de tampón fosfato a 25 °C con 10 unidades de pectinasa Sigma P2401 e incubación durante la noche) para eliminar el residuo potencial de FDS que pudiera haber precipitado, se volvió a precipitar con etanol. Sobre el residuo de mucinas de las muestras animales se cuantificó el contenido en proteína. Por otra parte, se determinó el contenido en FDT en el moco de conejo. También se determinó la FDT en las pectinas de pulpa de remolacha y manzana (classic AU 201. Herbstreith & Fox), tanto directamente como en muestras a las que se les trató antes de la precipitación final con pectinasa (se añadieron 10 unidades de pectinasa Sigma P2401 y se incubó durante la noche a pH 4.5 y 25 °C) tras la digestión con amilasa, proteasa y amiloglucosidasa. La metodología de la AOAC (2000) se utilizó para determinar la MS (934.1), proteína bruta (968.06) y FDT (985.29).

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Las pectinas de pulpa de remolacha, que son casi en su totalidad fibra soluble, mostraron un valor elevado de mucinas (709 g/kg MS), comparable al del moco de conejo (739 g/kg MS. Tabla 1). También se detectaron mucinas en el pienso con pulpa que llevaba remolacha y en la lignocelulosa, si bien en esta última en menor proporción posiblemente debido a su menor contenido en fibra soluble. Estos resultados muestran la falta de especificidad de la

determinación de mucinas mediante precipitación con etanol. Con el fin de evitar la presencia de fibra soluble los residuos de estas muestras se trataron con pectinasa. El residuo que quedó fue próximo a cero en el caso de los alimentos, debido a la hidrólisis de las pectinas lo que evitó su precipitación, mientras que en el caso del moco permaneció prácticamente inalterado (Tabla 1). El efecto del tratamiento con pectinasa fue superior en la muestra ileal que en la fecal (Tabla 1), probablemente debido al menor contenido en FDS en esta última. El contenido en proteína de las mucinas aisladas en ileon y heces fue de un 24,3 y un 21,7% MS, respectivamente. De acuerdo con estos resultados es recomendable realizar un tratamiento con pectinasa cuando se determinen mucinas en muestras que puedan contener fibra soluble. Esta adaptación del método no contempla la eliminación de otros compuestos, como proteínas, que también pueden contaminar el residuo de mucinas intestinales (Piel et al., 2004), pero su eliminación es más compleja (Libao-Mecado y Lange, 2007).

El contenido en FDT del moco de conejo fue de 571 g/kg MS debido a su precipitación con el etanol utilizado en esta metodología. Dada la ausencia de mucinasas comerciales que podrían permitir la hidrólisis de las mucinas en el residuo de FDT, se requiere estudiar alguna forma de descontar el contenido de mucinas del valor de FDT. Para el caso de una muestra de digesta se puede estimar el contenido de moco de la misma a partir de los datos de la Tabla 1, y sabiendo la proporción de moco que es recogida en el residuo de FDT se propone la siguiente corrección para la FDT de la digesta:

$$\text{FDT}_{\text{Digesta corregido}} (\text{g/kg MS}) = \text{FDT}_{\text{digesta}} (\text{g/kg MS}) - \text{FDT}_{\text{moco}} (\text{g/kg MS}),$$

La FDT procedente del moco se calcula como:

$$\text{FDT}_{\text{moco}} = \text{Moco en la digesta} (\text{g/kg MS}) \times 0,571$$

A su vez, el moco de la digesta se calcula como:

Moco de la digesta = Mucinas de la digesta (g/kg MS) / 0,739, donde las mucinas se determinan de acuerdo con Romero et al. (2011).

Dado que la FDT<sub>digesta</sub> está corregida por proteína hay que expresar la FDT<sub>moco</sub> libre de proteína. Finalmente, se comprobó cómo la determinación de la FDT de las pulpas de remolacha y de manzana se vio muy afectada por el tratamiento con pectinasa, debido a que la reducción de su peso molecular evitó su precipitación (Tabla 2) (Ku et al., 2003). Este hecho tiene relevancia, dado que las pectinas en la digesta ileal del conejo están en contacto con pectinasas (Marounek et al., 1995), pudiendo ser este un factor de sobreestimación de la digestibilidad ileal y fecal de la fibra soluble.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis 17th ed. AOAC, Washington, DC.
- Gidenne, T. 1992. Br. J. Nutr. 67, 133-146.
- Graham, H., Hesselman, K. & Aman, P. 1986. J. Nutr. 116(2):242-251
- Ku, Y., Jansen, O., Oles, C.J., Lazar, E.Z. & Rader, J.I., 2003. Food. Chem. 81, 125-132.
- Lien, K. A., Sauer, W.C. & Fenton., M. 1997. Z. Ernährungswiss. 36:182-190
- Leterme, P., Thewis, A., François, E., van Leeuwen, P., Wathélet, B., Huisman, J., 1996. J. Nutr. 126:2188-2199.
- Leterme P, Froidmont, E., Rossi, F., Thewis, A. 1998a. J. Agric. Food Chem. 46, 1927-1934.
- Leterme, P., Seve, B., Thewis, A. 1998b. J. Nutr. 1961-1968.
- Libao-Mercado, A.J., de Lange, C.F.M. Livest. Sci. 109, 141-144.
- Mantle, M. & Takore, E. 1988. Bioche. Cell Biol. 66: 1045-1054
- Marounek, M., Vovk, S. and Skrivanová. Br. J. Nutr. 73, 463-469.
- Piel, C., Montagne, L., Salgado, P., Lalles, J.P., 2004. Reprod. Nutr. Dev. 44, 419-435
- Romero, C., Nicodemus, N., Rodriguez, J.D., García, A.I. & de Blas, C., 2011. J. Anim. Sci. 89, 2472-2484
- Wilfart, A., Montagne, L., Simmins, P. H., Van Milgen, J. & Noblet, J. 2007. J. Anim. Sci. 85 (4) 976-983.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL2008-00627, por la Comunidad de Madrid S2009/AGR-1704y una beca dela SENESCYT-Ecuador.

**Tabla 1.** Determinación del contenido aparente de mucinas por el método de precipitación con etanol<sup>a</sup>.

Muestras	Mucinas, g/kg MS (CV <sup>b</sup> )	Mucinas purificadas con pectinasa, g/kg MS (CV)
Moco de yeyuno de conejo	739 (7,11)	726(6,94)
Contenido ileal de conejo	86,4 (14,9)	74,6 (13,3)
Heces de conejo	10,7 (17,1)	10,3 (20,2)
Pectinas de pulpa de remolacha	709 (9,94)	1,77(19,5)
Pienso con pulpa de remolacha	50,1 (11,3)	0,16(18,5)
Lignocelulosa	5,52 (16,6)	--- <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Muestras realizadas por triplicado. <sup>b</sup>CV: coeficiente de variación expresado en %. <sup>c</sup>No se realizó debido a la pequeña cantidad de residuo.

**Tabla 2.** Fibra dietética total (FDT) realizada con y sin pectinasa en pulpas de remolacha y manzana (media ± desviación estándar).

Muestras	FDT sin pectinasa, g/kg MS ±de	FDT con pectinasa, g/kg MS ±de
Pectinas de pulpa de remolacha	980 ± 9,82	34,7 ± 24,1
Pectinas de pulpa de manzana	930 ± 5,48	37,8 ± 22,3

### INTERFERENCE OF INTESTINAL MUCINS IN THE DETERMINATION OF TOTAL DIETARY FIBRE OF DIGESTA IN RABBITS

**ABSTRACT:** The aim of this work was to study the potential interference between intestinal mucin and the determination rabbit digesta of total dietary fibre (TDF). Apparent crude mucin was determined in rabbit jejunal raw mucus (free of digesta), ileal digesta, faeces, and three ingredients free of crude mucin [sugar beet pulp pectin, diet containing 26% sugar beet pulp (SBP) and lignocellulose]. After crude mucin analysis the residue obtained from each sample was treated enzymatically with a pectinase to eliminate potential contamination of mucin with soluble fibre. Raw mucus was analyzed for TDF. Raw mucus and SBP pectin showed a similar content in crude mucin (739 and 709 g/kg DM, respectively), but when this residue was treated with pectinase the value for SBP pectin decreased up to 1.8 g/kg DM but remained almost unchanged for raw mucus (726 g/kg DM). Positive but much lower mucin values were also recorded for the diet and lignocelluloses, but they became close to zero after pectinase treatment. Faeces contained lower mucin concentration than ileal digesta (10.7 vs. 86.4 g/kg DM, respectively) and the pectinase barely modified faecal mucins but reduced those of ileal digesta (10.3 vs 74.6% g/kg DM) probably due to its higher soluble fibre content. Protein content of ileal and faecal mucins were 24.3 and 21.7% DM, respectively. Raw mucus contained 571 gTDF/kg DM. The mucin content retained in ileal/faecal TDF might be estimated as: ileal/faecal mucin concentration divided by 0.739 (to obtain the total raw mucus in ileal/faecal digesta), discounted its protein content (as TDF is expressed free of protein), and then multiplying this value by the proportion of mucins retained in TDF analysis (x 0.571).

**Keywords:** intestinal mucin, total dietary fibre, soluble dietary fibre, rabbits.

## EFFECTO DEL TIPO DE MUESTRA ILEAL UTILIZADA (INDIVIDUAL vs. MEZCLA UNICA) Y DEL TIPO DE FIBRA SOBRE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL EN CONEJOS

Abad-Guamán R., Carabaño R., Gómez-Conde M.S., García J.

Dpto. de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid.

Dirección de contacto: javier.garcia@upm.es

### INTRODUCCIÓN

La determinación de la digestibilidad ileal en conejos se realiza obteniendo la digesta ileal mediante el sacrificio del animal (Gutiérrez et al., 2001) o utilizando conejas canuladas a nivel ileal (Gidenne et al., 1988; Merino et al., 1992; García et al., 2004). La ventaja de utilizar conejas canuladas es que se puede muestrear varias veces y obtener suficiente cantidad de digesta ileal para realizar los análisis de interés, pero tiene el inconveniente de tener que colocar quirúrgicamente las cánulas en el ileon, esperar el periodo de recuperación y, por tanto, la dificultad práctica de hacerlo en animales jóvenes. Por el contrario, la ventaja de obtener la digesta ileal mediante sacrificio es poder realizar el estudio a edades tempranas, en donde la operación no es viable, al requerir de un periodo para la recuperación del animal. Sin embargo, tiene la desventaja de que se obtiene una cantidad de muestra pequeña, por lo que hay que sacrificar un número mayor de animales y mezclar el contenido de distintos animales, e incluso mezclar el contenido de todos los animales de un tratamiento, para poder realizar todos los análisis de interés. La mezcla de muestras también reduciría el número de análisis y su coste. Por lo tanto, es necesario confirmar que los resultados obtenidos al analizar una muestra única de digesta ileal para cada tratamiento, procedente de la mezcla de todos los animales de ese tratamiento, frente a los realizados con muestras individuales son equivalentes.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se formularon 3 dietas experimentales de conejos con un nivel de fibra soluble bajo (8,5% BFS), medio (10,2% MFS) y alto (14,5% AFS), obtenido incluyendo cantidades crecientes de pulpa de remolacha y manzana, y todas ellas con un 0.5% de alfalfa lavada marcada con iterbio (Tabla 1). Treinta conejas adultas canuladas a nivel ileal y con un peso vivo de  $4555 \pm 79$  g (media  $\pm$  sd) fueron asignadas al azar a los 3 piensos experimentales (10 conejas/pienso). Se alojaron individualmente en jaulas metabólicas y fueron alimentadas *ad libitum* con los piensos experimentales durante 18 días. En ese momento, se recogió el contenido ileal durante una hora a partir de las 19:00 h en dos días consecutivos. Las muestras recolectadas fueron congeladas y liofilizadas. Posteriormente se tomó un gramo de cada contenido ileal para hacer una sola mezcla por tratamiento. En las muestras de contenido ileal individual se determinó su concentración en iterbio. Tanto en las muestras individuales como en la muestra única generada para cada tratamiento se determinó su contenido de PB, fibra dietética total (FDT), fibra dietética insoluble (FDI), aFND<sub>mo-PB</sub> (FND realizada con amilasa y corregida por cenizas y proteína) e *i*vMSi2 (residuo indigestible de la digestión *in vitro* 2 pasos de la materia seca corregido por cenizas y proteína). La digestibilidad ileal se realizó utilizando para cada animal su valor individual de iterbio así como la composición química de la muestra individual de cada animal o bien la muestra ileal única del tratamiento. Las metodologías de la AOAC (2000) fueron usadas para determinar la MS (934,1), PB (968,06) y FDT y FDI (985,29). La aFND<sub>mo-PB</sub> fue determinada usando el sistema de bolsas ANKOM y expresado libre de cenizas y proteína. El *i*-*i*vMSi2 fue realizado en bolsas ANKOM (Abad et al., 2011). La fibra soluble fue calculada de tres formas mediante la diferencia entre la FDT y las distintas determinaciones de fibra insoluble (FDI, aFND<sub>mo-PB</sub>, e *i*vMSi2). La FDT fue corregida por mucinas (de acuerdo con lo descrito en estas jornadas por Abad et al., 2013) y por tanto, también lo fueron las determinaciones de fibra soluble. Los resultados fueron analizados con un modelo de medidas repetidas de simetría compuesta y varianzas heterogéneas considerando la dieta, el tipo de muestra (factor de repetición) y su interacción como efecto principal, usando el procedimiento MIXED del SAS. Las medias fueron comparadas a través de un t-test protegido.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestra la digestibilidad ileal de la PB, FDT, fibra insoluble (FDI,  $aFND_{mo-PB}$  y  $iMMSi_2$ ) y fibra soluble (FDT-FDI, FDT-  $aFND_{mo-PB}$  y FDT-  $iMMSi_2$ ). Los resultados que se muestran derivan del modelo con varianzas heterogéneas en función del tipo de muestra, dado que fue el que tuvo valores menores de los criterios de información bayesiano y de información de Akaike. Por este motivo se muestran dos errores estándar distintos para cada tipo de muestra (individual vs. Mezcla). El error estándar no se ve modificado por el tipo de muestra en el caso de la digestibilidad ileal de la PB y la FDT, mientras que tiende a aumentar y a disminuir moderadamente en el caso de las digestibilidades ileales de la fibra insoluble y soluble, respectivamente. Estas pequeñas diferencias en el error estándar en función del tipo de muestra no modificaron los efectos observados. El tipo de muestra (individual vs. colectiva) y la interacción tipo de muestra x tipo de fibra no tuvieron efecto alguno sobre la digestibilidad ileal ( $P \geq 0,83$ ), lo que confirma la posibilidad de utilizar muestras únicas por tratamiento, cuando no haya suficiente cantidad de muestra, sin que se modifiquen los resultados. La correlación entre la digestibilidad realizada analizando las muestras individuales, o las determinadas usando las mezclas variaron entre 0,46 y 0,92, y todas las pendientes de las regresiones de cada determinación realizada con la muestra individual frente a la realizada con la muestra colectiva no fueron diferentes de 1 ( $P \geq 0,15$ ), excepto para la digestibilidad de la FDT, FDI y FND. Por el contrario, el tipo de fibra mostró un efecto altamente significativo sobre la digestibilidad ileal ( $P \leq 0,002$ ). La digestibilidad de la FDT, fibra insoluble y fibra soluble (independientemente de cómo se determinasen) fue positiva a nivel ileal y aumentó con el nivel de fibra soluble del pienso debido al incremento de pulpa de remolacha y manzana. Únicamente la digestibilidad ileal de la fibra soluble medida como FDT-FDI para el pienso LSF no fue distinta de cero.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, R., García, J., Ibañez, M., Rodríguez, J.D., Menoyo, D. & Carabaño, R. 2011. AIDA. 978-84-615-0062-p. 201-203
- Abad, R., Romero, C., Carabaño, R., García, J. 2013. AIDA.
- Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis 17th ed. AOAC, Washington, DC.
- Carabaño, R., García, J., De Blas, C. 2001. Anim. Sci. 72, 343-350.
- García, A.I., de Blas, J.C. & Carabaño, R., 2004. Anim. Sci. 79, 231-240.
- Gidenne, T., Bouyssou, T., Ruckebusch, Y. 1988. Anim. Prod. 46, 147-151.
- Gutiérrez, I., Espinosa, A., García, J., Carabaño, R., De Blas, C. 2002. J. Anim. Sci. 80, 1029-1037
- Merino, J., Carabaño, R. 1992. J. Appl. Rab. Res. 15, 931-937.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL2008-00627, la Comunidad de Madrid S2009/AGR-1704 y una beca de la SENESCYT-Ecuador.

## EFFECT OF TYPE OF ILEAL SAMPLE (INDIVIDUAL vs. COLLECTIVE) AND TYPE OF FIBRE ON ILEAL DIGESTIBILITY IN RABBITS

**ABSTRACT:** The aim of this work was to confirm that the determination of ileal digestibility can be determined using pooled samples of ileal digesta (one sample per treatment) compared to the use of single samples (reference method) and using in both cases the individual ileal Yb concentration to calculate apparent ileal nutrient digestibility. Three experimental diets were formulated with a low, medium and high soluble fibre content (8.5, 10.2 and 14.5 % SF calculated as TDF-NDF), and including 0.5 alfalfa fibre mordanted with Yb. Thirty caudated rabbit does at terminal ileum ( $4555 \pm 79$  g) were randomly assigned to experimental diets and fed the experimental diets for 18 d. Ileal samples were then collected from 19 h onwards for 1 h during two consecutive days. One gram of each rabbit of each treatment were mixed all together to obtain one collective sample per treatment. Yb and dietary components were analyzed in single and collective samples (CP, TDF, insoluble and soluble fibre). Ileal digestibility was determined using individual Yb concentrations in ileal digesta and the composition of individual or common-pooled samples. A repeated

measurements analysis was performed fitting a compound symmetry structure with heterogeneous variances as they showed a lower AIC and BIC values. Type of sample did not modify the standard error of ileal digestibility of CP (0.83 vs. 0.91) and TDF (1.10 vs. 1.10), but it increased and decreased moderately for insoluble (1.27 vs. 1.61) and soluble fibre digestibility (2.19 vs. 1.28). These small differences in the standard error did not modify the effects detected. Type of sample (individual vs. collective) and the interaction type of sample x type of fibre were not significant for any trait studied ( $P \geq 0.83$ ) and confirmed that collective pooled samples can be used to determine nutrient ileal digestibility with no modification of results. The increase of dietary SF increased ileal TDF, insoluble and soluble fibre digestibility ( $P \leq 0.002$ ).

**Keywords:** individual ileal sample, pooled ileal sample, ileal digestibility, type of fibre, rabbit

**Tabla 1.** Composición de los piensos experimentales.

	LSF	MSF	HSF
Ingredientes, %			
Heno de alfalfa	13,9	28,3	13,9
Cascarilla de avena	14,7	—	—
Pulpa de remolacha	—	2,3	15,0
Pulpa de manzana	—	—	5,0
Concentrado de soja	2,0	—	—
Cascarilla de girasol	4,4	6,0	4,4
Manteca de cerdo	3,3	2,3	0,5
Cloruro de sodio	0,5	0,6	0,4
Carbonato de calcio	0,6	—	0,2
Otros <sup>1</sup>	60,6	60,5	60,6
Composición química, % de MS			
Proteína bruta	19,4	19,8	19,8
Almidón	21,1	20,8	20,5
Fibra dietética total	41,4	40,9	43,5
Fibra Insoluble			
Fibra dietética insoluble	33,6	30,9	30,4
aFND <sub>mo-pb</sub>	32,9	30,7	29,0
i-vMSi <sub>2</sub>	31,8	30,9	30,2
Fibra soluble			
FDT-FDI	7,8	10,0	13,2
FDT- aFND <sub>mo-PB</sub>	8,5	10,2	14,5
FDT- i-vMSi <sub>2</sub>	9,6	10,0	13,3

<sup>1</sup>Trigo termo-tratado 32,3; Salvado de trigo 8,4; Harina de girasol 7,1; Harina de soja 11,1; Heno de alfalfa - Yb 0,5; L-Lisina HCl 0,4; DL-Metionina 0,1; L-Treonina 0,15; Pre-mezcla vitamínico-mineral 0,5.

**Tabla 2.** Efecto del tipo de muestra ileal (muestra individuales vs. mezcla única por tratamiento) y del tipo de fibra sobre la digestibilidad ileal en conejos.

Tipo de muestra	Individual				Mezcla única				P valor		
	LSF	MSF	HSF	EEM	LSF	MSF	HSF	EEM	Tipo de fibra	Muestra	Muestra x Tipo de fibra
<i>Digestibilidad ileal, %</i>											
PB	63,3	58,1	57,9	0,83	63,3	58,1	57,7	0,91	<0,001	0,95	0,99
FDT <sup>2</sup>	10,8	15,1	28,1	1,10	10,6	15,0	27,5	1,10	<0,001	0,85	0,99
Fibra insoluble											
FDI	12,6	14,7	20,7	1,04	12,5	14,6	20,0	1,49	0,002	0,85	0,99
aFND <sub>mo-PB</sub> <sup>3</sup>	11,6	12,6	21,4	0,98	11,4	12,4	20,6	1,49	<0,001	0,84	0,99
i-vMSi <sub>2</sub>	8,59	12,8	20,0	1,79	8,51	12,9	19,8	1,84	<0,001	0,97	0,99
Fibra soluble											
FDT - FDI	2,37	15,7	44,7	2,13	2,19	15,8	44,4	1,44	<0,001	0,90	0,96
FDT-aNDF <sub>mo-PB</sub> <sup>2</sup>	7,77	22,6	41,4	1,67	7,39	22,8	41,2	1,22	<0,001	0,93	0,99
FDT - i-vMSi <sub>2</sub>	15,2	19,4	44,4	2,76	14,6	18,6	42,9	1,17	<0,001	0,83	0,99

<sup>1</sup>n = 10; <sup>2</sup>FDT y fibra soluble corregidas con mucinas; <sup>3</sup>aFND<sub>mo-PB</sub>: Fibra neutro detergente realizado con amilasa y corregida por cenizas y PB; <sup>4</sup>i-vMSi<sub>2</sub>: residuo indigestible *in vitro* 2 pasos (ileal), corregido por cenizas y PB. BFS: baja fibra soluble. MSF: media FS. AFS: alta FS.

## EFFECTO DEL NIVEL DE SUPLEMENTACIÓN DE ENZIMAS SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE CONEJOS EN CRECIMIENTO

Crespo, R.<sup>1</sup>, Alfonso, C.<sup>1</sup>, Marco, M.<sup>2</sup>, Nicodemus, N.<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Poultry and Rabbit Research Centre, Nutreco, Casarrubios del Monte, 45950, Toledo

<sup>2</sup>NANTA S.A., Ronda de Poniente, 9, 28760, Tres Cantos, Madrid

<sup>3</sup>Departamento de Producción Animal, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid. \*[nuria.nicodemus@upm.es](mailto:nuria.nicodemus@upm.es)

### INTRODUCCIÓN

Actualmente, el incremento de la incidencia de patologías digestivas en conejos jóvenes (Carabaño et al., 2008; de Blas et al., 2012), el encarecimiento de las materias primas, y el uso, cada vez más común, de subproductos en los piensos de conejos, podrían hacer interesante la utilización de enzimas para mejorar la digestibilidad, los rendimientos productivos y la salud de los gazapos en crecimiento (Falcao-e-Cunha et al., 2007). Los estudios sobre la utilización de enzimas en cunicultura son escasos y en muchas ocasiones, los resultados son contradictorios. En algunos trabajos, la suplementación enzimática mejora la mortalidad, la digestibilidad de algunos nutrientes y/o los rendimientos productivos (Gutiérrez et al., 2002; Cahaldora et al., 2004; Eiben et al., 2004; García-Ruiz et al., 2006). Sin embargo, en otros estudios (Sequeira et al., 2000; Falcao-e-Cunha et al., 2004, García-Palomares et al., 2006) no se observaron mejoras con la adición de enzimas sobre ninguno de estos parámetros. Por otra parte, los trabajos que estudian el efecto del suministro de enzimas sobre el rendimiento de la canal son escasos (Shanmuganathan et al., 2004; Abaza y Omara, 2011). El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto del nivel de suplementación de un compuesto multi enzimático sobre los rendimientos productivos y características de la canal de conejos en crecimiento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el *Poultry and Rabbit Research Centre* de Nutreco (Toledo). Se utilizaron un total de 360 gazapos destetados a 34 días de edad, alojados en jaulas individuales (25x44cm) que fueron asignados al azar a cinco tratamientos. Los piensos se obtuvieron a partir de una ración basal (PB: 15,8%; Almidón: 16%; FND: 31,6%; EB: 4319 Kcal/kg) formulada en base a las recomendaciones de Blas y Mateos (2010), a la que se le suplementó de forma creciente un complejo enzimático comercial (100, 200, 400 y 800 ppm) con una actividad de 100 XU/g de pentosanasa, 40 CMC/g de celulasa, 30 FAU/g de amilasa, 100 XU/g de xilanasa, 700 HUT/g de proteasa, 4000 AJDU/g de pectinasa y 200 BGU/g de  $\beta$ -glucanasa. Se controló el consumo y el peso de los animales en dos periodos, de 34 a 48 días y de 49 a 60 días de vida. Al final de cebo se sacrificaron y se controló el peso de la canal, así como el peso del tracto digestivo completo, hígado, ciego y estómago lleno y vacío. Los datos se analizaron como un diseño completamente al azar, bloqueando por camada y corrigiendo las medias incluyendo el peso inicial como covariable. El análisis estadístico de todas las variables ha sido realizado utilizando una regresión lineal y cuadrática con el procedimiento GLM de SAS vs 9.2 (Statistical Systems Institute Inc., 2002).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo global de cebo, de 34 a 60 días de edad, la adición de distintos niveles de enzimas no afectó significativamente a ninguno de los parámetros estudiados. Sin embargo, en la primera fase del cebo (de 34 a 48 d), la suplementación enzimática mejoró linealmente ( $P < 0,05$ ) el índice de conversión (IC), sin afectar a al consumo (CMD) ni a la ganancia media diaria (GMD) (Tabla 1). En varios trabajos ya se ha puesto de manifiesto que la suplementación con enzimas tiene un efecto positivo sobre la eficacia alimenticia (Gutiérrez et al., 2002; Eiben et al., 2004; Cahaldora et al., 2004), especialmente en las primeras etapas del periodo de engorde. Este efecto se explicaría por una utilización más eficaz de los nutrientes (Gutiérrez et al., 2002; García et al., 2006), especialmente en los animales jóvenes, en los que su actividad enzimática endógena se va desarrollando con la



edad (Dojana et al., 1998). Otros autores (Attia et al., 2012) han encontrado un efecto beneficioso de las enzimas sobre la integridad de la mucosa intestinal, lo que también estaría relacionado con una mejora de la digestibilidad y de la eficacia alimenticia. En nuestro trabajo, no hubo ninguna baja por mortalidad a diferencia de lo observado por Gutiérrez et al. (2002) y Cachaldora et al. (2004), en donde la mortalidad en los tratamientos con enzimas se redujo alrededor de un 50% con respecto al control. Las óptimas condiciones experimentales en este estudio podrían haber limitado el efecto positivo de las enzimas, como también detectaron Cachaldora et al. (2004) en un primer experimento donde no hubo mortalidad. En la segunda fase del periodo de engorde (de 49 a 60 d), tanto el IC como la GMD variaron de forma cuadrática ( $P < 0,05$ ) con nivel de inclusión del complejo enzimático, siendo el nivel óptimo para ambos parámetros 400 ppm/kg (Tabla 2). Un resultado similar obtuvieron Attia et al. (2012), que a dosis altas (750 ppm) de un compuesto multi-enzimático, observaron que empeoró el peso vivo de los conejos a las ocho semanas de vida. Estos resultados indicarían que existe una dosis óptima de suplementación enzimática en función de la concentración de sustrato, como ya han señalado algunos autores (Fraihia et al., 1997).

En lo que respecta a las características de la canal, el efecto de las enzimas sólo resultó significativo ( $P < 0,05$ ) para el peso del aparato digestivo relativo al peso vivo del animal, que aumentó de forma lineal con la dosis de suplementación. Este resultado coincide con el obtenido por Abaza y Omara (2011) que aunque, al igual que en este trabajo, no encontraron efectos sobre el rendimiento de la canal, sí que observaron que los conejos alimentados con piensos con enzimas tuvieron un mayor peso del tracto digestivo, probablemente porque las enzimas y/o la mejora de la digestibilidad podrían estimular el desarrollo del intestino.

De los resultados de este trabajo se puede concluir que en las fases iniciales de cebo se requerirían dosis más elevadas (800 ppm) del complejo enzimático para optimizar el índice de conversión, mientras que en la segunda mitad del periodo de engorde una dosis de 400 ppm de este complejo enzimático sería suficiente para maximizar la eficacia alimenticia y el crecimiento de los conejos, sin efectos negativos sobre el rendimiento de la canal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abaza, I.M., y Omara, M.E. 2012. *J. Product.*, 17(1): 105-125.
- Attia, K.A., Sohair, Y. Saleh, S., El-hamidSafaa, Abd., ZakiAmal, A., El-Sawy Mohamed, A. 2012. *J. of Agri. Sci.* Vol. 4, 3: 35-44
- Cachaldora, P. Nicodemus, N., García, J., Carabaño, R., De Blas, J.C. 2004. *World Rabbit Sci.* 12: 23-31.
- Carabaño, R., Badiola, I., Chamorro, S., García, J., García-Ruiz, A.I., García-Rebollar, P., Gómez-Conde, M.S., Gutiérrez, I., Nicodemus, N., Villamide, M.J., De Blas, J.C. 2008. *Span. J. Agric. Res.* 6: 15–25.
- De Blas, J.C., Mateos, G.G. *The Nut. Of the Rabbit* (ed. J.C. de Blas and J. Wiseman), pp. 222-232. Commonwealth Agricultural Bureau, Wallingford, UK. 2010.
- De Blas, J.C., Chamorro, S., García-Alonso, J., García-Rebollar, P., García-Ruiz, A.I., Gómez-Conde, M.S., Menoyo, D., Nicodemus, N., Romero, C., Carabaño, R. 2012. *Anim. Feed Sci. Technol.* 173: 102–110.
- Dojana, N., Costache, M., Dinischiotu, A. 1998. *Anim. Sci.* 66: 501-507.
- Eiben, C.S., Mézes, M., Zijártó, N., Kustos, K., Gódor-Surmann, K., Erdélyi, M. 2004. In *Proc: 8<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, Puebla, México, 799-804.
- Falcão-e-Cunha, L., Reis, J., Freire, J.B., Castro-Solla, L. 2004. In *Proc.: 8<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, Puebla, México: 1532-1537.
- Falcão-e-Cunha, L., Castro-Solla, L., Maertens, L., Marounek, M., Pinheiro, V., Freire, J., Mourao, J.L. 2007. *World Rabbit Sci.* 15:127-140
- Fraihia, M., Furlan, A.C., Murakami, A.E. 1997. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.26, p.765-772.
- García-Palomares, J., Carabaño, R., García-Rebollar, P., de Blas, C., García Ruiz, A.I., 2006. *World Rabbit Sci.* 14: 23-26.
- García-Ruiz, A.I., García Palomares, J., García-Rebollar, P., Chamorro, S., Carabaño, R., de Blas, C. 2006. *Span. J. Agric. Res.* 4: 297-303
- Gutiérrez, I., Espinosa, A., García, J., Carabaño, R., De Blas, J.C. 2002. *Anim. Feed Sci. Technol.* 98: 175-186
- Sequeira J., Nicodemus N., Carabaño R., Villamide M.J. 2000. In *Proc.: 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress*. Valencia, Spain, 437-444.
- Shanmuganathan, T., Samarasinghe, K., Wenk, C. 2004. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* vol 17, 5: 678-683.

## EFFECT OF ENZYME SUPPLEMENTATION LEVEL ON PERFORMANCE OF GROWING RABBITS

**ABSTRACT:** The aim of this work was to study the effect of different supplementation doses of a multi enzyme complex on growth performance and carcass characteristics of growing rabbits. A total of 360 kits were weaned at 34 days of age, housed in individual cages that were randomly assigned to five treatments. A basal ration was formulated (CP: 15.8%; Starch: 16%; NDF: 31.6% CE: 4319 Kcal/kg), which was increasingly supplemented by a commercial enzyme complex (100, 200, 400 and 800ppm) with an activity of 100 XU/g pentosanase, 40 CMC/g of cellulase, 30 FAU/g amylase, 100 XU/g of xylanase, 700 HUT/g of protease, 4000 AJDU/g of pectinase and 200 BGU/g of  $\beta$ -glucanase. Feed intake and the animal weight from 34 to 48 and from 49 to 60 days of life were controlled. At the end of the fattening period, rabbits were slaughtered and the carcass weight and the weight of the entire digestive tract, liver, full stomach, empty stomach, full cecum and empty cecum were measured. In the first fattening period, enzyme supplementation improved linearly ( $P < 0.05$ ) the conversion rate (CR), without affecting the intake (DFI) or average daily gain (ADG). In the second phase, both the CR and ADG varied quadratically ( $P < 0.05$ ) with the enzyme complex supplementation, being the optimum level for both: 400 ppm/kg.

**Keywords:** growing rabbits, enzymes, performance, carcass characteristics

**Tabla 1:** Efecto de la suplementación creciente de enzimas (100, 200, 400 y 800 ppm) sobre los parámetros productivos de gazapos de 34 a 60 días de edad.

	Basal (B)	B+ 100ppm	B+ 200ppm	B+ 400ppm	B+ 800ppm	P-valor		EEM <sup>1</sup>
						L	Q	
<i>1ª fase de 34 a 48 d</i>								
Peso 34 d, g	818	802	814	796	820	NS	NS	16,8
Peso 48 d, g	1680	1657	1645	1666	1679	NS	NS	12,0
GMD, g/d	61,6	60,0	59,1	60,6	61,5	NS	NS	0,82
CMD, g/d	125	120	120	121	122	NS	NS	1,50
IC	2,03	2,01	2,04	2,00	1,99	<0.05	NS	0,02
<i>2ª fase de 49 a 60 d</i>								
Peso 60 d, g	2295	2287	2264	2315	2300	NS	NS	16,0
GMD, g/d	51,3	52,4	51,6	54,1	51,7	NS	<0,05	0,69
CMD, g/d	164	167	166	166	168	NS	NS	1,90
IC	3,21	3,19	3,23	3,08	3,26	NS	<0,05	0,04

<sup>1</sup>EEM: Error estándar medio (n = 72); GMD: ganancia media diaria; CMD: Consumo medio diario; IC: Índice de Conversión.

**Tabla 2:** Efecto de los distintos tratamientos sobre las características de la canal.

	Basal (B)	B+ 100ppm	B+ 200ppm	B+ 400ppm	B+ 800ppm	P-value		EEM <sup>1</sup>
						L	Q	
Peso canal, g	1271	1254	1262	1254	1262	NS	NS	8,00
Rendimiento canal, %	53,9	53,2	53,6	53,2	53,6	NS	NS	0,33
Peso del digestivo, %PV	17,3	17,9	17,5	18,1	18,1	<0,05	NS	0,26
Peso del hígado, %PV	4,17	4,18	4,38	4,23	4,25	NS	NS	0,11
Estómago lleno, %PV	4,25	4,61	4,19	4,59	4,57	NS	NS	0,14
Estómago vacío, %PV	0,88	0,96	0,94	0,94	0,95	NS	NS	0,02
Ciego lleno, %PV	6,54	6,70	6,90	6,76	6,85	NS	NS	0,17

<sup>1</sup>EEM: Error estándar medio (n = 72); PV: Peso Vivo.

## VARIACIÓN DE LA RESPUESTA A LA AVERSIÓN CONDICIONADA EN GANADO OVINO SEGÚN LA RAZA

Manuelian, C.L., Albanell, E., Rovai, M., Salama, A.A.K. y Caja, G.  
Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments,  
Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.  
E-mail: [elena.albanell@uab.cat](mailto:elena.albanell@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

La aversión condicionada (AV) es una herramienta práctica para evitar que los animales consuman determinados alimentos. La AV se basa en un aprendizaje asociativo en el que el animal aprende a evitar un alimento mediante su asociación con un agente inductor de malestar. Entre los factores que modifican la eficacia de AV destacan: la novedad del alimento (Burrit y Provenza, 1989), el agente inductor y la especie animal (Conover, 1995), la dosis de inductor (Egber et al., 1999), la disponibilidad de un alimento alternativo (Thorhallsdottir et al., 1990), y la edad del animal (Thorhallsdottir et al., 1987). Aunque la AV cambia según la especie (Manuelian et al., 2010), no se ha descrito el efecto de la raza. El cloruro de litio (LiCl) es un compuesto muy utilizado para la creación de la AV en rumiantes (Ralphs y Provenza, 1999; Ralphs et al., 2001; Manuelian et al., 2010). Actúa a nivel del centro del vómito, generando una sensación de náuseas que el animal asocia al alimento ingerido y produce su rechazo (Provenza, 1995; 1996; Manuelian et al., 2010). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la raza de ovino en la respuesta a distinta dosis de LiCl en la creación y persistencia de la AV a hojas de olivo a medio plazo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el SGCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la Universitat Autònoma de Barcelona (Bellaterra), utilizando un total de 45 ovejas adultas, vacías y secas de raza: Manchega (43,5 kg  $\pm$  0,9 kg PV; n = 15), Lacaune (54,7 kg  $\pm$  1,3 kg PV; n = 15) y Ripollesa (45,0 kg  $\pm$  1,2 kg PV; n = 15), en 3 estudios simultáneos en los que se comparó el consumo de hojas de olivo. Los procedimientos experimentales se aprobaron por el Comité de Ética en Experimentación Animal y Humana de la UAB (CEEAH, ref. 770).

**Inducción de la aversión:** Las ovejas se asignaron al azar a 3 grupos por raza (5 ovejas/grupo) y se alojaron en jaulas individuales (1,1x2,0 m) sin contacto visual entre grupos para la aplicación de los tratamientos: Control (**C**), Aversión 1 (**AV1**, 200 mg LiCl/kg PV) y Aversión 2 (**AV2**, 225 mg LiCl/kg PV). Tras 1 semana de adaptación a las jaulas y a una alimentación a base de heno de festuca deshidratada ad libitum, ofrecida 1 vez/d, las ovejas se sometieron a la inducción de AV con LiCl. Para ello, cada mañana (10:00 h) se pesó y eliminó el residuo de festuca y se ofreció 100 g/oveja de hojas de olivo (alimento nuevo) durante 1 h y durante 3 d consecutivos (día 0 a 2), ofreciendo a continuación la festuca. El LiCl se aplicó disuelto en agua con una pistola de desparasitación y tras la ingestión de olivo del d 0. Las ovejas del grupo C recibieron agua como placebo. La ingestión de hojas de olivo se midió por diferencia de peso (ofrecido-rehusado) y se observó el comportamiento de ingestión. Con la finalidad de reforzar la AV, el d 9 se administró una segunda dosis de LiCl a todas las ovejas AV1 y AV2 que consumieron olivo (>10 g/d). Al d 10 se devolvieron al rebaño, con el que pastaron en una pradera de ray-grass italiano (6 h/d) y se complementaron con heno de festuca deshidratado ad libitum en aprisco.

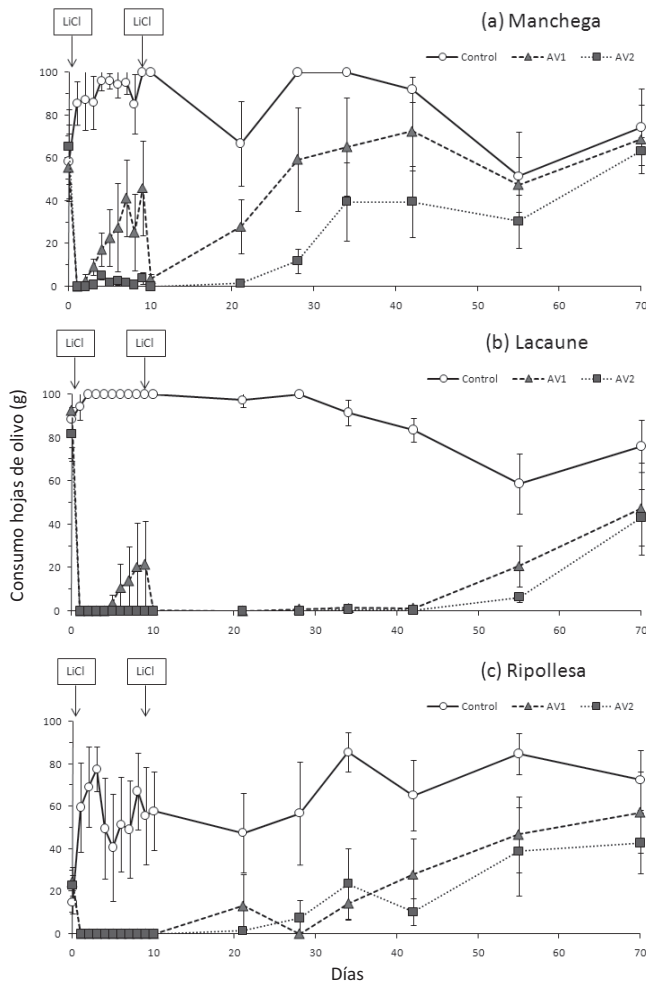
**Persistencia de la aversión:** Del d 3 al 8 se realizaron ensayos tipo cafetería (double-choice) en las mismas jaulas, ofreciendo 100 g de olivo y 200 g de ray-grass verde de forma individual y simultánea, durante 1 h/d. Los d 21, 28, 34, 42 y 55 los ensayos se realizaron en el comedero del aprisco, durante 30 min/d, y utilizando un cornadizo autoblocante. Durante los ensayos de persistencia no se administró LiCl.

El análisis estadístico se realizó utilizando el PROC MIXED de SAS v.9.1 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA), tanto en el experimento de inducción como en el de persistencia. Las diferencias entre medias se compararon mediante un test LSD y se establecieron a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Figura 1** se observa como las ovejas Lacaune-C consumieron prácticamente toda la oferta de olivo desde el d 0, mientras que las Manchega-C y Ripollesa-C fueron aumentando el consumo de olivo durante los primeros días. Este comportamiento es característico de la neofobia alimentaria (Van Tien et al., 1999) y fue descrito por Villalba et al. (2012) en corderos al segundo día de introducir trigo con distintos aromas.

Todas las ovejas de los grupos AV dejaron de consumir olivo después de la primera dosis de LiCl, excepto 1 oveja Manchega-AV1 (3%), que regurgitó parte de la dosis y necesitó una nueva al d 2. Estos resultados concuerdan con los de Manuelian et al. (2010) en la creación de AV a hojas de olivo en ovejas y cabras con una dosis de 200 mg LiCl/kg PV. Pfister et al. (1993), para conseguir una AV eficaz al grano de maíz, necesitaron aplicar una segunda dosis al 25% de los corderos.



**Figura 1.** Efecto de la dosis de LiCl en el consumo de hojas de olivo (○, control; ▲, AV1; ■, AV2; ± ESM).

El comportamiento de los grupos AV mostró claras diferencias con los C. Así mientras las ovejas C consumieron rápidamente las hojas de olivo, las AV evitaban el comedero, o bien olisqueaban la hoja de olivo y rehusaban consumirla. Este comportamiento fue más marcado en los grupos AV2 y similar al descrito por Manuelian et al. (2010).

Al d 9, el 60% de las ovejas Manchega-AV1 y el 20% de las Manchega-AV2 necesitaron ser reforzadas con una nueva dosis de LiCl, frente a un 40% de las Lacaune-AV1 y 0% de las Lacaune-AV2 y Ripollesa-AV1 y AV2, lo que manifiesta las diferencias entre razas y dosis de LiCl empleadas. Villalba et al. (2009) sugirieron que las diferencias en la ingestión neofóbica pueden tener un componente genético.

Durante los ensayos de persistencia se observó que las ovejas Manchegas fueron las primeras en empezar a consumir de nuevo hojas de olivo (d 3 y d 4 para AV1 y AV2, respectivamente), seguidas de las Lacaune-AV1 (d 5). Al final del estudio (d 70) sólo las Lacaune-AV2 presentaron diferencias significativas respecto a las Lacaune-C ( $76 \pm 12$  vs.  $43 \pm 13$  g, respectivamente;  $P < 0.05$ ).

No se detectaron diferencias de AV según la dosis de LiCl en las ovejas de raza Ripollesa. Por el contrario, tanto en las Manchegas como en las Lacaune, las ovejas AV2 mostraron una mayor eficacia que las AV1, lo que indica que el grado de aversión es dosis dependiente y que presenta un marcado efecto genético (raza e individuo).

En conclusión, los resultados obtenidos indicaron que el marcado comportamiento neofóbico de las ovejas Ripollesas aparentemente enmascaró su respuesta al aprendizaje de aversión y no permitió mostrar diferencias a la dosis de LiCl. La mayor persistencia de aversión se consiguió en las ovejas de raza Lacaune, presentando las Manchegas una respuesta intermedia. En estas razas, la mayor eficacia de aversión se consiguió con la dosis de 225 mg de LiCl/kg PV.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto del Plan Nacional I+D+I AGL 2010-22178-C02-01.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burritt, E.A., Provenza, F.D. 1989. *J. Anim. Sci.* 67:1732-1739 • Conover, M.R. 1995. *USDA National Wildlife Research Center Symposia* • Du Toit, J.T., Provenza, F.D., Nastis, A.S. 1991. *App. Anim. Behav. Sci.* 30:35-47 • Egber, A., Landau, S., Perevolotsky, A., Shlosberg, A., Belaich, M. 1999. *Options Mediterran.* 39:179-182 • Manuelian, C.L., Albanell, E., Salama, A.A.K., Caja, G. 2010. *App. Anim. Behav. Sci.* 128:45-49 • Pfister, J.A., Astorga, J.B., Panter, K.E., Molyneux, R.J. 1993. *App. Anim. Behav. Sci.* 36:159-167 • Provenza F.D. 1995. *J. Range Manag.* 4:2-17 • Provenza, F.D. 1996. *J. Anim. Sci.* 7:2010-2020 • Thorhallsdottir, A.G., Provenza, F.D., Balph, D.F. 1987. *App. Anim. Behav. Sci.* 18:327-340 • Thorhallsdottir, A.G., Provenza, F.D., Balph, D.F. 1990. *App. Anim. Behav. Sci.* 25:42-50 • Ralphs M.H., Provenza, F.D. 1999. *Proc. Nutrition Society* 58:831-820 • Ralphs, M.H., Provenza, F.D., Pfister, J.A., Graham, D., Duff, D.C., Greathouse, G. 2001. *Rangelands* 23:14-18 • Van Tien, D., Lynch, J.J., Hinch, G.N., Nolan, J.V. 1999. *Small Rum. Res.* 32:223-229 • Villalba, J.J., Catenese, F., Provenza, F.D., Distel, R.A. 2012. *Physiol. Behav.* 105:181-187 • Villalba, J.J., Manteca, X., Provenza, F.D. 2009. *Physiol. Behav.* 96:276-281 •

#### BREED EFFECT OF ON THE CONDITIONED AVERSION TO OLIVE LEAVES IN SHEEP

**ABSTRACT:** Lithium chloride (LiCl) was used to induce aversion to olive tree leaves in a total of 45 ewes of 3 breeds (Manchega, Lacaune and Ripollesa). Ewes were allocated into 3 groups/breed and intake of olive leaves (novel feed) measured with or without individually post intake dosing of LiCl (200 or 225 mg/kg BW). Aversion was induced in 3 d, with a second dose if necessary, and evaluated by double-choice test (olive leaves-ryegrass) for 70 d. Differences in olive leaves intake between doses was observed in Manchega and Lacaune ewes. Lacaune breed showed greater aversion persistence. Differences in individual behaviour were observed by treatment. Use of LiCl was considered a useful tool for selective grazing and ecological bio-agriculture.

**Key words:** learning, lithium chloride, breed, dose

## REGULACIÓN NUTRICIONAL DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES IMPLICADOS EN LA LIPOGÉNESIS EN OVEJAS ALIMENTADAS CON ACEITE DE GIRASOL.

### 1. TEJIDO SECRETOR MAMARIO

Toral, P. G.<sup>1</sup>, Castro-Carrera, T.<sup>1,2</sup>, Bernard, L.<sup>1</sup>, Hervás, G.<sup>2</sup>, Leroux, C.<sup>1</sup>, Chilliard, Y.<sup>1</sup>, Fernández, M.<sup>2</sup>, Belenguer, A.<sup>2</sup> y Frutos, P.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1213 Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, Francia

<sup>2</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España \*Correo electrónico: p.frutos@csic.es

### INTRODUCCIÓN

La alimentación de los rumiantes puede modificar el perfil de ácidos grasos (AG) de la leche mediante un efecto más o menos directo de los componentes de la dieta o bien mediante cambios en la expresión de los genes que intervienen en la síntesis de lípidos en la glándula mamaria (i. e., mediante mecanismos transcripcionales). Sin embargo, existe muy poca información en los rumiantes acerca de este tipo de regulación y la mayor parte se limita al vacuno con síndrome de baja grasa en la leche (MFD) o al caprino (Shingfield et al., 2010). En ovejas lecheras no existe información sobre la abundancia del ARNm de los genes implicados en la lipogénesis en respuesta a la suplementación de la dieta con aceites vegetales, a pesar de la demostrada eficacia de esta estrategia nutricional para modificar la composición de la grasa láctea (Torral et al., 2010; Shingfield et al., 2010). Por lo tanto, este estudio se llevó a cabo en ovejas alimentadas con aceite de girasol (i. e., con una dieta de la que se sabe que induce cambios en el perfil de AG de la leche) para examinar la respuesta del tejido secretor mamario en términos de abundancia del ARNm de los principales genes relacionados con la síntesis de lípidos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 10 ovejas de raza assaf en la mitad de la lactación (semana 11 al inicio del experimento), que fueron distribuidas en función de su peso vivo, producción de leche, días posparto y número de lactación en 2 tratamientos: control (C) y girasol (Gi). El experimento tuvo una duración de 7 semanas, durante las cuales los animales recibieron ad libitum una dieta mixta completa basada en heno de alfalfa y un concentrado (relación F:C 60:40; PB= 154 y FND= 392 g/kg MS) suplementada con 0 (C) o 25 (Gi) g de aceite de girasol/kg MS. El día 48 del experimento se registró la producción de leche individualmente en cada uno de los dos ordeños y se recogió una muestra de cada animal, proporcional a la producción de la mañana y de la tarde, para determinar su contenido de grasa, proteína y extracto seco mediante espectrofotometría de infrarrojos y su perfil lipídico mediante cromatografía de gases (Shingfield et al., 2003). Finalizado el experimento (día 49), las ovejas se sacrificaron mediante eutanasia y se tomaron muestras del tejido secretor mamario para estudiar la expresión de los principales genes que intervienen en la síntesis de lípidos. Para ello, se analizaron mediante PCR a tiempo real los fragmentos de ADN complementario sintetizados a partir del ARN extraído de los tejidos (Bernard et al., 2005), utilizando cebadores específicos para los siguientes genes: acetil-CoA carboxilasa alfa (*ACACA*) y AG sintasa (*FASN*), implicados en la síntesis de AG de novo; lipoproteinlipasa (*LPL*), translocasa de AG (*CD36*) y proteína transportadora de AG 3 (*FABP3*), implicados en la captación y transporte intracelular de AG; y estearoil-CoA desaturasas 1 y 5 (*SCD1* y *SCD5*), implicados en la desaturación  $\Delta 9$  de los AG; y factor 1 de unión a elementos reguladores del esteroil (*SREBF1*) y receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (*PPARG*), factores de transcripción implicados en la regulación de la expresión de los genes de la lipogénesis. Para tener en cuenta las variaciones en la integridad y cuantificación del ARN, así como en la síntesis del ADN complementario, la abundancia de los transcritos se normalizó utilizando la media geométrica de la abundancia de 3 genes de menaje (*PPIA*, *UXT2* y *EIF3K*; Bonnet et al., en prensa) y, a continuación, los datos fueron transformados ( $\log_2$ ). Todos los resultados se sometieron a análisis de varianza, utilizando el procedimiento MIXED del SAS 9.2 (SAS Inst. Inc., Cary, EE.UU.).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como cabía esperar, la adición de Gi a la dieta no afectó ( $P>0,10$ ) ni a la producción de leche ( $1,32\pm 0,180$  kg/d) ni a su contenido de proteína, grasa o sólidos totales ( $4,9\pm 0,14$ ,

5,6±0,22 y 16,4±0,31%, respectivamente), pero modificó de forma significativa ( $P<0,05$ ) su perfil de AG, reduciendo el contenido de AG saturados de cadena media y aumentando principalmente el de c9-18:1, c9,t11-18:2 y t11-18:1 (Tabla 1).

La reducción del contenido lácteo de AG de novo (i. e., <C16 y parte del C16) en respuesta al Gi no se vio acompañada de cambios en la cantidad de ARNm en el tejido mamario de los genes candidatos implicados en este proceso (i. e., *ACACA* y *FASN*; Tabla 2). Aunque algunos estudios en vacuno han mostrado una regulación nutricional en la transcripción de estos genes en casos de MFD inducida con almidón y aceites vegetales (Peterson et al., 2003) y marinos (Harvatine y Bauman, 2006), dicho síndrome no se observa en ovejas alimentadas con aceites vegetales (Toral et al., 2010; Shingfield et al., 2010). Además, la dieta Gi aumentó la proporción de AG de cadena larga en la leche sin que hubiera tampoco diferencias en la abundancia del ARNm de los genes que intervienen en la captación y el transporte de estos AG en la célula epitelial mamaria (i. e., *LPL*, *CD36* y *FABP3*), mientras que sí se han observado reducciones en el transcrito de *LPL* en vacas que, como se mencionó previamente, sufrían una MFD causada por el tipo de dietas (Peterson et al., 2003; Harvatine y Bauman, 2006). Sin embargo, los resultados en ovejas lecheras coinciden con los obtenidos previamente en cabras y vacas alimentadas con dietas ricas en forraje y aceites vegetales (Bernard et al., 2005; Murrieta et al., 2006) y sugieren que, en general, y en ausencia de MFD, las variaciones en el porcentaje de AG de novo y de cadena larga causadas por la dieta no están mediadas por mecanismos transcripcionales. La ausencia de cambios en los factores de transcripción estudiados (*SREBF1* y *PPARG*; Tabla 2) reforzaría esta hipótesis.

**Tabla 1.** Perfil parcial de ácidos grasos (% AG totales) de la leche de ovejas alimentadas con una ración completa que contenía 0 (C) o 25 (Gi) g/kg MS de aceite de girasol.

	Dieta		eed	P
	C	Gi		
4:0+6:0+8:0+10:0	16,08	11,65	0,967	**
12:0+14:0+16:0	42,35	34,12	1,973	**
18:0	7,64	11,90	0,778	**
c9-18:1 <sup>a</sup>	15,35	21,58	1,134	**
t10-18:1	0,26	0,53	0,040	***
t11-18:1	1,32	2,36	0,422	*
c9,c12-18:2	2,81	2,79	0,340	ns
otros 18:2 no conjugados	0,74	1,15	0,075	**
c9,t11-18:2 <sup>b</sup>	0,69	1,18	0,150	*
∑ AG <C16	36,19	26,92	1,524	***
∑ AG C16	27,52	23,12	1,100	**
∑ AG >C16	36,29	49,97	2,429	**
Índices de desaturación				
c9-14:1/(14:0+c9-14:1)	0,02	0,02	0,002	ns
c9-18:1/(18:0+c9-18:1)	0,67	0,65	0,019	ns
c9,t11-18:2/(t11-18:1+ c9,t11-18:2)	0,34	0,34	0,023	ns

eed, error estándar de la diferencia.

P, nivel de significación. ns= $P>0,10$ ; \*= $P<0,05$ ; \*\*= $P<0,01$ ; \*\*\*= $P<0,001$ .

<sup>a</sup>Contiene t13+14+15-18:1 y c10-18:1 como componentes minoritarios.

<sup>b</sup>Contiene t7,c9-18:2 y t8,c10-18:2 como componentes minoritarios.

El aumento de la proporción láctea tanto de los sustratos como de los productos de la enzima  $\Delta 9$ -desaturasa (e. g., 18:0, c9-18:1, t11-18:1 y c9,t11-18:2) no modificó los índices de desaturación en la leche (Tabla 1) y, de forma similar, la abundancia del ARNm de los genes que codifican la  $\Delta 9$ -desaturasa (i. e., *SCD1* y *SCD5*) permaneció invariable en el tejido mamario. Esto sugiere que los cambios en la disponibilidad de sustratos para la  $\Delta 9$ -desaturasa no tienen un efecto significativo sobre la transcripción de dichos genes y, aunque se han observado disminuciones en la abundancia del ARNm de *SCD1* en cabras alimentadas con semillas de lino tratadas con formaldehído (Bernard et al., 2005), la regulación postranscripcional parece tener un gran peso en este gen (Bernard et al., 2009).

**Tabla 2.** Abundancia del ARNm de los genes candidatos (datos transformados,  $\log_2$ ) en el tejido secretor mamario de ovejas alimentadas con una ración completa que contenía 0 (C) o 25 (Gi) g/kg MS de aceite de girasol.

	ACACA	FASN	LPL	CD36	FABP3	SCD1	SCD5	SREBF1	PPARG
C	1,33	1,85	1,90	1,88	1,60	1,52	1,76	1,78	0,97
Gi	1,32	1,79	1,82	1,92	1,59	1,55	1,78	1,78	0,97
eed	0,079	0,095	0,058	0,051	0,125	0,079	0,076	0,090	0,049
P	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

eed, error estándar de la diferencia; P, nivel de significación. ns= $P>0,10$

En conclusión, la suplementación de la dieta de ovejas lecheras con una dosis moderada (2,5% MS) de aceite de girasol durante 7 semanas modifica el perfil de AG de la leche, pero los resultados de abundancia del ARNm de los genes implicados en la lipogénesis sugieren una baja relevancia de la regulación transcripcional en estas modificaciones. Sin embargo, no se puede descartar que los cambios a este nivel ocurrieran durante etapas más tempranas del tratamiento experimental.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernard, L., Bonnet, M., Leroux, C., Shingfield, K. J. & Chilliard, Y. 2009. J. Dairy Sci. 92: 6083-6094.
- Bernard, L., Rouel, J., Leroux, C., Ferlay, A., Faulconnier, Y., Legrand, P. & Chilliard, Y. 2005. J Dairy Sci. 88: 1478-1489.
- Bonnet, M., Bernard, L., Bes, S. & Leroux, C. Animal (en prensa)
- Harvatine, K. J. & Bauman, D. E. 2006. J. Nutr. 136: 2468-2474.
- Peterson, D. G., Matitashvili, E. A. & Bauman, D. E. 2003. J. Nutr. 133: 3098-3102.
- Murrieta, C. M., Hess, B. W., Scholljegerdes, E. J., Engle, T. E., Hossner, K. L., Moss, G. E. & Rule, D. C. 2006. J. Anim. Sci. 84: 2399-2405.
- Shingfield, K. J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Äröla, A., Nurmela, K. V. V., Huhtanen, P. & Griinari, J. M., 2003. Anim Sci. 77: 165-179.
- Shingfield, K. J., Bernard, L., Leroux, C. & Chilliard Y. 2010. Animal. 4: 1140-1166.
- Toral, P. G., Frutos, P., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Juaréz, M. & de la Fuente, M. A. 2010. J Dairy Sci. 93: 1604-1615.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el MINECO (Proy. AGL2011-23700) y la UMR1213 (INRA, Francia). T. Castro-Carrera disfruta de una beca JAE-CSIC cofinanciada por el Fondo Social Europeo.

### NUTRITIONAL REGULATION OF THE EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN LIPOGENESIS IN EWES FED SUNFLOWER OIL. 1. MAMMARY SECRETORY TISSUE

**ABSTRACT:** A study was conducted in ewes consuming sunflower oil to investigate the response of the mammary secretory tissue, in terms of mRNA abundance of genes involved in lipogenesis, to a diet known to induce changes in milk fatty acid (FA) composition. Ten sheep (5 animals/treatment) received a total mixed ration based on alfalfa hay and a concentrate (F:C 60:40), supplemented with 0 (Control) or 25 (Gi) g of sunflower oil/kg dry matter, for 7 weeks. At the end of the experiment, milk production and composition was recorded and analysed (day 48) and the ewes were euthanized (day 49) for sampling of mammary secretory tissue to examine the nutritional regulation of mammary lipogenesis, using a candidate gene approach. The inclusion of Gi in the diet modified milk FA composition and secretion, decreasing the percentages of FA derived from *de novo* synthesis and increasing that of long-chain FA. However, results of mammary mRNA abundance of genes involved in lipid metabolism (*ACACA*, *FASN*, *LPL*, *CD36*, *FABP3*, *SCD1*, *SCD5*, *SREBF1* and *PPARG*) suggest that transcriptional regulation is not directly involved in these changes, at least when this is measured after a long period on the feeding treatments.

**Keywords:** Milk fatty acid, lipid metabolism, mRNA abundance, lactating sheep



## REGULACIÓN NUTRICIONAL DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES IMPLICADOS EN LA LIPOGÉNESIS EN OVEJAS ALIMENTADAS CON ACEITE DE GIRASOL. 2. TEJIDOS ADIPOSOS SUBCUTÁNEO Y PERIRRENAL

Toral, P. G.<sup>1</sup>, Castro-Carrera, T.<sup>1,2</sup>, Leroux, C.<sup>1</sup>, Hervás, G.<sup>2</sup>, Bernard, L.<sup>1</sup>, Chilliard, Y.<sup>1</sup>, Fernández, M.<sup>2</sup>, Belenguer, A.<sup>2</sup> y Frutos, P.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1213 Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, Francia

<sup>2</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España \*Correo electrónico: p.frutos@csic.es

### INTRODUCCIÓN

Durante la lactación, el tejido adiposo (TA) puede tener un papel fundamental en la regulación de la síntesis de grasa en la glándula mamaria y su posterior aparición en la leche (Chilliard, 1999; Shingfield et al, 2010). Sin embargo, se sabe poco acerca de los mecanismos moleculares implicados en la respuesta del TA a los cambios en la dieta del rumiante en lactación. En vacuno, la infusión duodenal de aceite de colza, que reduce la síntesis mamaria de ácidos grasos (AG) de novo en ausencia de variaciones en la secreción de grasa láctea, aumenta la actividad de la enzima lipoproteinlipasa en el TA perirrenal (Chilliard et al., 1991). A nivel de la abundancia del ARNm de los genes que codifican esta y otras enzimas de la lipogénesis, en vacas con síndrome de baja grasa en la leche también se han observado variaciones (Harvatine et al., 2009), pero no en cabras cuando la dieta utilizada no reduce la secreción de grasa (Bernard et al., 2005, 2009). Si bien es difícil discernir si estas diferencias están ligadas a la dieta, a su interacción con la especie o a otros factores, no existe aún ninguna información al respecto en el ovino. Además, la mayor parte de los trabajos sobre genes se basan en el estudio del TA subcutáneo, aunque otros depósitos internos podrían ser más activos.

El objetivo de este trabajo fue, por lo tanto, comparar la posible implicación de los TA subcutáneo y perirrenal en la respuesta del metabolismo lipídico a la dieta en ovejas en lactación alimentadas con aceite de girasol, a partir del estudio de su perfil de AG y de la abundancia del ARNm de los principales genes implicados en la lipogénesis.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Tal y como se describe en el artículo anterior, se utilizaron 10 ovejas de raza Assaf en la semana 11 de lactación al inicio del experimento, distribuidas en 2 lotes homogéneos, correspondientes a los 2 tratamientos experimentales: control (C) y girasol (Gi).

Durante las 7 semanas que duró el experimento, los animales recibieron ad libitum la dieta mixta completa (relación F:C 60:40) descrita en el estudio previo y suplementada con 0 (C) o 25 (Gi) g de aceite de girasol/kg MS.

El día 49, las ovejas se sacrificaron mediante eutanasia y se tomaron muestras de los TA subcutáneo (abdomen) y perirrenal para determinar su perfil lipídico mediante cromatografía de gases (Shingfield et al., 2003) y estudiar la abundancia de los principales genes relacionados con la lipogénesis. Para ello, se analizaron mediante PCR a tiempo real los fragmentos de ADN complementario sintetizados a partir del ARN extraído de los tejidos (Bernard et al., 2005), utilizando los cebadores específicos para los genes mencionados en el artículo anterior (*ACACA*, *FASN*, *LPL*, *CD36*, *SCD1*, *SCD5*, *SREBF1* y *PPARG*), así como para los siguientes: *FABP4* (proteína transportadora de AG 4, implicado en la captación y transporte intracelular de AG); *ELOVL6* (elongasa de AG 6, implicado en la elongación del 16:0); y *GPAM* (glicerol-3-fosfato aciltransferasa, implicado en la esterificación de los AG al glicerol). Como se explica en el artículo previo, la abundancia de los transcritos se normalizó utilizando los genes de menaje *PPIA*, *UXT2* y *EIF3K* y, a continuación, los datos fueron transformados ( $\log_2$ ).

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza, incluyendo en el modelo estadístico los efectos fijos de la dieta, del tejido y de su interacción, así como el efecto aleatorio del animal. Para ello se utilizó el procedimiento MIXED del SAS 9.2 (SAS Inst. Inc., Cary, EE.UU.).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las escasas variaciones en la abundancia del ARNm de los genes candidatos en respuesta al tratamiento Gi (Tabla 1) confirmarían que las dietas con suplementos lipídicos que no

reducen la secreción de grasa láctea tienen poca repercusión en la transcripción de los genes que intervienen en la síntesis de lípidos en el TA de los rumiantes (Bernard et al, 2005, 2009). La inclusión de aceite de girasol no modificó la abundancia del ARNm de *PPARG*, propuesto como uno de los principales reguladores del metabolismo lipídico en el TA (Shingfield et al, 2010), pero redujo los niveles de *SREBF1* y *GPAM*. Sin embargo, esta reducción no tuvo repercusiones evidentes en el perfil de AG del TA ya que los pocos cambios que se observan en su composición lipídica (e. g., la reducción de 18:3n-3 y 17:0; Tabla 2) probablemente estuvieran ligados a una menor disponibilidad de los mismos para su captación desde el plasma. La ausencia de efectos significativos sobre la concentración de otros AG concordaría con la ausencia de alteraciones en los genes estudiados y podría quizás explicarse, al menos en parte, por su síntesis endógena gracias a los procesos de síntesis de novo, elongación o desaturación  $\Delta 9$  de los AG, tal y como apoya la expresión de *FASN*, *ACACA*, *ELOVL6* y *SCD1* y *SCD5* en ambos tejidos (Shingfield et al, 2010).

**Tabla 1.** Abundancia del ARNm de los genes candidatos (datos transformados,  $\log_2$ ) en los tejidos adiposos (TA) subcutáneo y perirrenal de ovejas alimentadas con una ración completa que contenía 0 (C) o 25 (Gi) g/kg MS de aceite de girasol.

	TA subcutáneo		TA perirrenal		eed	P		
	C	Gi	C	Gi		D	T	D×T
<i>ACACA</i>	1,79	1,64	1,60	1,58	0,171	ns	ns	ns
<i>FASN</i>	1,34	1,21	1,19	1,14	0,226	ns	ns	ns
<i>LPL</i>	1,43	1,42	1,27	1,22	0,122	ns	**	ns
<i>CD36</i>	1,85	1,78	1,88	1,90	0,062	ns	t	ns
<i>FABP4</i>	1,90	1,81	1,87	1,91	0,057	ns	ns	ns
<i>SCD1</i>	1,54	1,72	1,59	1,49	0,159	ns	ns	ns
<i>SCD5</i>	1,02	0,99	1,19	1,17	0,143	ns	t	ns
<i>ELOVL6</i>	1,79	1,66	1,77	1,74	0,163	ns	ns	ns
<i>GPAM</i>	1,41	1,13	1,39	1,28	0,070	*	ns	ns
<i>SREBF1</i>	1,60	1,44	1,39	1,10	0,098	*	***	ns
<i>PPARG</i>	1,93	1,81	1,87	1,86	0,049	ns	ns	ns

eed, error estándar de la diferencia; P, nivel de significación del efecto de la dieta (D), tejido (T) o la interacción (D×T). ns=P>0,10; t=P<0,10; \*=P<0,05; \*\*=P<0,01; \*\*\*=P<0,001.

**Tabla 2.** Perfil parcial de ácidos grasos (% AG totales) de los tejidos adiposos (TA) subcutáneo y perirrenal de ovejas alimentadas con una ración completa que contenía 0 (C) o 25 (Gi) g/kg MS de aceite de girasol.

	TA subcutáneo		TA perirrenal		eed	P		
	C	Gi	C	Gi		D	T	D×T
14:0	2,20	2,50	2,38	2,45	0,229	ns	ns	ns
16:0	20,09	21,09	21,45	21,27	1,050	ns	ns	ns
17:0	2,50	2,03	2,09	1,80	0,214	t	**	ns
18:0	16,82	19,02	34,36	35,72	2,551	ns	***	ns
c9-18:1	35,68	34,24	22,15	22,46	2,046	ns	***	ns
t10-18:1	0,51	0,55	0,50	0,43	0,187	ns	ns	ns
t11-18:1	1,78	1,95	2,54	2,27	0,267	ns	**	ns
c9,c12-18:2	1,88	1,90	2,02	1,85	0,154	ns	ns	ns
c9,t11-18:2	0,64	0,57	0,35	0,31	0,076	ns	***	ns
c9,c12,c15-18:3	0,83	0,70	0,83	0,59	0,080	*	t	ns
∑ AG saturados	44,93	47,98	63,44	64,39	2,718	ns	***	ns
∑ AG monoinsaturados	49,56	46,99	31,95	31,70	2,492	ns	***	ns
∑ AG poliinsaturados n-6	2,09	2,13	2,21	1,99	0,164	ns	ns	t
∑ AG poliinsaturados n-3	1,65	1,43	1,39	1,03	0,143	t	***	ns

eed, error estándar de la diferencia; P, nivel de significación del efecto de la dieta (D), tejido (T) o la interacción (D×T). ns=P>0,10; t=P<0,10; \*=P<0,05; \*\*=P<0,01; \*\*\*=P<0,001.

En cuanto a las diferencias entre ambos TA, los mayores niveles de 18:0 y t11-18:1 en el TA perirrenal y de c9-18:1, c9,t11-18:2 y AG poliinsaturados n-3 en el subcutáneo son

resultados habituales, debido a la necesidad de mantener las propiedades físicas de los depósitos grasos periféricos (Bas et al, 1987). Sin embargo, el mayor grado de insaturación del TA subcutáneo del abdomen, derivado principalmente de la mayor proporción de productos de la  $\Delta 9$ -desaturasa, no se asoció a diferencias entre tejidos en la abundancia del ARNm de *SCD1*, tal y como se había señalado previamente en ovino (Barber et al., 2000). Por el contrario, en cabras sí se habían observado niveles más altos de *SCD1* en el TA subcutáneo frente al perirrenal (Bernard et al., 2005), aunque estos disminuían significativamente cuando la dieta se suplementaba con una fuente rica en ácido linoleico. Las diferentes abundancias de ARNm de *LPL* y *CD36* en los TA subcutáneo y perirrenal sugerirían divergencias en la captación de AG en estos depósitos, pero no se dispone de suficiente información sobre el perfil lipídico para poder confirmarlo. Por otra parte, Bernard et al. (2005) observaron lo contrario en los niveles de *LPL* en caprino. Por último, cabe destacar que muchos de los estudios que muestran cambios significativos en las abundancias de ARNm de los genes implicados en la lipogénesis (e. g., Harvatine et al., 2009) se refieren a vacas con un severo síndrome de baja grasa en la leche. Sin embargo, la escasa respuesta observada en este trabajo coincide con lo señalado por Bernard et al. (2005, 2009) en cabras que recibían un suplemento lipídico similar al de estas ovejas y en las que no se produjo dicho síndrome.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bas, P., Chilliard, Y., Morand-Fehr, P., Rouzeau, A. & Mandran, N. 1987. *Ann. Zootech.* 36: 361-374. • Barber, M. C., Ward, R. J., Richards, S. E., Salter, A. M., Vernon, R. G. & Travers, M. T. 2000. *Anim. Sci.* 78: 62-68. • Bernard, L., Bonnet, M., Leroux, C., Shingfield, K. J. & Chilliard, Y. 2009. *J. Dairy Sci.* 92: 6083-6094. • Bernard, L., Leroux, C., Bonnet, M., Rouel, J., Martin, P. & Chilliard, Y. 2005. *J. Dairy Res.* 72: 250-255. • Chilliard, Y. 1999. Pg. 502-552 en *Biology of lactation*. INRA, París, Francia. • Chilliard, Y., Gagliostro, G., Flechet, J., Lefaiivre, J. & Sebastian, I. 1991. *J. Dairy Sci.* 74: 1844-1854. • Harvatine, K. J., Perfield, J. W. & Bauman, D. E. 2009. *J. Nutr.* 139: 849-854. • Shingfield, K. J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Äröla, A., Nurmela, K. V. V., Huhtanen, P. & Griinari, J. M. 2003. *Anim. Sci.* 77: 165-179. • Shingfield, K., Bernard, L., Leroux, C. & Chilliard, Y. 2010. *Animal.* 4: 1140-1166.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el MINECO (Proy. AGL2011-23700) y la UMR1213 (INRA, Francia). T. Castro-Carrera disfruta de una beca JAE-CSIC cofinanciada por el Fondo Social Europeo.

### NUTRITIONAL REGULATION OF THE EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN LIPOGENESIS IN EWES FED SUNFLOWER OIL. 2. SUBCUTANEOUS AND PERIRENAL ADIPOSE TISSUES

**ABSTRACT:** This study was conducted to compare the potential implication of the subcutaneous and perirenal adipose tissues (AT) in the response of lipid metabolism of lactating ewes to sunflower oil, a dietary supplement known to induce changes in milk fatty acid (FA) composition. Ten sheep (5 animals/treatment) received a total mixed ration based on alfalfa hay and a concentrate (F:C 60:40), supplemented with 0 (Control) or 25 (Gi) g of sunflower oil/kg dry matter, for 7 weeks. At the end of the experiment, the ewes were euthanized and samples of subcutaneous and perirenal AT were collected to examine their FA profile and the mRNA abundance of candidate genes involved in lipogenesis. With regard to FA composition, neither the little effects of Gi nor the great differences between fat depots appeared to be linked to differences in mRNA abundance. The results suggest a low response of the studied genes in the subcutaneous and perirenal AT in the *ad libitum* fed sheep, in mid-lactation, used in this trial. They also suggest a minimal contribution of gene expression to the nutritional regulation of lipogenesis in these depots, at least with the examined diets.

**Keywords:** fatty acid, lipid metabolism, mRNA abundance, lactating sheep

## EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE OLEÍNA DE GIRASOL EN LA DIETA DE EN CORDEROS EN FASE DE CRECIMIENTO-CEBO SOBRE LA INGESTIÓN, LA DIGESTIBILIDAD Y EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO

Blanco, C<sup>1</sup>., Bodas, R<sup>1</sup>., Morán, L<sup>1</sup>., Prieto, N<sup>1</sup>., Andrés, S<sup>1</sup>., López, S<sup>1</sup>., Mota, N<sup>2</sup>.y Giráldez, F.J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). Finca Marzanos. 24346 Grulleros, León

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México D.F.

Correo e.: j.giraldez@eae.csic.es

### INTRODUCCIÓN

Los suplementos lipídicos han sido utilizados en los últimos años en el cebo de rumiantes para aumentar la concentración energética de la dieta y modificar la composición de la grasa o reducir la producción de metano (Chilliard, 1993). Las oleínas son un subproducto del refinado de aceites vegetales, que pueden utilizarse como suplemento lipídico y tienen un menor precio en el mercado que el aceite vegetal del cual se obtienen (Abel-Caines et al., 1998). Sin embargo, las oleínas presentan un contenido en ácidos grasos libres mayor que en los aceites, siendo, por tanto, potencialmente más tóxicas para la microbiota ruminal (Doreau y Chilliard, 1997). Las oleínas, además, presentan valores de pH muy ácidos (en torno a 4,5), que podrían influir en la palatabilidad de la ración e incluso potenciar el efecto acidogénico. No obstante, el balance entre los potenciales efectos beneficiosos y perjudiciales dependerá, entre otros factores, del nivel de inclusión en la dieta. En lo que concierne al cebo de corderos, existe muy poca información científica sobre el empleo de estos subproductos. Por ello se ha planteado el presente trabajo, cuyo objetivo ha sido estudiar el efecto de la incorporación de distintas proporciones de oleína de girasol al pienso concentrado para corderos en cebo sobre la ingestión, la digestibilidad y el rendimiento productivo de los animales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 55 corderos de raza merina, con un peso vivo inicial de  $15,6 \pm 0,21$  kg, que fueron alojados en jaulas individuales. Los animales se distribuyeron en 5 grupos experimentales en función de la proporción de oleína de girasol incluida en la dieta: pienso compuesto completo sin oleína (control ó 0%) o con diferentes proporciones de ésta (1,5; 3,0; 4,5 y 6,0 %, para los grupos 1,5OG, 3,0OG, 4,5OG, 6,0OG, respectivamente). Los animales fueron alimentados *ad libitum* y dispusieron de agua fresca a voluntad durante todo el periodo de cebo (hasta los 27 kg PV). Los ingredientes y la composición química de los piensos aparecen recogidos en la Tabla 1. El alimento era suministrado diariamente a primera hora de la mañana, una vez retirados los restos del día anterior y corregida la oferta para permitir un 20% de restos. Los animales se pesaron 2 veces por semana.

Durante los días 17 a 21 del periodo experimental, 4 animales de cada grupo fueron alojados en jaulas adaptadas para permitir la recogida de heces y de orina (Bodas et al., 2009).

Sobre las muestras de alimentos y heces se realizaron las siguientes determinaciones: materia seca (MS), proteína bruta (PB), extracto etéreo (EE) (AOAC, 2003); los contenidos de fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) se determinaron siguiendo la técnica de Van Soest et al. (1991). Los animales se sacrificaron al alcanzar los 27 kg de peso, obteniéndose el peso de la canal caliente (PCC). Tras 24 h de refrigeración a 4°C se determinó el peso de la canal fría (PCF), las pérdidas por oreo y el rendimiento comercial (PCF\*100/PVS).

La ganancia media diaria de peso (GMD) se calculó por regresión, como la pendiente de la recta de la evolución del peso frente al tiempo, y el índice de conversión (IC) como el cociente entre la ingestión total de MS y la GDP. Todos los datos fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía, con la dieta recibida como fuente de variación, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc., USA).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los valores medios de ingestión de MS, de digestibilidad de MS, PB, EE, FND y FAD, y de los diferentes parámetros indicativos del rendimiento productivo de los animales experimentales.

No se observaron diferencias significativas en el consumo de alimento entre los grupos experimentales ( $P>0,05$ ). Estudios anteriores han señalado que la ingestión puede no verse afectada incluso con porcentajes de inclusión de aceites en la ración del 7% (Machmüller y Kreuzer, 1999). No se observaron cambios significativos en la digestibilidad de la PB y del EE ( $P>0,05$ ). Sin embargo, tanto la digestibilidad de la MS como la de la FND disminuyeron a medida que aumentó el contenido de oleína en la ración ( $P<0,05$ ). La inclusión de grasa en la dieta se suele acompañar de una reducción en la digestión de los hidratos de carbono estructurales. En este sentido, Bhatt et al. (2011), al añadir un 7,5% de aceite de coco en la dieta de corderos en cebo, observaron una disminución en la digestibilidad de la MS y de la FND, relacionada con un descenso en el número de protozoos en el rumen. De forma similar, Manso et al. (2006), utilizando un 4% de aceite de palma, observaron una reducción del 16% en la digestibilidad de la FND. En nuestro estudio la reducción observada fue mayor (osciló entre el 14 y el 51%, dependiendo de la dosis de oleína empleada). Esto podría ser debido, por una parte, al mayor grado de insaturación de la oleína de girasol con respecto al aceite de palma y, por otro, al mayor nivel de ácidos grasos libres, que pueden provocar una mayor toxicidad en los microorganismos del rumen (Doreau y Chilliard, 1997).

Las diferencias observadas en la GDP y en el IC mostraron una tendencia a la significación ( $P<0,10$ ), presentando el grupo 3,0OG los valores mayores de GMD y menores de IC. La ausencia de diferencias entre el grupo control y los restantes grupos probablemente obedece a que la reducción de la digestibilidad del EE y de la FND compensó el incremento en la concentración energética de la ración.

Los resultados obtenidos permiten concluir que la inclusión de oleína de girasol hasta el 6% en la dieta de corderos de cebo no influye negativamente en la ingestión ni en el rendimiento comercial. Sin embargo, niveles de inclusión superiores al 3% reducen significativamente la digestibilidad de la MS y en particular de la fibra, por lo que el nivel de inclusión óptimo se situaría alrededor del 3%.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abel-Caines, S.F., Grant, R.J. & Morrison, M. 1998. *J. of Dairy Sci.* 81: 462-470. • AOAC. 2003. *Official Methods of Analysis*. 17<sup>th</sup> edn. AOAC International • Bhatt, R.S., Soren, N.M., Tripathi, M.K. & Karin, S.A. 2011. *Anim. Feed Sci. Technol.* 164: 29-37. • Bodas, R., Frutos, P., Giráldez, F.J., Hervás, G & López, S. 2009. *Span. J. Agric. Res.* 7: 330-341. • Chilliard, Y. 1993. *J. Dairy Sci.* 76: 3897-3931. • Doreau, M. & Chilliard, Y. 1997. *Br. J. Nutr.* 78: S15-S35 • Machmüller, A. & Kreuzer, M. 1999. *Can. J. Anim. Sci.* 79: 65-72 • Manso, T., Castro, T., Mantecón, A.R. & Jimeno, V. 2006. *Anim. Feed Sci. Technol.* 127: 175-186. • Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.

**Agradecimientos:** Proyecto CICYT (AGL2010-19094).

**Tabla 1.** *Ingredientes y composición química de los piensos experimentales.*

	Control	1,5OG	3,0OG	4,5OG	6,0OG
Ingredientes (g/kg)					
Cebada	433	417	404	390	375
Maíz	150	145	140	135	130
Soja 44	237	243	246	250	255
Paja de cebada	150	150	150	150	150
Oleína de girasol	--	15	30	45	60
Corrector vitamínico/mineral	30	30	30	30	30
Composición química (g/kg MS)					
Materia seca (g/kg)	900	896	897	903	897
Fibra neutro detergente	227	219	218	218	212
Fibra ácido detergente	121	117	117	116	110
Proteína bruta	174	178	178	187	182
Extracto etéreo	30	41	56	68	70
Cenizas	68	69	67	67	72

**Tabla 2.** Ingestión, digestibilidad y rendimientos de los corderos de los diferentes tratamientos.

	<b>Control</b>	<b>1,5OG</b>	<b>3,0OG</b>	<b>4,5OG</b>	<b>6,0OG</b>	<b>DER</b>	<b>P</b>
Ingestión MS (g/día)	939	937	918	900	947	87,8	ns
Digestibilidad (g/g)							
MS	0,79 <sup>a</sup>	0,76 <sup>abc</sup>	0,78 <sup>ab</sup>	0,75 <sup>bc</sup>	0,73 <sup>c</sup>	0,024	*
PB	0,83	0,80	0,82	0,82	0,81	0,028	ns
FND	0,57 <sup>a</sup>	0,39 <sup>bc</sup>	0,50 <sup>ab</sup>	0,39 <sup>bc</sup>	0,30 <sup>c</sup>	0,091	*
FAD	0,46	0,36	0,42	0,37	0,22	0,104	t
EE	0,81	0,68	0,77	0,74	0,71	0,092	ns
GMD (g/día)	309	301	337	273	311	47,4	t
IC (g MS/g GDP)	3,07	3,14	2,79	3,34	3,09	0,411	t
Pérdidas por oreo (%)	2,72	2,60	2,49	2,67	2,51	0,482	ns
Rendimiento comercial (%)	46,5	46,5	45,6	45,7	45,4	1,74	ns

DER: Desviación estándar residual. P=nivel de significación: ns, P>0,10; t, P<0,10; \*, P<0,05.

<sup>a, b, c</sup> Superíndices distintos en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05).

#### **SUNFLOWER SOAPSTOCK AT DIFFERENT RATES IN THE TOTAL MIXED RATION FOR LIGHT FATTENING LAMBS: EFFECTS ON DIGESTIBILITY AND ANIMAL PERFORMANCE**

**ABSTRACT:** Fifty five Merino lambs (15.6 kg initial body weight, BW) were distributed in 5 experimental groups to study the effect of level of sunflower soapstock (SS) inclusion in the TMR (0% -Control-, 1.5, 3.0, 4.5 and 6.0%) on digestibility and animal performance. The animals were fed ad libitum, BW being recorded twice a week. Feces and urine were collected for 5 days from 4 animals per group to estimate digestibility. Lambs were slaughtered at 27 kg BW, hot and carcass weights being recorded.

No significant differences were observed in feed intake. Dry matter and neutral detergent fibre digestibility decreased as level of soapstock increased (P<0.05), whereas CP and EE digestibility was not affected (P>0.05). Lambs receiving 3.0% sunflower soapstock tended to have the best average daily gain and feed to gain ratio (P<0.10), followed by Control, 6.0, 1.5 and 4.5% groups. No significant differences were observed in chilling losses or dressing percentage.

The inclusion of sunflower soapstock up to 6% in the TMR for fattening lambs has no detrimental effects on intake and animal performance, but considering the effects on dry matter and fibre digestibility, the optimum level of inclusion seems to be around 3%.

**Keywords:** digestibility, lamb, soapstock, total mixed ration

## EFFECTO DEL TIEMPO DE SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA E O PASTOREO CON ALFALFA EN EL CONTENIDO DE ALPHA-TOCOFEROL EN PLASMA Y CARNE Y EN LA OXIDACIÓN LIPÍDICA EN CORDEROS LIGEROS

L. González-Calvo<sup>1</sup>, G. Ripoll, F. Molino, J. H. Calvo<sup>2</sup>, M. Blanco, M. Joy  
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Avda. Montañana,  
930, 50059, Zaragoza. <sup>1</sup>lgonzalezc@aragon.es <sup>2</sup>ARAID, Zaragoza

### INTRODUCCIÓN

La oxidación es uno de los primeros procesos que ocurren en el deterioro de la calidad de los productos cárnicos. La oxidación del pigmento hémico produce un indeseable color marrón en la carne (Jose et al., 2008), mientras que la oxidación lipídica produce olores y sabores no agradables (Patrick A. Morrissey et al., 1994). La vitamina E es un antioxidante lípido-soluble ampliamente usado en las dietas de los animales, siendo el  $\alpha$ -tocoferol su forma más activa (Daley et al., 2010). Su adición en los concentrados tiene como objetivo la reducción de la oxidación de los productos cárnicos (Jensen et al., 1998). En muchos estudios se ha evaluado el efecto de diferentes concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol en las dietas de corderos (Lauzurica et al., 2005, López-Bote et al., 2001) sin embargo, el tiempo de suplementación previo al sacrificio mínimo necesario no ha sido estudiado. El alto coste del  $\alpha$ -tocoferol conlleva a la necesidad de la búsqueda de la optimización de su inclusión en el concentrado así como el número de días requerido. El uso de concentrados enriquecidos con  $\alpha$ -tocoferol durante todo el periodo puede ser un coste innecesario (Alvarez et al., 2008). Otra vía más económica para incrementar el contenido de  $\alpha$ -tocoferol en carne es el pastoreo, dado a la presencia de dicho compuesto en el forraje verde. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del tiempo de suplementación en el contenido de  $\alpha$ -tocoferol tanto en el plasma como en el músculo y en la oxidación lipídica de la carne en corderos alimentados con concentrados o pastoreo con alfalfa.

### MATERIAL Y MÉTODOS

54 corderos machos de raza Rasa Aragonesa fueron destetados a 45 días de edad y estabulados. Los corderos recibieron concentrado y paja *ad libitum* y agua a libre disposición. Se utilizó un concentrado comercial (corderos Alendi) y este mismo enriquecido con 500 mg de DL-acetato de  $\alpha$ -tocoferol/kg de concentrado. Doce corderos, elegidos al azar, fueron alimentados durante todo el periodo de cebo con pienso concentrado comercial (Control, C). El resto de los corderos fueron alimentados durante diferentes periodos previos al sacrificio con pienso enriquecido con acetato de  $\alpha$ -tocoferol (Suplementación, S). Los días de suplementación variaron entre 4 y 42. El resto de días fueron alimentados con el pienso control. A su vez un grupo de animales de 8 ovejas con sus 8 corderos machos estuvieron pastando continuamente en una pradera de alfalfa (A). Los corderos disponían de concentrado comercial para corderos.

Los animales se sacrificaron cuando alcanzaron el peso (22-24 kg). Una vez oreada la canal, tanto el músculo *L.thoracis* (LT) como *Semitendinosus* (ST) fueron extraídos. Una porción del LT y del ST fueron conservadas a -20°C en oscuridad hasta el análisis de  $\alpha$ -tocoferol. Otra parte del LT fue troceada en 4 muestras y distribuida en 4 tiempos en exposición a 4°C (0, 2, 5 y 7 días), y seguidamente fueron envasadas al vacío y congeladas a -20°C hasta el análisis de la oxidación lipídica (TBARS).

El análisis de  $\alpha$ -tocoferol se realizó según el método utilizado por Lyan et al. (2001). El análisis estadístico se realizó mediante el programa SAS 9.1 La concentración de  $\alpha$ -tocoferol en el plasma y TBARS fueron analizadas usando el modelo MIXED para medidas repetidas. El contenido de  $\alpha$ -tocoferol en los músculos fue analizado usando un GLM, con el tratamiento (S y A), músculo (LT y ST) y días de ingestión de pienso suplementado como efectos fijos.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto la dieta como el tiempo de ingestión tuvieron un efecto significativo sobre el contenido en  $\alpha$ -tocoferol en el plasma ( $P < 0,001$ ; Figura 1a). Los niveles de  $\alpha$ -tocoferol de C fueron casi constantes sin diferencias significativas a través del periodo experimental ( $P > 0,05$ ), oscilando dichos valores entre 0,24 y 0,47  $\mu\text{g}$   $\alpha$ -tocoferol/mL plasma. Tras 7 días de ingesta, los niveles de  $\alpha$ -tocoferol en el grupo S aumentaron hasta 5 veces más que en el grupo C.

Sin embargo, después de 11 días de ingesta, dicho contenido se mantuvo estable, entre 2,4 y 3  $\mu\text{g}$   $\alpha$ -tocoferol/mL plasma, lo que muestra que se había alcanzado el nivel de saturación. El efecto de los días de ingesta de pastoreo en el contenido de  $\alpha$ -tocoferol en el plasma en los corderos A no fue significativo ( $P>0,05$ ) manteniéndose entorno a 1-1,5  $\mu\text{g}$   $\alpha$ -tocoferol/mL.

En los músculos el efecto de la dieta fue significativa ( $P<0,001$ ; Figura 1b) mostrando concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol más altas en el tratamiento S, seguido por A. El efecto del tiempo de suplementación con  $\alpha$ -tocoferol fue significativo ( $P<0,001$ ), aumentando siempre el contenido en ambos músculos estudiados, de acuerdo con (Alvarez et al., 2008). En contraste, no fueron observadas diferencias entre LT y ST ( $P>0,05$ ), como fue observado por (den Hertog-Meischke, 1997) en vacas. Esta falta de diferencia entre ambos músculos puede estar relacionada con los similares valores de grasa intramuscular, depósito donde se acumula el  $\alpha$ -tocoferol.

En cuanto a la oxidación lipídica, hubo una interacción significativa ( $P<0,001$ ) entre los días de suplementación con  $\alpha$ -tocoferol y el tiempo de exposición de la carne (0, 2, 5 y 7 días) (Figura 1c). No hubo diferencias significativas entre los tiempos de exposición cuando los corderos fueron suplementados con  $\alpha$ -tocoferol más de 14 días. Sin embargo, cuando la ingesta fue menor que 14 días, se observó una diferencia significativa entre los días de exposición ( $P<0,05$ ). El descenso de TBARS con el incremento del tiempo de suplementación no es lineal y es más evidente cuando la carne fue expuesta 7 días. Desde 0 hasta 14 días hubo un pronunciado descenso y después los valores de TBARS se mantuvieron estables. Por ello no parece adecuado alimentar a los corderos más de 14 días antes del sacrificio. En el grupo alfalfa (Figura 1d) hubo una interacción significativa entre los días de ingesta de alfalfa y el tiempo de exposición ( $P<0,05$ ). Los valores de TBARS disminuyeron más suavemente con el tiempo de ingesta de alfalfa que con aquellos alimentados con concentrado. (Ripoll et al., 2011) midieron la oxidación lipídica de carne de corderos ligeros a 7 días de exposición y concluyeron que 1 mg MDA/kg de músculo era el valor límite de aceptabilidad el cual parece ser más adecuado para carne de cordero que los límites más altos considerados para vacuno. En nuestro estudio, la carne expuesta durante 7 días alcanzó valores más altos que 1 mg MDA/kg entre 7 y 11 días de ingesta de pienso suplementado con  $\alpha$ -tocoferol, por estas razones sería recomendado un tiempo de ingestión alrededor de 11 días para asegurar 7 días de exposición como fecha de caducidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jose, C.G., Pethick, D.W., Gardner, G.E., & Jacob, R. H., 2008. 54th ICoMST. • Patrick A. Morrissey, Denis J. Buckley and F.J. Monahan, 1994. Proceedings of the Nutrition Society, 53(02), 289-295. • Daley, C.A., A. Abbott, et al., 2010. Nutrition Journal, 9. • C. Jensen, C. Lauridsen, G. Bertelsen, 1998. Trends in food sci. & tech., 9(2), 62-72. • S. Lauzurica, J. de la Fuente, M.T. Díaz, I. Alvarez, C. Pérez, V. Cañeque, 2005. Meat Sci, 70(4), 639-646. • C.J. López-Bote, A. Daza, M. Soares & E. Berges, 2001. Animal Science, 73(3), 451-458. • I. Alvarez, J. de la Fuente, M.T. Díaz, S. Lauzurica, C. Pérez & V. Cañeque, 2008. Animal, 2(9), 1405-1411. • Lyman, B., Azais-Braesco, V., Cardinault, N., Tyssandier, V., Borel, P., Alexandre-Gouabau, M. C., et al. 2001. Journal of Chromatography B, 751(2), 297-303. • den Hertog-Meischke, M. J. A., F. J. M. Smulders, et al., 1997. Meat Sci, 45(2), 153-160. • Ripoll, G., Joy, M., & Muñoz, F., 2011. Meat Sci, 87(1), 88-93.

**Agradecimientos:** L. González-Calvo recibe una beca predoctoral INIA-CCAA. Este estudio fue financiado por proyectos de investigación INIA (RZP-2010-02, RTA2009-0091-C02-01) y el grupo de investigación del Gobierno de Aragón (A49).

## EFFECT OF FINISHING PERIOD LENGTH WITH VITAMIN E SUPPLEMENTATION AND ALFALFA GRAZING ON PLASMA AND MEAT ALPHA-TOCOPHEROL CONTENT AND LIPID OXIDATION

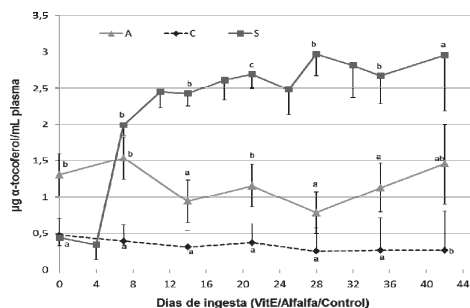
**ABSTRACT.** Indoor-kept concentrate-fed light lambs ( $n=54$ ) were supplemented with 500 mg of dl- $\alpha$ -tocopheryl acetate/kg concentrate for different days (from 4 to 42) before slaughtering at 22–24 kg BW. Simultaneously, 8 lambs with their dams were alfalfa-grazed and the lambs were slaughtered at the same weight. After 7 days of intake, plasma  $\alpha$ -



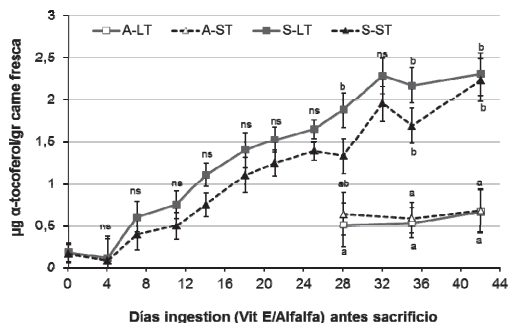
tocopherol levels in lambs supplemented with  $\alpha$ -tocopherol increased significantly to be approximately 5-fold higher than C lambs. After the day 11 the plasma  $\alpha$ -tocopherol content kept steady. The effect of the grazing length on plasma  $\alpha$ -tocopherol was not significant. In both muscles studied (LT and ST) the period length of supplementation of  $\alpha$ -tocopherol had significant influence increasing the content until the end of the study, although no differences between LT and ST muscles were observed. In lipid oxidation there was a significant interaction between days of intake concentrate and time of display in meat, TBARS values from 0 to 14 days of intake had a sharply decrease and thereafter kept steady. Thereby seems not suitable fed light lambs more than 14 d before slaughter.

**Keywords:** *semiteminosus, lucerne, shelf life, light lamb*

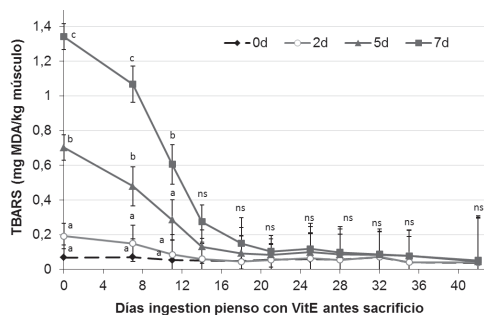
1a)



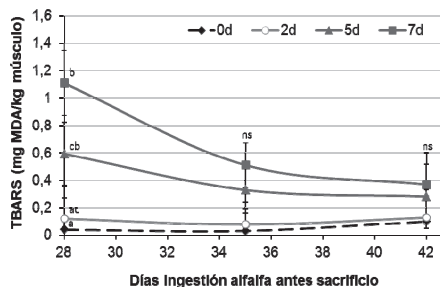
1b)



1c)



1d)



**Figura 1:** (1a) Evolución del contenido de  $\alpha$ -tocopherol en el plasma con los días de ingesta, A (Alfalfa), S (Suplementación con vitamina E) y C (Control). (1b) Concentración de  $\alpha$ -tocopherol en músculo L.thoracis (LT) y Semiteminosus (ST). (1c-d) Relación días de ingestión de pienso enriquecido con vitamina E (c) o alfalfa (d) y oxidación lipídica (TBARS) a cada tiempo de exposición (0, 2, 5 y 7 días).

## EFFECTO DE LA FUENTE Y EL NIVEL DE FIBRA EN PIENSO DE POLLITAS DURANTE LA FASE DE RECRÍA SOBRE LA PRODUCTIVIDAD EN PUESTA

Bouali<sup>1</sup>, O., Pérez Bonilla<sup>2</sup>, A., Guzmán<sup>1</sup>, P., Mandalawi<sup>1</sup>, H. A. y Mateos<sup>1</sup>, G. G.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, UP Madrid. Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid.

<sup>2</sup>Camar Agroalimentaria S.L, 45214, Toledo.

gonzalo.gmateos@upm.es

### INTRODUCCIÓN

La fibra dietética es un componente importante de las dietas de las aves. La inclusión en el pienso de ciertos tipos de fibra en cantidad adecuada mejora la adaptación del tracto gastrointestinal (TGI) a los actuales sistemas de producción y de alimentación, reduciendo los trastornos digestivos y mejorando la productividad global (Jiménez-Moreno et al., 2009; Mateos et al., 2002). La fibra dietética puede aumentar el tiempo de retención de la digesta en la parte proximal del TGI y tiene un marcado efecto sobre la anatomía y el desarrollo y funcionamiento del mismo (Mateos et al., 2012), con aumento del tamaño de la molleja (Hetland et al., 2005) y de la longitud de diversos órganos digestivos (Van der Klis y Van Voorst, 1993; Iji et al., 2001). Es una práctica común en la industria suministrar piensos fibrosos durante la última fase de recría a fin de mejorar la capacidad de ingesta de las pollitas y mejorar la productividad de las aves en el inicio de puesta. Sin embargo, la información existente sobre el beneficio de esta práctica es muy limitada. La hipótesis de este estudio fue que cambios en el desarrollo del TGI durante la fase de recría debido a la inclusión de diversas fuentes de fibra en el pienso podrían mejorar los parámetros productivos durante la puesta, especialmente durante el inicio de la misma.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó un total de 480 gallinas Lohmann Brown Classic. Durante la fase de recría, las pollitas recibieron uno de seis programas de alimentación con 2 piensos controles basados en cebada o maíz sin fibra añadida y cuatro dietas extra basadas en maíz a las que se añadieron una de dos fuentes de fibra (pulpa de remolacha o paja) a dos niveles de incorporación (2 y 4%). Durante la fase de puesta (17 a 40 semanas de edad) las gallinas fueron alimentadas con un pienso bajo (BE: 2.650 kcal EMA<sub>n</sub>/kg) o alto (AE: 2.750 kcal EMA<sub>n</sub>/kg) en energía. Los piensos experimentales (Tabla 1) se formularon conforme a la valoración de las materias primas de FEDNA (2010) y con el perfil nutricional recomendado por FEDNA (2008).

**Tabla 1.** Composición y análisis calculado (% sobre sustancia fresca) de los piensos experimentales en la fase de puesta

Ingrediente	EMA <sub>n</sub> (Kcal/kg)	
	2.650	2.750
Trigo	45,00	45,00
Maíz nacional	10,78	12,13
Harina de soja (47% PB)	18,33	18,23
Harina de girasol (34% PB)	12,00	10,00
Oleína de girasol	2,89	4,05
Otros <sup>1</sup>	11,00	10,59
Análisis calculado <sup>2</sup>		
EMA <sub>n</sub> (Kcal/kg)	2.650	2.750
Extracto etéreo	4,6	5,8
Proteína bruta	17,5	18,0
Lys	0,68	0,71
Met + cys	0,64	0,66

<sup>1</sup>Incluye minerales, aminoácidos industriales y corrector vitamínico-mineral

<sup>2</sup>FEDNA (2010)

Se controló la puesta de forma diaria, el peso del huevo durante los 3 últimos días de cada periodo y el resto de variables productivas (consumo de pienso, índice de conversión y

ganancia de peso) por periodos de 28 días y para el global de la prueba. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 12 tratamientos dispuestos factorialmente con 6 dietas para cada uno de los 3 periodos (0-5 sem, 5-10 sem y 10-17 sem de vida) que se correspondían con 2 piensos control sin fibra añadida y un factorial 2 x 2 con 2 fuentes de fibra a 2 niveles de inclusión y 2 niveles de energía del pienso durante la fase de puesta (17 a 40 semanas de edad). Cada tratamiento se replicó 4 veces, y la unidad experimental fue la jaula con 10 gallinas. Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 1990) para diseños completamente al azar y se analizaron los efectos principales y sus interacciones. Los resultados se presentan en tablas como medias normales. Se consideraron significativos valores de  $P < 0,05$  en cuyo caso, las medias se compararon mediante el test de Tukey. Valores entre 0,05 y 0,10 se consideraron como tendencia.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla 2.** Influencia de la fuente, del nivel de fibra y del nivel de energía in el pienso sobre los parámetros productivos de las aves de 17 a 40 semanas de edad

	Fibra (%)	AMEn (Kcal/kg)	Puesta (%)	P H <sup>1</sup> (g)	M H <sup>2</sup> (g/d)	Consumo (g/d)	IC (Kg/Kg)	Δ PV (g)
Control maíz	0	2.650	93,5	61,3	57,4	115,2	2,01	394
		2.750	94,2	60,9	57,4	111,3	1,95	376
Control cebada	0	2.650	94,9	59,1	56,2	114,3	2,04	369
		2.750	93,9	60,3	56,6	110,3	1,95	338
Paja	2	2.650	94,9	60,2	57,2	113,9	1,99	362
		2.750	93,1	61,3	57,1	111,2	1,96	391
	4	2.650	93,5	61,3	57,4	114,0	2,00	359
		2.750	93,7	59,4	55,7	111,2	2,01	374
Pulpa remolacha	2	2.650	91,2	61,6	56,3	113,5	2,03	385
		2.750	92,4	61,5	56,9	109,7	1,94	353
	4	2.650	93,7	59,8	56,1	113,6	2,03	356
		2.750	89,9	60,9	54,9	109,1	2,00	406
Efectos principales								
Fuente de fibra								
	Paja		93,8 <sup>a</sup>	60,5	56,9	112,6	1,99	371
	Pulpa de remolacha		91,4 <sup>b</sup>	60,9	56,0	111,5	2,00	375
Nivel de fibra (%)								
	2		92,9	61,1	56,9	112,1	1,98	373
	4		92,7	60,3	56,0	112,0	2,01	374
Nivel de energía (Kcal/kg)								
	2.650		93,6	60,5	56,7	114,1 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>	371
	2.750		92,9	60,7	56,5	110,5 <sup>b</sup>	1,97 <sup>b</sup>	373
EEM (n=4)			1,192	0,594	0,859	1,106	0,026	26,064
Probabilidad								
	Modelo general		0,1766	0,0562	0,6048	0,0031	0,0792	0,8436
	Fuente de fibra en recría		0,0480	0,4017	0,2276	0,2976	0,5394	0,8391
	Nivel de fibra en recría		0,8632	0,1100	0,2156	0,9317	0,1906	0,9547
	Nivel de energía en puesta		0,3026	0,6641	0,5716	<.0001	0,0014	0,8803

<sup>1</sup>Peso del huevo

<sup>2</sup>Masa de huevo

La inclusión de fibra en el pienso de las pollitas no afectó a ninguno de los parámetros productivos considerados durante la puesta. El tipo de pienso en puesta afectó a los consumos voluntarios (114,1 vs. 110,5 para BE y AE, respectivamente;  $P < 0,001$ ) y a los IC (2,02 vs. 1,97 para BE y AE, respectivamente;  $P = 0,0014$ ) pero no a los índices de puesta, al peso de los huevos o las ganancias de peso. Los resultados indican que la inclusión de fibra adicional a piensos de recría basados en maíz y soja, no afectó la productividad de las aves durante la fase de puesta. La utilización de piensos de puesta de alta energía, manteniendo constante la relación EMA<sub>n</sub>; aminoácidos indispensables redujo el consumo de

pienso y mejoró la eficiencia alimentaria pero no afectó a ninguno de los parámetros productivos estudiados. Se concluye que la inclusión en el pienso de recría de paja o de pulpa de remolacha a niveles de hasta el 4% no afectó la productividad de las gallinas en la fase de puesta.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FEDNA. 2010. De Blas, C., Mateos, G. G. & Rebollar, P • FEDNA. 2008. Lázaro, R. & Mateos, G. G • Hetland, H., Svihus, B. & Choct, M., 2005. *Poult. Sci.* 60:415-422. • Iji, P. A., Saki, A. A. & Tivey, D. R. 2001. *J. Feed Sci. Technol.* 89:175-188 • Jiménez-Moreno, E., González-Alvarado, J. M., González-Serrano, A., Lázaro, R. & G. G. Mateos. 2009. *Poult. Sci.* 88:2562-2574 • Mateos, G. G., Jiménez Moreno, E., Serrano, M. P. & Lázaro, R. P. 2012. *J. Appl. Poult. Res.* 21:156-174 • Mateos, G. G., Lázaro, R. & Gracia, M. 2002. *J. Appl. Poult. Res.* 11:437-452 • Van der Klis, J. D. & Van Voorst, A. 1993. *Poult. Sci.* 72:503-512. • SAS Institute. 1990. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

#### EFFECT OF SOURCE AND LEVEL OF FIBER OF THE REARING DIETS ON LAYING PERFORMANCE OF BROWN EGG-LAYING HENS

**ABSTRACT.** In total, 480 Lohmann Brown egg-laying hens were used in this study. During the rearing phase the pullets were fed 6 different feeding programs; two of them differed in the main cereal used (corn vs. barley) and the remaining 4 formed a 2x2 factorial with 2 fiber sources (straw and sugar beet pulp) at 2 levels of inclusion (2 and 4%). The fiber sources were included in the corn diets (3 periods) at expense (wt:wt) of the whole diet. During the laying period (17-40 wk of age), hens were fed a diet with 2.650 or 2.750 kcal AME<sub>n</sub>/kg and with similar indispensable AA content per kcal of AME<sub>n</sub>. The experimental design was completely randomized with 12 treatments arranged as a 6x2 factorial with 6 rearing feeding programs (3 periods) and 2 laying diets. Type of diet used during the rearing period did not affect hen performance during the laying period. Layers fed the high energy diet ate less feed ( $P < 0,001$ ) and had better FCR ( $P < 0, 01$ ) than hens fed the low energy diet. However, energy content of the layer diet did not affect egg rate, egg weight, or BW change of the hens. The use of a high energy diet during the laying period did not affect egg rate or egg weight as compared with the use a low of energy diet. It is concluded that the inclusion of fiber in the rearing diets had little effect on performance of the hens during the laying period. Also, the AME<sub>n</sub> concentration of the diet will depend on the relative cost of available ingredients.

**Keywords:** laying hens, metabolizable energy, straw, sugarbeet pulp

**INFLUENCIA DE LA INCLUSIÓN DE FIBRA EN EL PIENSO SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE POLLITAS RUBIAS DE 1 A 35 DÍAS DE EDAD**  
Guzmán<sup>1</sup>, P., Saldaña<sup>1</sup>, B., Sidrach<sup>1</sup>, S., Kimiaetalab<sup>1</sup>, M. V., Pérez-Bonilla<sup>1</sup>, A., García, J.<sup>2</sup> y Mateos G. G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, U. P. Madrid. Ciudad Universitaria, 28040, Madrid.

<sup>2</sup>Camara Agroalimentaria, S.L., 45214, Toledo, España.

gonzalo.gmateos@upm.es

### INTRODUCCIÓN

La fibra dietética representa la fracción indigestible de los ingredientes del pienso por lo que diluye el contenido en nutrientes del mismo (Rougière y Carré, 2010). Además, un aumento en el nivel de fibra del pienso puede reducir el consumo voluntario (Sklan et al., 2003), alterar el perfil de la flora gastrointestinal y aumentar la incidencia de procesos entéricos (Janssen and Carré, 1985). Sin embargo, estudios recientes muestran que la inclusión de ciertas fuentes de fibras a niveles adecuados podrían mejorar los rendimientos productivos y reducir la incidencia de problemas digestivos en aves (Mateos, 2012). En broilers, la inclusión de fibra adicional en el pienso mejoró la fisiología digestiva, aumentando el tamaño de la molleja, reduciendo el pH de la digesta de este órgano (Sacranie et al., 2012) y mejorando de los rendimientos productivos (González-Alvarado et al., 2010). Fuentes de fibra insoluble tales como la cascarilla de avena (CAV), la cascarilla de girasol (CGI) y la paja de cereales (PCE) podrían mejorar la fisiología del tracto gastrointestinal (TGI) y la digestibilidad de ciertos nutrientes cuando se incluyen en el pienso en cantidades moderadas (Hetland et al., 2003). Por otro lado, fuentes de fibra soluble, tal como la pulpa de remolacha (PRE), incrementan la viscosidad intestinal, lo que podría reducir el consumo de pienso (Jiménez-Moreno et al., 2010). Los autores no han encontrado estudio alguno sobre los efectos de la inclusión de fibra adicional en el pienso sobre los rendimientos productivos de pollitas comerciales. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de incluir diversas fuentes de fibra a diferentes niveles en el pienso sobre los rendimientos productivos de pollitas de 1 a 35 d de edad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4.000 pollitas Lohmann Brown Classic de 1 a 35 d de edad. El ensayo fue completamente al azar con 2 piensos controles basados en cebada o maíz y 6 piensos adicionales basados en maíz que formaban un factorial 3x2 con 3 fuentes de fibra (CGI, PCE ó PRE) y 2 niveles (2 ó 4%) de inclusión (Tabla 1). La fuente de fibra se introdujo en el pienso en sustitución (kg:kg) de la dieta. Ambos piensos fueron suplementados con enzimas, por lo que el nivel de EMAn de la cebada se incrementó en un 2% en relación a los valores indicados por FEDNA (2010). Todos los piensos se presentaron en forma de harina. Cada tratamiento se replicó 10 veces y la unidad experimental fue la jaula (50 pollitas). Las pollitas se pesaron y el consumo de alimento se controló semanalmente por jaula. La ganancia media diaria (GMD), el consumo medio diario (CMD) y el IC se calcularon a partir de estos datos por semana y para el global de la prueba. Los datos se analizaron utilizando el procedimiento GLM de SAS para diseños al azar con los tratamientos ordenados de forma factorial. Además, se realizaron contrastes polinomiales para estudiar el efecto lineal (L) y cuadrático (Q) de la inclusión de niveles crecientes de fibra (0, 2 y 4%) sobre los diversos parámetros productivos analizados.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el global de la prueba, el tipo de cereal utilizado (cebada vs. maíz) no afectó a ninguna de las variables estudiadas (Tabla 2). Sin embargo, de 7 a 21 d de edad (datos no mostrados) las pollitas que consumieron el pienso basado en cebada tuvieron un mejor rendimiento productivo que las que comieron el pienso basado en maíz. Posiblemente el efecto de las enzimas sobre el nivel de EMAn de la cebada fue mayor de lo estimado en pollitas jóvenes, tal y como ocurre en broilers (Pettersson and Aman, 1988). Lázaro et al. (2003) también observaron en ponedoras una mejora de los parámetros productivos al suplementar las dietas con enzimas. En general, la inclusión de una fuente de fibra en el pienso mejoró la GMD de las pollitas en comparación con el pienso control, pero ni el CMD ni el IC se vieron afectados. Jiménez-Moreno et al. (2009b) observaron una mejora de la

GMD al incluir 3% de PRE o de CAV en el pienso de broilers de 1 a 21 d. De manera similar, González-Alvarado et al. (2007) demostraron que la inclusión de un 3% de CAV o cascarilla de soja mejoró la GMD de broilers de 1 a 21 d de edad. En cuanto a la fuente de fibra, las pollitas que comieron piensos con CGI crecieron más que las que comieron PRE en el global de la prueba, con aquellas que comieron PCE situadas en una posición intermedia. Estos resultados son similares a los obtenidos por Jiménez-Moreno et al. (2010) que observaron que broilers alimentados con un 3% de CAV crecieron más que los alimentados con PRE. Probablemente las diferencias obtenidas se deban a que la PRE tiene un mayor contenido en pectinas que la CAV, por lo que retiene más agua e incrementa el volumen de la digesta reduciendo el consumo. En conclusión, cebada suplementada con enzimas y maíz pueden usarse indistintamente como cereal principal en piensos para pollitas. La inclusión de una fuente de fibra en el pienso mejoró los parámetros productivos de 1 a 35 d de edad, siendo el beneficio más acusado cuando se utilizó CGI. Además, los resultados productivos fueron mejores con un 2% que con un 4% de fibra añadida. En base a los resultados obtenidos, las pollitas jóvenes podrían necesitar una mínima cantidad de fibra en la dieta para optimizar sus resultados productivos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal. 2010. De Blas, C., G. G. Mateos & P. G. Rebollar (Eds). Fund. Esp. Desarro. Nutr. Anim., Madrid, España.
- González-Alvarado, J. M., E. Jiménez-Moreno, R. Lázaro & G.G. Mateos. 2007. *Poult. Sci.* 86:1705-1715.
- González-Alvarado, J.M., E. Jiménez-Moreno, D. González-Sánchez, R. Lázaro & G. G. Mateos. 2010. *Anim. Feed Sci. Technol.* 162:37-46.
- Hetland, H., B. Svihus & Å. Krogdahl. 2003. *Br. Poult. Sci.* 44:275-282.
- Janssen, W. M. M. A. & B. Carré. 1985. Pages 71-88 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. W. Haresign and D. J. A. Cole (Eds), Butterworths, London, UK.
- Jiménez-Moreno, E., J. M. González-Alvarado, A. González-Serrano, R. Lázaro & G. G. Mateos. 2009b. *Poult. Sci.* 88:2562-2574.
- Jiménez-Moreno, E., J. M. González-Alvarado, D. González-Sánchez, R. Lázaro & G. G. Mateos. 2010. *Poult. Sci.* 89:2197-2212.
- Lázaro, R., M. García, M. J. Aranibar, and G. G. Mateos. 2003a. *Br. Poult. Sci.* 44:256–265.
- Mateos, G. G., E. Jiménez-Moreno, M. P. Serrano & R. P. Lázaro. 2012. *J. Appl. Poult. Res.* 21:156-174.
- Pettersson, D. & P.Åman. 1988. *Anim. Feed Sci. Technol.* 20:313–324.
- Rougière, N. & B. Carré. 2010. *Animal* 4:1861-1872.
- Sacranie, A., B. Svihus, V. Denstadli, B. Moen, P. A. Iji & M. Choct. 2012. *Poult. Sci.* 91:693-700.
- SAS Institute. 1990. *SAS STAT User's Guide*. Version 6, 4th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Sklan, D., A. Smirnov & I. Plavnik. 2003. *Br. Poult. Sci.* 44:735–740.

**Agradecimientos:** El presente trabajo ha sido parcialmente financiado por la Comunidad de Madrid S2009/AGR-1704.

**Tabla 1.** Composición y valor nutricional de los piensos experimentales (%).

Fuente de fibra Nivel de fibra (%)	Cebada		Maíz				PRE	
	0	0	PCE		CGI		PRE	
		0	2	4	2	4	2	4
<b>Ingrediente</b>								
Cebada (11.3% PB)	30	-	-	-	-	-	-	-
Maíz	10	38	37,2	36,5	37,2	36,5	37,2	36,5
Trigo (11.2% PB)	20	20	19,6	19,6	19,6	19,2	19,6	19,2
Harina soja (47% PB)	32,1	35	34,3	33,6	34,3	33,6	34,3	33,6
Fuente de fibra <sup>1</sup>	-	-	2	4	2	4	2	4
Otros <sup>2</sup>	7,9	7	6,9	6,7	6,9	6,7	6,9	6,7
<b>Valor nutricional</b>								
EMAn (kcal/kg)	2.909	2.944	2.887	2.831	2.892	2.840	2.903	2.862
Lys digestible <sup>3</sup>	1,13	1,15	1,13	1,11	1,13	1,11	1,13	1,11
Ca	0,97	0,97	0,96	0,95	0,96	0,95	0,97	0,97
P digestible	0,53	0,53	0,52	0,51	0,52	0,51	0,52	0,51

<sup>1</sup>Paja de cereales (PCE), cascarilla de girasol (CGI) o pulpa de remolacha (PRE).

<sup>2</sup>Grasa aves, fosfato bicálcico, carbonato cálcico, NaCl, DL-Met, corrector vitamínico mineral.

<sup>3</sup>Resto de aminoácidos según el criterio de proteína ideal.

**Tabla 2.** Influencia del cereal y de la fuente y nivel de inclusión de fibra en el pienso en base a maíz sobre los rendimientos productivos de pollitas de 1 a 35 d de edad.

Fuente de fibra	Nivel de Inclusión (%)	1-7 d			1-35 d		
		CMD (g/d)	GMD (g/d)	IC	CMD (g/d)	GMD (g/d)	IC
Cebada	0	8,2	4,5	1,84	19,8	8,3 <sup>ab</sup>	2,39
Maíz	0	8,2	4,6	1,79	19,8	8,2 <sup>b</sup>	2,41
PCE <sup>1</sup>	2	8,7	4,7	1,84	20,2	8,4 <sup>ab</sup>	2,40
	4	8,9	4,8	1,85	20,5	8,5 <sup>ab</sup>	2,41
CGI <sup>2</sup>	2	9,0	4,8	1,87	20,5	8,7 <sup>a</sup>	2,36
	4	8,8	4,7	1,87	20,5	8,5 <sup>ab</sup>	2,41
PRE <sup>3</sup>	2	8,8	4,7	1,88	20,3	8,4 <sup>ab</sup>	2,41
	4	8,6	4,6	1,90	20,4	8,3 <sup>ab</sup>	2,47
Efectos principales							
Fuente de fibra							
	PCE	8,8	4,8	1,85	20,4	8,5 <sup>ab</sup>	2,41
	CGI	8,9	4,8	1,87	20,5	8,6 <sup>a</sup>	2,38
	PRE	8,7	4,6	1,89	20,4	8,4 <sup>b</sup>	2,44
Nivel de inclusión (%)							
	2	8,8	4,7	1,87	20,3	8,5	2,39
	4	8,8	4,7	1,87	20,5	8,4	2,43
EEM (n=10)		0,323	0,144	0,072	0,231	0,096	0,027
Probabilidad							
	Modelo general	0,469	0,642	0,975	0,134	0,033	0,350
	Inclusión PCE						
	Lineal	0,143	0,332	0,504	0,038	0,054	0,960
	Cuadrático	0,683	0,847	0,906	0,723	0,486	0,661
	Inclusión CGI						
	Lineal	0,154	0,457	0,426	0,034	0,029	0,800
	Cuadrático	0,211	0,373	0,694	0,264	0,020	0,164
	Inclusión PRE						
	Lineal	0,310	0,928	0,265	0,046	0,537	0,227
	Cuadrático	0,282	0,480	0,757	0,533	0,132	0,337
	Fuente de fibra	0,847	0,543	0,814	0,844	0,027	0,175
	Nivel de inclusión	0,820	0,657	0,755	0,427	0,261	0,092
	Fuente*Nivel	0,826	0,756	0,987	0,893	0,397	0,722

<sup>1</sup>Paja de cereales tratada con NaOH.

<sup>2</sup>Cascarilla de girasol.

<sup>3</sup>Pulpa de remolacha.

## INFLUENCE OF FIBER INCLUSION IN THE DIET ON GROWTH PERFORMANCE OF BROWN-EGG LAYING PULLETS FROM 1 TO 35 DAYS OF AGE

**ABSTRACT:** In total, 4,000 one-d-old pullets were used to investigate the effects of the main cereal and the inclusion of a fiber source in the diet on growth performance of pullets from 1 to 35 d of age. There were 2 control diets based on corn or barley and 6 extra diets arranged as a 2x3 factorial that included 2 or 4% of cereal straw, sugar beet pulp (SBP), or sunflower hulls (SFH) at the expense (wt/wt) of the whole corn diet. Main cereal of the diet did not affect any of the variables studied. However, pullets fed SFH had higher BW gain ( $P < 0.05$ ) than pullets fed SBP with pullets fed straw being intermediate. The inclusion of a fiber source in the diet increased ADFI linearly (L,  $P < 0.05$ ) and tended to increase BW gain. SBP inclusion tended (L,  $P = 0.063$ ) to hinder FCR but no effects were detected for straw or SFH inclusion. In conclusion, the inclusion of moderate amounts of lignified sources of fiber improved growth performance of pullets from 0 to 35 d of age. Also, barley supplemented with enzymes and corn can be used indistinctly as the main cereal in starter diets for pullets.

**Keywords:** cereal straw, pullet performance, sugar beet pulp, sunflower hulls.

## INFLUENCIA DE LA PRESENTACIÓN Y DEL NIVEL DE ENERGÍA DEL PIENSO SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS EN POLLITAS DE 1 A 35 DÍAS DE EDAD

Saldaña<sup>2</sup>, B., Guzmán<sup>2</sup>, P., Pérez-Bonilla<sup>1</sup>, A., Mandalawi<sup>2</sup>, H. A., Harzalli<sup>2</sup>, R. y Mateos<sup>2</sup>, G.

<sup>1</sup>Camar Agroalimentaria, S.L., 45214 Toledo.

<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal, U. P. Madrid. Ciudad Universitaria, 28040, Madrid.  
gonzalo.gmateos@upm.es

### INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios (Brickett et al., 2007; Serrano et al., 2012) han demostrado que la granulación del pienso mejora el consumo, los IC y el PV en broilers. La granulación podría aumentar la digestibilidad de algunos de los componentes de la dieta (Abdollahi et al., 2011) y reducir las pérdidas de alimento en animales no rumiantes (Serrano et al., 2012; Berrocoso et al., 2013). Sin embargo, la información disponible sobre el efecto de la presentación del pienso sobre la productividad en pollitas es escasa. Debido a su menor consumo y menor velocidad de crecimiento, es de esperar que los beneficios de la granulación sean inferiores, en valores absolutos, en pollitas que en broilers. La densidad energética del pienso afecta al crecimiento y al IC en avicultura. Las aves comen para satisfacer sus necesidades energéticas (Nahashon et al, 2006) y por tanto, aumentan la ingesta voluntaria de pienso al disminuir el contenido de energía del mismo (Veldkamp et al, 2005). Sin embargo, las pollitas podrían no ser capaces de mantener constante la ingesta de energía con dietas muy diluidas (Pérez-Bonilla et al., 2012). Por otra parte, piensos muy energéticos son más palatables y tienden a aumentar el consumo voluntario, lo que podría resultar en mejoras de las GMD y de los IC (Frikha et al., 2009a; Perez-Bonilla et al., 2012). El objetivo del presente estudio fue comparar los efectos de la presentación del pienso y la concentración energética del mismo sobre los rendimientos productivos en pollitas de 1 a 35 d de edad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 3.000 pollitas Lohmann Brown de un día de edad. El experimento (1 a 35 días de edad) fue completamente al azar con 10 tratamientos ordenados de forma factorial con dos presentaciones del pienso (harina vs. migaja) y 5 niveles de EMAn (2.850, 2.900, 2.950, 3.000 y 3.050 kcal/kg; Tabla 1). Cada tratamiento se replicó 6 veces y la unidad experimental fue la jaula con 50 pollitas. Se controló el consumo de pienso y el PV de las aves semanalmente. A partir de estos datos, se determinaron la GMD, el CMD y el IC por semana y para el global de la prueba. Los datos se analizaron utilizando el procedimiento GLM de SAS (SAS Inst.. Inc., Cary, NC) para diseños al azar con tratamientos organizados factorialmente. Además, se estudiaron los efectos lineal (L) y cuadrático (Q) del contenido en EMAn sobre los diversos parámetros productivos. Cuando se obtuvieron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) se utilizó el test Tukey para separar medias.

**Tabla 1.** Composición y análisis calculado de las dietas experimentales

EMAn (kcal/kg)	2.850	2.900	2.950	3.000	3.050
<b>Ingrediente</b>					
Maíz	35,0	35,0	35,0	35,0	35,0
Harina de soja (45.5% PB)	33,1	34,8	36,5	38,2	39,9
Trigo	19,1	18,2	17,3	16,5	15,6
Harina de girasol (28% PB)	6,0	4,5	3,0	1,5	-
Otros <sup>1</sup>	6,8	7,5	8,2	8,8	9,5
<b>Análisis calculado<sup>2</sup></b>					
EMAn (kcal/kg)	2.850	2.900	2.950	3.000	3.050
PB	21,7	22,0	22,2	22,5	22,7
Lisina digestible <sup>3</sup>	0,97	1,00	1,03	1,05	1,08
Ca	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
P	0,82	0,82	0,81	0,81	0,80

<sup>1</sup>Aceite de soja, minerales, aminoácidos industriales y corrector vitamínico-mineral

<sup>2</sup>Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (2010)



<sup>3</sup>Resto de aminoácidos según el criterio de proteína ideal

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las pollitas alimentadas con migas tuvieron mayor GMD y mejor IC que las alimentadas con harina (Tabla 2), resultados que coinciden con datos de Frikha et al. (2009b). No hemos encontrado ningún otro estudio en el que se compare la presentación del pienso (harina vs. migaja) en pollitas de 1 a 35 d de edad. En broilers, numerosos estudios muestran una mejora del rendimiento productivo cuando los piensos se presentan en forma de migas o en gránulo (Brickett et al., 2007; Serrano et al., 2012). Resultados similares han sido publicados (Wahlström et al., 1999) en aves de puesta. Para el global del experimento, las pollitas alimentadas con harina consumieron más pienso y tuvieron peores conversiones que las alimentadas con migas, lo que podría explicarse por un mayor desperdicio de alimento (Serrano et al., 2012). Además, al granular, se reduce el tamaño de partícula del pienso y un menor tamaño favorece el acceso de las enzimas endógenas a los nutrientes, aumentando la eficiencia digestiva (Amerah et al., 2008). Por otra parte, la aplicación de calor durante el proceso de granulado modifica la estructura de las proteínas, lo que puede mejorar la digestibilidad de los aminoácidos. Asimismo, el procesado por calor puede facilitar la destrucción de ciertos factores antinutricionales, tales como los inhibidores de tripsina presentes en la harina de soja (Herkelman et al., 1991). De 1 a 7 d de edad, las pollitas alimentadas con migas consumieron más pienso que las alimentadas con harina (datos no mostrados). Varios autores han observado un aumento en el consumo voluntario al granular el pienso tanto en broilers (Abdollahi et al., 2011) como en aves de puesta (Pepper et al., 1968). Gallinas ponedoras (Savory y Hetherington, 1997) y pollos de engorde (Savory, 1974) precisaron más tiempo para comer una cantidad dada de pienso cuando éste se ofreció en harina que cuando se ofreció granulado. Al aumentar el contenido en EMAn del pienso disminuyó el CMD y mejoró el IC, resultados que concuerdan con datos de Grobas et al. (1999) en gallinas ponedoras y Brickett et al. (2007) en broilers. En base a los resultados del ensayo, se recomienda la utilización de migas en piensos para pollitas de 1 a 35 días de edad. Por otro lado, la elección del nivel de EMAn del pienso dependerá del precio relativo de las materias primas disponibles en un momento dado.

**Tabla 2.** Influencia del nivel de energía metabolizable (EMAn, kcal/kg) y presentación del pienso sobre los rendimientos productivos en pollitas de 1 a 35 d de edad. Efectos principales<sup>1</sup>

	CMD (g/d)	GMD (g/d)	IC
Presentación			
Harina	21,1	9,1	2,21
Migaja	20,7	9,7	2,06
EMAn (kcal/kg)			
2.850	21,2 <sup>a</sup>	9,4	2,17 <sup>a</sup>
2.900	21,1 <sup>ab</sup>	9,4	2,14 <sup>a</sup>
2.950	21,0 <sup>ab</sup>	9,4	2,16 <sup>a</sup>
3.000	20,8 <sup>ab</sup>	9,5	2,12 <sup>a</sup>
3.050	20,5 <sup>b</sup>	9,5	2,06 <sup>b</sup>
Probabilidad <sup>1</sup>			
DE <sup>2</sup>	0,52	0,25	0,043
Presentación	0,0104	<,0001	<,0001
EMAn (kcal/kg)			
L <sup>3</sup>	0,0009	0,3827	<,0001
Q <sup>4</sup>	0,3354	0,7114	0,0991

<sup>1</sup> La interacción no fue significativa ( $P>0,05$ ) para ninguno de los parámetros estudiados

<sup>2</sup> Desviación estándar (30 para la presentación del pienso y 12 réplicas para la EMAn)

<sup>3</sup> L = efecto lineal

<sup>4</sup> Q = efecto cuadrático

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Abdollahi, M. R., Ravindran, V., Wester, T. J., Ravindran, G. & Thomas, D. V. 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 168:88-99. • Amerah, A. M., Ravindran, V., Lentle, R. G. & Thomas, D. G.

2008. Br. Poult. Sci. 49:455-462. • Berrocoso, J. D., Saldaña, B., Serrano, M. P., Cámara, L., Ibáñez, M. A. & Mateos, G. G. 2013. J. Anim. Sci. Doi: 10.2527/jas.2012-5448. • Brickett, K. E., Dahiya, J. P., Classen, H. L. & Gomis, S. 2007. Poult. Sci. 86:2172-2181. • Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal. 2010. De Blas, C., Mateos, G. G. & Rebollar P. G. (Eds). Fund. Esp. Desarro. Nutr. Anim., Madrid, España. • Frikha, M., Safaa, H. M., Jiménez-Moreno, E., Lázaro, R. & Mateos G.G. 2009a. Anim. Feed Sci. Technol. 153:292-302. • Frikha, M., Safaa, H. M., Serrano, M. P., Arbe, X. & Mateos, G. G. 2009b. Poult. Sci. 88:994-1002. • Grobas, S., Méndez, J., de Blas, C. & Mateos, G. G. 1999. Poult. Sci. 78:1542-1551. • Herkelman, K. L., Cromwell, G. L. & Stahly, T. S. 1991. 69:4477-4486. • Nahashon, S. N., Adefope, N., Amenyenu, A. & Wright, D. 2006. Poult. Sci. 85:1847-1854. • Pepper, W.E., Summers, J.D., Slinger, S.J. & Ashton, G.C. 1968. Can. J. Anim. Sci. 48, 229-234. • Pérez-Bonilla, A., Novoa, S., García, J., Mohiti-Asli, M., Frikha, M. & Mateos, G. G. 2012. Poult. Sci. 91:3156–3166. • SAS Institute. 1990. SAS STAT User's Guide. Version 6, 4th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC. • Savory, C. J., 1974. Br. Poult. Sci. 15:281-286. • Savory, C. J. & Hetherington, J. D. 1997. Br. Poult. Sci. 38:125-131. • Serrano, M. P., Valencia, D. G., Méndez, J. & Mateos, G. G. 2012. Poult. Sci. 91:2838-2844. • Veldkamp, T., Kwakkel, R. P., Ferket, P. R. & Verstegen, M. W. A. 2005. Poult. Sci. 84:273-282. • Wahlström, A., Tauson, R. & Elinger, K. 1999. Poult. Sci. 78:1675-1680.

### **INFLUENCE OF FEED FORM AND ENERGY CONCENTRATION OF THE DIET ON PRODUCTIVE PERFORMANCE OF BROWN-EGG LAYING PULLETS FROM 1 TO 35 DAYS OF AGE**

**ABSTRACT:** The effects of feed form and energy concentration of the diet on productive performance were studied in Lohmann Brown pullets from 1 to 35 d of age. The experiment was completely randomized with 10 treatments arranged factorially with 2 feed forms (mash vs. crumbles) and 5 level of energy (2,850, 2,900, 2,950, 3,000, and 3,050 kcal AMEn/kg). Each treatment was replicated 6 times and the experimental unit was a cage with 50 pullets. Pullets fed crumbles had lower ADFI ( $P < 0.01$ ) but higher BWG ( $P < 0.01$ ) and better FCR ( $P < 0.01$ ) than pullets fed mash. An increase in the energy content of the diet reduced ADFI and increased FCR ( $P < 0.001$ ) but did not affect BWG. It is concluded that crumbling improved FCR and BWG from 1 to 35 d of age. An increase in the AMEn content of the diet improved FCR of the pullets but BWG was not affected. The utilization of diets in crumble form is recommended in brown-egg laying pullets from 1 to 35 d of age. In addition, the selection of the best level of AMEn to be used in the diets depends on the relative price of available ingredients.

**Key words:** energy level, feed form, pullet performance.

## **EFFECTO DEL CEREAL BASE Y DEL PROGRAMA DE ALIMENTACIÓN SOBRE LOS PARAMETROS PRODUCTIVOS EN POLLITAS DE 1 A 17 SEMANAS DE EDAD**

Harzalli<sup>1</sup>, R., Saldaña<sup>1</sup>, B., Guzmán<sup>1</sup>, P., Pérez-Bonilla<sup>2</sup>, A., García<sup>2</sup>, J. y Mateos<sup>1</sup>, G. G.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, U. P. Madrid, 28040 Madrid, España.

<sup>2</sup>Camar Agroalimentaria, S.L., 45214, Toledo, España.

gonzalo.gmateos@upm.es

### **INTRODUCCIÓN**

Maíz y trigo son los cereales más utilizados en piensos para aves. El maíz tiene menos proteína (7,7 vs. 11,2%) pero más energía (3.260 vs. 3.150 Kcal EMAn/kg) que el trigo (FEDNA, 2010). Además, el valor nutricional es más variable para el trigo que para el maíz (Kim et al., 1976; Mollah et al., 1983). En pollos y en ponedoras, numerosos trabajos indican que el trigo puede ser utilizado en sustitución del maíz como ingrediente principal del pienso (Mathlouthi et al., 2002; Carré et al., 2002; Lázaro et al., 2003; Pérez-Bonilla et al., 2011). Frikha et al. (2009), observaron que las pollitas alimentadas con maíz tenían mayores GMD pero IC similares que las pollitas alimentadas con trigo. La presentación del pienso afecta los rendimientos productivos en avicultura. Amerah et al. (2007) mostraron un aumento de la GMD y una mejora del IC en pollos alimentados con gránulos en comparación con los alimentados con harina. Gous y Morris (2001) observaron que pollitas alimentadas con migas de 1 a 4 sem y con gránulo de 5 a 20 sem de edad, consumieron 2% menos pienso pero pesaron un 6% más que las alimentadas con harina durante toda la recría. Frikha et al. (2009) observaron un incremento en la GMD en las pollitas alimentadas con gránulo respecto a las pollitas alimentadas con harina. Los autores no han encontrado información alguna sobre el efecto de alternar la presentación del pienso (bien en harina, bien en miga) durante las distintas etapas del periodo de recría (0-5, 5-10 y 10-17 sem de vida) sobre la productividad de las aves. El presente trabajo estudió la influencia del cereal base del pienso y de cambios en la presentación del mismo durante las 3 fases del programa de alimentación en recría sobre los parámetros productivos en pollitas de 1 a 17 semanas de edad.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 3.150 pollitas Lohmann Brown Classic de un día de edad. El diseño experimental fue complementado al azar con 8 tratamientos organizados de forma factorial con 2 cereales base (trigo vs. maíz) y 4 programas de alimentación durante la recría, que consistieron en modificar la forma de presentación del pienso (miga vs. harina) según la fase de recría (1-5 sem, 5-10 sem y 10-17 sem de edad). Dos de los tratamientos consistieron en suministrar los piensos durante toda la recría (1-17 sem) bien en forma de harina (H H H) o bien en forma de migas (M M M). Los otros dos tratamientos consistieron en combinar ambas formas de presentación a lo largo de los 3 periodos: uno de los tratamientos aportaba el pienso en migas de 1 a 5 sem y en harina de 5 a 17 sem (M H H), y el otro en migas de 1 a 10 sem y en harina de 10 a 17 sem (M M H). Se utilizaron 9 réplicas por tratamiento y la unidad experimental fue la jaula con 44 pollitas. Todos los piensos se formularon con contenidos similares en EMAn y en AA indispensables según FEDNA (2008) (Tabla 1). Al final de cada periodo productivo se pesaron las pollitas individualmente y se midió el consumo de pienso por réplica. A partir de estos datos se calcularon la GMD, el CMD y el IC por periodo y para el global de la prueba. Se determinó el efecto del cereal base del pienso y de la forma de presentación del mismo mediante un análisis de variancia con el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 1990). Cuando el efecto del cereal y la presentación fueron significativos ( $P < 0,05$ ) se utilizó el test de Tukey para comparar las medias.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el global de la prueba (1 a 17 sem) el tipo de cereal no afectó significativamente a ninguno de los parámetros estudiados. Similares resultados han sido presentados por Lázaro et al. (2003) y Pérez Bonilla et al. (2011) en ponedoras, y por Mathlouthi et al. (2002) en broilers. Sin embargo, Moran et al. (1993) observaron mejor productividad en pollos de 1 a 6 sem de edad con piensos basados en trigo que con piensos basados en maíz. En

pollitas, Frikha et al. (2009) observaron mejores GMD de 1 a 17 sem de edad con piensos basados en maíz que con piensos basados en trigo. Las discrepancias entre autores indican las necesidad de valorar detalladamente la composición y el valor nutricional de los trigos utilizados en cada ensayo en particular. En general, los datos publicados indican que cuando el trigo se suplementa con enzimas, este cereal puede sustituir en su totalidad al maíz del pienso.

La presentación del pienso influyó sobre los parámetros productivos a lo largo el periodo experimental. De hecho, cambiar la forma del pienso de miga a harina se detectó en todos los casos una pérdida de rendimiento productivo en el periodo posterior (datos no mostrados). De 1 a 17 sem de vida, el CMD fue mayor ( $P < 0,01$ ) para las pollitas que consumieron harina o miga durante toda la prueba que para las que consumieron migas sólo de 1 a 5 sem. Varios autores han observado un aumento del consumo del pienso con la granulación, tanto en broilers (Cerrate et al., 2009; Abdollahi et al., 2011) como en aves de puesta (Black et al., 1958). De 1 a 17 sem de edad las pollitas alimentadas con migas mostraron una mayor GMD ( $P < 0,001$ ) que las pollitas alimentadas con harina. Deaton et al. (1988) observaron que la granulación aumentó la GMD de pollitas de 12 a 20 sem de edad. Por otro lado, las pollitas que consumieron migas durante toda la recría tuvieron mejor IC ( $P < 0,005$ ) que las que consumieron harina. Serrano et al. (2013) observaron una mejora del IC en pollos alimentados con gránulo respecto a los alimentados con miga, y ambos mejores que los que consumieron harina. En base a los resultados obtenidos, al menos un 40% de trigo suplementado con enzimas puede utilizarse en sustitución de maíz en piensos de pollitas de 1 a 17 sem de edad. Por otro lado, la utilización de piensos en migas mejora la productividad en pollitas de 1 a 17 sem de edad pero podría afectar negativamente el desarrollo del aparato digestivo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdollahi, M. R., Ravindran, V., Wester, T. J., Ravindran, G. & Thomas, D. V. 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 168:88-99.
- Amerah, A. M., Ravindran, V., Lentle, R. G. & Thomas, D. G. 2007. Poult. Sci. 86:2615-2623.
- Black D. J. G., Jennings, R. C. & Morris, T. R. 1958. Poult. Sci. 37:707-722.
- Carré, B., Idi, A., Maisonnier, S., Melcion, J. P., Oury, F. X., Gomez, J. & P. 2002. Br. Poult. Sci. 43:404-415.
- Cerrate, S., Wang, Z., Coto, C., Yan, F. & Waldroup, P. W. 2009. J. Appl. Poult. Res. 18:590-597.
- Deaton, J. W., May, J. D. & Lott, B. D. 1988. Poult. Sci. 67:375-377.
- FEDNA. 2008. Lázaro, R., Mateos, G. G. & Barroeta, A. J. (Eds). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, FEDNA, Madrid, España.
- FEDNA, 2010. de Blas, C., Mateos, G.G. & Rebollar, P. G. (Eds). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, FEDNA, Madrid, España.
- Frikha, M., Safaa, H. M., Serrano, M. P., Arbe, X. & Mateos, G. G. 2009. Poult. Sci. 88:994-1002.
- Gous, R. M. & Morris, T. R. 2001. Br. Poult. Sci. 42:203-206.
- Kim, S. M., Patel, M. B., Reddy, S. J. & Ginnis, J. M. 1976. Poult. Sci. 55:520-530.
- Lázaro, R., García, M., Aranibar, M. J. & Mateos, G. G. 2003. Br. Poult. Sci. 44:256-265.
- Mollah, Y., Bryden, W. L., Wallis, I. R., Balnave, D. & Anison, E. F. 1983.
- Mathlouthi, N., Mallet, S., Saulnier, Quemener, L. B. & Larbier, M. 2002. Anim. Res. 51:395-406.
- Moran, E. T. Jr., Chen, X. & Blake, J. P. 1993. Poult. Res. 2:26-32.
- Pérez-Bonilla, A., Frikha, M., Mirzaie, S., García, J. & Mateos, G.G. 2011. Poult. Sci. 90 :2801-2810.
- SAS Institute, 1990. SAS@User's Guide. Version 6, SAS Institute, Cary, N.C.
- Serrano, M.P., Valencia, D.G., Méndez, J. & Mateos, G. G. 2013.

#### INFLUENCE OF MAIN CEREAL AND FEED FORM OF THE DIET ON PRODUCTIVE PERFORMANCE OF EGG-BROWN LAYING PULLETS FROM 1 TO 17 WEEKS OF AGE

**ABSTRACT:** The influence of the main cereal of the diet and feed form in the different phases of the rearing period on performance of egg-brown laying pullets from 1 to 17 wk of age was studied. There were 8 dietary treatments arranged as a 2x4 factorial with 2 main cereals (corn vs. wheat) and 4 forms of the diets during the feeding program. The treatments consisted in changing the form of the feed (mash vs. crumble) in the different phases (1 to 5, 5 to 10, and 10 to 17 wk of age). In 2 of the treatments pullets were fed mash or crumble continuously (1-17 wk), whereas in the others 2 treatments they were fed crumbles from 1 to 5 or 1 to 10 wk followed by mash. All diets within each of the phases were formulated to have similar nutrient content. From 1 to 17 wk of age main cereal of the diet did not affect any of

the variables studied. Feed form affected growth performance of the pullets at all periods. The pullets received mash or crumble for the entire experimental period had higher ADFI than pullets fed crumbles from 1 to 5 wk. Pullets fed crumbles continuously had higher BWG (14.0 vs. 13.4, 13.3, and 13.3;  $P < 0.001$ ) than pullets fed mash. Also, pullets fed crumbles continuously had better FCR than pullets fed mash with the other pullets being intermediate. The data indicate that the main cereal of the diet did not affect pullet performance. Also, feeding crumbles improved growth performance of the pullets. Therefore, wheat supplemented with enzymes can be used in substitution of corn in pullets from 1 to 17 wk of age.

**Keywords:** corn, crumble, feed form, pullet performance, wheat.

**Tabla 1.** Composición y análisis calculado de los piensos experimentales<sup>1</sup> (% sobre sustancia fresca)

Ingrediente	1-5 sem		5-10 sem		10-17 sem	
	Maíz	Trigo	Maíz	Trigo	Maíz	Trigo
Maíz	40,0	14,2	40,0	-	40,0	-
Trigo	14,2	40,0	-	40,0	-	40,0
Hna. soja (45,7% PB)	33,2	31,7	18,5	15,6	12,3	9,3
Cebada	-	-	24,1	27,0	20,0	22,8
Salvado de trigo	-	-	-	-	12,0	12,0
Hna. girasol (27,5% PB)	6,0	7,6	12,7	12,7	10,7	10,8
Aceite de soja	2,7	2,9	1,0	1,0	1,0	1,0
Otros <sup>2</sup>	3,9	3,6	3,7	3,8	4,1	4,1
Análisis calculado						
EMAn (Kcal/kg)	2.860	2.860	2.690	2.690	2.650	2.650
Extracto etéreo	5,1	4,9	3,5	2,8	3,6	3,0
Proteína bruta	21,8	21,8	18,2	18,2	16,0	16,0
Lys <sup>3</sup>	1,10	1,10	0,95	0,95	0,72	0,72

<sup>1</sup>Los piensos se suministraron en forma de migas o harina, según tratamiento.

<sup>2</sup>Incluye aminoácidos de síntesis, macrominerales y corrector vitamínico-mineral.

<sup>3</sup>Resto de aminoácidos según el criterio de proteína ideal. (FEDNA, 2008).

**Tabla 2.** Influencia del cereal y de la presentación del pienso sobre los parámetros productivos en pollitas de 1 a 17 semanas de edad. Efectos principales

	Edad (sem)			CMD	GMD	IC
	1-5	5-10	10-17	(g/d)	(g/d)	(g/g)
Cereal base						
Maíz				58,9	13,5	4,37
Trigo				58,4	13,5	4,33
Presentación <sup>1</sup>						
M	M	M	M	59,9 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	4,28 <sup>b</sup>
M	M	M	H	57,9 <sup>ab</sup>	13,4 <sup>b</sup>	4,33 <sup>ab</sup>
M	H	H	H	57,5 <sup>b</sup>	13,3 <sup>b</sup>	4,33 <sup>ab</sup>
H	H	H	H	59,3 <sup>a</sup>	13,3 <sup>b</sup>	4,44 <sup>a</sup>
EEM <sup>2</sup>				0,78	0,11	0,04
Probabilidad						
Cereal base				0,406	0,868	0,207
Presentación				0,007	0,001	0,005

<sup>1</sup>M=miga; H=harina. Presentación según la fase de recría considerada.

<sup>2</sup>Error estándar de la media (9 réplicas por cada tratamiento).

## **INFLUENCIA DEL CEREAL Y EL NIVEL DE INCLUSIÓN DE FIBRA EN EL PIENSO SOBRE LA PRODUCTIVIDAD EN POLLITAS DE 0 A 17 SEMANAS DE EDAD**

Sidrach de Cardona<sup>1</sup>, S., Guzmán<sup>1</sup>, P., Saldaña<sup>1</sup>, B., Kimiaetalab<sup>1</sup>, M. V., Pérez-Bonilla<sup>2</sup>, A., García<sup>2</sup>, J. y Mateos<sup>1</sup>, G. G.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, U. P. Madrid. Ciudad Universitaria. 28040, Madrid.

<sup>2</sup>Camar Agroalimentaria, S.L., 45214, Toledo, España  
gonzalo.gmateos@upm.es

### **INTRODUCCIÓN**

La fibra ha sido considerada como un diluyente del pienso en monogástricos con efectos negativos sobre consumo y la digestibilidad de los nutrientes (Jansen and Carré, 1985). Sin embargo, estudios recientes (Mateos et al., 2012) han mostrado que la inclusión de cantidades moderadas de fibra en el pienso podría mejorar tanto la digestibilidad de los nutrientes como el crecimiento de las aves. La inclusión de fibra en piensos para broilers podría incrementar el tiempo de retención de la digesta en la parte superior del tracto digestivo, estimulando el funcionamiento de la molleja (Hetland et al. 2005) y la producción de HCl en el proventrículo (Duke, 1986). Un descenso del pH de la molleja favorece la producción de pepsina e incrementa la solubilidad de las sales minerales (Jiménez-Moreno et al. 2009). Por lo tanto, la inclusión de cantidades adecuadas de fibra podría beneficiar el desarrollo del tracto gastrointestinal (Mateos et al., 2012). Sin embargo, la información disponible sobre los efectos beneficiosos de la fibra dietética en pollitas es escasa (Frikha et al., 2009). De hecho, los autores no han encontrado ningún estudio publicado sobre los efectos de la inclusión de fibra sobre el crecimiento de pollitas de 0 a 17 sem de edad. La influencia de fuentes de fibra tales como la cascarilla de avena, pulpa de remolacha (PRE) o cascarilla de soja sobre el desarrollo del tracto gastrointestinal ha sido bien estudiada en broilers (González-Alvarado et al., 2010). Sin embargo, la información disponible sobre el uso de paja de cereales (PCE) en dietas para avicultura es muy limitada; aun siendo una fuente de fibra abundante. La hipótesis del presente ensayo fue que la inclusión de cantidades moderadas de fibra en piensos de pollitas podría mejorar el rendimiento productivo con una mejora de la utilización de los nutrientes. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la inclusión de diversas fuentes de fibra a diferentes niveles en el pienso de pollitas sobre los rendimientos productivos de 0 a 17 sem de edad.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 3.000 pollitas Lohmann Brown Classic de 0 a 17 sem de vida. Se utilizaron 2 piensos controles basados en cebada o maíz y 4 piensos adicionales basados en maíz que formaban un factorial 2x2 con 2 fuentes de fibra (PCE o PRE) y 2 niveles de inclusión (2 o 4%). La cebada se suplementó con enzimas, por lo que el valor EMAn aumentó un 2% respecto a los valores indicados por FEDNA (2010). La fuente de fibra se introdujo en el pienso en sustitución (kg:kg) de la dieta. Todos los piensos se presentaron en forma de harina. Se utilizaron 10 réplicas por tratamiento y la unidad experimental fue la jaula con 50 pollitas. A las 3 sem de edad se realizó un desdoble quedando 22 pollitas por jaula. La ganancia media diaria (GMD), el consumo medio diario (CMD) y el IC se calcularon a partir de los datos recogidos a las 5, 10 y 17 sem de edad. Los datos se analizaron por período y en el global de la prueba utilizando el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 1990). Además, se realizaron contrastes polinomiales para estudiar el efecto lineal (L) y cuadrático (Q) de la inclusión de niveles crecientes de fibra (0, 2 y 4%) sobre los diversos parámetros productivos.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el presente estudio, el cereal base del pienso no afectó al crecimiento de las pollitas, de acuerdo con los resultados obtenidos por García et al (2008) en broilers y Lázaro et al. (2003) en gallinas de puesta. No se han encontrado estudios comparando el efecto del maíz y la cebada sobre el rendimiento productivo de pollitas de puesta con los que comparan estos resultados. Globalmente (0-17 sem), las pollitas que se alimentaron con PCE tendieron a crecer más que las alimentadas con PRE, sin que ni el CMD ni el IC se vieran afectados. La PRE contiene 43,6% de FND y es muy rica en pectinas, con una mayor capacidad de retención de agua, lo que podría aumentar el volumen de la digesta y la

viscosidad de la misma. Como resultado, podrían verse reducidos el CMD (Petterson and Razdan., 1993) y la GMD como se observa en este estudio. El nivel de inclusión de fibra afectó al IC siendo mejor con un 2% que con 4% de inclusión, probablemente relacionado con la mayor dilución de la dieta. La inclusión de fibra en el pienso no afectó al consumo de energía, pero mejoró la eficiencia energética (EE, definida como Kcal de EMAn por gramo de ganancia de peso), para ambas fuentes de fibra, pero con efectos más positivos para la PCE que para la PRE. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por González-Alvarado et al. (2010) en broilers de 0 a 42 días alimentados con dietas que contenían 3% de cascarilla de avena o PRE. El nivel de inclusión de fibra afectó al consumo energético (CE) siendo mayor en las pollitas alimentadas con un 2% de la fuente de fibra en la dieta. Los resultados confirman que la inclusión de fibra tiene efectos beneficiosos sobre el IC de las pollitas ya que mejora la utilización de los nutrientes. La cebada con enzimas puede utilizarse en sustitución del maíz como cereal principal en la dieta de pollitas. Además, la inclusión de una fuente de fibra mejoró los parámetros productivos, siendo los efectos más acusados con la inclusión de PCE que de PRE. Asimismo, el exceso de fibra (4 vs. 2%) redujo el efecto beneficioso de la inclusión de la misma en el pienso.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Duke, G. E. 1986. In: P.D Sturkie, P. D. (Ed.), *Avian Physiology*. Springer-Verlag, New York, NY, pp. 289-302.
- Frikha, M., Safaa, H. M., Serrano, M. P., Arbe, X. & Mateos, G. G. 2009. *Poult. Sci.* 88:994-1002.
- García, M., Lázaro, R., Latorre, M. A., Gracia, M. I. & Mateos, G. G. 2008. *Poult. Sci.* 87:940-948.
- González-Alvarado, J. M., Jiménez-Moreno, E., González-Sánchez, D., Lázaro, R. & Mateos G. G. 2010. *Anim. Feed Sci. Technol.* 162:37-46.
- Hetland, H., Svihus, B. & Choct, M. 2005. *World's Poult. Sci. J.* 60:415-422.
- Janssen, W. M. M. A. & Carré, B. 1985. Pages 71-88 In *Recent Advances in Animal Nutrition*. W. Haresign & D. J. A. Cole (Eds), Butterworths, London, UK.
- Jiménez-Moreno, E., González-Alvarado, J. M., González-Serrano, A., Lázaro, R. & Mateos, G. G. 2009. *Poult. Sci.* 88:2562-2574.
- Lázaro, R., García, M., Aranibar, M. J. & Mateos, G. G. 2003. *Br. Poult. Sci.* 44:256-265.
- Mateos, G. G., Jiménez-Moreno, E., Serrano, M. P. & Lázaro, R. P. 2012. *J. Appl. Poult. Res.* 21:156-174.
- Petterson, D. & Razdan, A. 1993. *Br. J. Nutr.* 70:127-137.
- SAS Institute. 1990. *SAS STAT User's Guide*. Version 6, 4th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

**Agradecimientos:** El presente trabajo ha sido parcialmente financiado por la Comunidad de Madrid S2009/AGR-1704.

**Tabla 1.** Composición y valor nutricional de los piensos experimentales (% sst)

Ingrediente <sup>a</sup>	0-5 semanas		5-10 semanas		10-17 semanas	
	Cebada	Maíz	Cebada	Maíz	Cebada	Maíz
Cebada	35,0	-	45,0	5,0	50,0	25,0
Maíz	-	40,0	-	40,0	-	40,0
Trigo	25,0	18,0	26,7	15	19,3	1,1
Harina de soja (47% PB)	32,1	35,0	23,6	25,2	18,0	18,8
Salvado de trigo	-	-	-	10,1	7,3	10,2
Otros <sup>b</sup>	7,9	7	4,7	4,7	5,4	4,9
Valor nutricional						
EMAn (kcal/kg)	2.886	2.946	2.803	2.809	2.711	2.750
Lys digestible	0,99	1,01	0,85	0,84	0,70	0,67
Ca	0,97	0,97	0,87	0,84	1,02	1,02
P digestible	0,85	0,84	0,66	0,73	0,87	0,86

<sup>a</sup>La fuente de fibra fue añadida al 2 o 4% en el pienso (kg:kg).

<sup>b</sup>Grasa, minerales, aminoácidos industriales y corrector vitamínico mineral.

**Tabla 2.** Influencia de la fuente y nivel de inclusión de fibra en la dieta sobre los rendimientos productivos de pollitas de 0 a 17 semanas de edad

Cereal	Fibra		0-17 semanas				
	Fuente	Nivel (%)	CMD (g)	GMD (g)	IC	CE <sup>c</sup> (kcal/d)	EE <sup>d</sup> (kcal/g PV)
Cebada	-		48,7	11,9	4,08 <sup>c</sup>	133,8 <sup>ab</sup>	11,2 <sup>b</sup>
Maíz	-		49,2	12,0	4,11 <sup>bc</sup>	136,5 <sup>a</sup>	11,4 <sup>ab</sup>
Maíz	PRE <sup>b</sup>	2	49,5	11,8	4,19 <sup>ab</sup>	134,8 <sup>ab</sup>	11,4 <sup>ab</sup>
Maíz	PRE	4	49,8	11,8	4,22 <sup>a</sup>	133,0 <sup>b</sup>	11,3 <sup>ab</sup>
Maíz	PCE <sup>a</sup>	2	49,2	11,7	4,20 <sup>ab</sup>	134,8 <sup>ab</sup>	11,5 <sup>a</sup>
Maíz	PCE	4	49,3	11,6	4,27 <sup>a</sup>	133,1 <sup>b</sup>	11,5 <sup>a</sup>
Efectos principales							
Fuente de fibra							
	PCE		49,7	11,8	4,20	133,9	11,3
	PRE		49,3	11,6	4,23	133,9	11,5
Nivel de inclusión (%)							
	2		49,4	11,8	4,19	134,8	11,4
	4		49,6	11,7	4,24	133,1	11,4
EEM (n=10)							
Probabilidad							
	Modelo General		0,143	0,065	<,001	0,025	0,005
	Inclusión PCE						
	Lineal		0,124	0,270	0,001	0,004	0,116
	Cuadrático		0,993	0,643	0,471	0,991	0,480
	Inclusión PRE						
	Lineal		0,733	0,007	<,001	0,005	0,237
	Cuadrático		0,918	0,695	0,589	0,938	0,552
	Fuente de fibra		0,203	0,100	0,194	0,970	0,006
	Nivel de inclusión		0,482	0,409	0,038	0,044	0,350

<sup>a</sup>Paja de cereales.

<sup>b</sup>Pulpa de remolacha.

<sup>c</sup>Consumo energético.

<sup>d</sup>Eficiencia energética

#### INFLUENCE OF MAIN CEREAL AND INCLUSION OF A FIBER SOURCE IN THE DIET ON PRODUCTIVE PERFORMANCE OF BROWN-EGG LAYING PULLETS FROM 0 TO 17 WEEKS OF AGE

**ABSTRACT:** In total, 3,000 one-day-old brown-egg laying pullets were used to investigate the effects of the main cereal of the diet and the inclusion of 2 fiber sources at 2 levels of inclusion on performance from 0 to 17 wk of age. The feeding program consisted in 3 phases (0-5, 5-10, and 10-17 wk of age) with similar nutrient content. Two of the diets (in each of 3 feeding periods) differed in the main cereal used (corn vs barley) and the other 4 diets were similar to the corn diet but included 2 or 4% of either cereal straw or sugar beet pulp (SBP) at expense (wt:wt) of the whole diet. The main cereal of the diet did not affect any of the traits studied. From wk 0 to 17, BW gain was reduced ( $P = 0.10$ ) by the inclusion of fiber in the diet, a reduction that tended to be more pronounced for the SBP than for the straw containing diet. Feed efficiency was reduced ( $P < 0.05$ ) as the level of fiber in the diet increased. We conclude that the main cereal of the diet had no effects on pullet growth. The inclusion of additional fiber in the diet affected negatively pullet performance from 0 to 17 wk of age with the detrimental effects being more noticeable in the last phase of the rearing period and with SBP rather than straw.

**Key words:** brown-egg pullets, cereal straw, pullet performance, sugar beet pulp.



## EFFECTO DE LA EDAD Y EL NIVEL DE VITAMINA E EN DIETAS DE POLLOS BROILER SOBRE LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE.

Menoyo, D<sup>1</sup>., Naranjo, N<sup>1</sup>., Rey, A<sup>2</sup>., Frikha, M<sup>1</sup>., López-Bote, C.J<sup>2</sup>., Mateos, G.G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. UPM. 28040 Madrid. [david.menoyo@upm.es](mailto:david.menoyo@upm.es)<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria UCM. 28040 Madrid.

### INTRODUCCIÓN

La vitamina E pertenece al grupo de nutrientes con capacidad reguladora del sistema inmune (Koutsos y Klasing, 2008). En aves, la vitamina E induce cambios tanto en el sistema inmune innato como en el específico, mejora la función fagocítica de los macrófagos, amortigua la respuesta en fase aguda, disminuye la proporción de heterófilos y potencia la síntesis de anticuerpos (Koutsos y Klasing, 2008; Khan et al., 2012). Recientemente se ha demostrado que parte del efecto de la vitamina E está ligado a su capacidad de actuar directamente sobre factores de transcripción nuclear que modulan la expresión de citoquinas, tales como el factor-Kappa B o el PPAR $\gamma$  (Koutsos y Klasing, 2008; Nakamura y Omaye, 2009). Por otro lado, el impacto de la vitamina E sobre la modulación del sistema inmune viene definido por factores tales como la edad y la relación dosis-respuesta. En broiler la inclusión en la dieta de niveles moderadamente superiores (25-50 UI/kg dieta) al recomendado por el National Research Council (NRC, 1994; 10 UI/kg) aumenta los títulos de anticuerpos tras la vacunación (Friedman et al., 1998; Leshchinsky y Klasing, 2001; Lin y Chang, 2006). Sin embargo, niveles superiores a 150 UI/kg tienen un efecto supresor sobre la producción de anticuerpos (Koutsos y Klasing, 2008). En relación a la edad es importante determinar aquellos periodos o “ventanas” en los que es necesario estimular el sistema inmune (Kogut, 2009). Un periodo a considerar sería el de las dos primeras semanas de vida del pollo debido a la menor funcionalidad de macrófagos y heterófilos (Kogut, 2009). El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto del nivel de Vitamina E y la edad sobre la modulación de la respuesta inmune en pollos. Para ello se estudió el efecto de la inclusión de 40 y 160 ppm de vitamina E en la dieta sobre la expresión de la interleuquina 2 (IL 2), el interferón gamma (IFN $\gamma$ ) y el factor de crecimiento mielomonocítico (MGF) en el bazo de los animales a los 7 y 21 días de edad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 336 pollitos broiler Ross 308 de un día de edad. Las aves se pesaron a su llegada a la granja experimental ( $41,4 \pm 2,6$  g) y se distribuyeron en bloques aleatorios entre los distintos tratamientos experimentales. Se utilizó un diseño completamente al azar con 3 tratamientos; dieta control sin vitamina E añadida (control negativo) y dos tratamientos extras con 40 o 160 ppm de vitamina E sintética añadida. La dieta basal contenía 18,2 mg  $\alpha$ -tocoferol/kg aportados por las materias primas. La ración base contenía un 54% de maíz, 37% de harina de soja y añadía un 4% de aceite de soja. Tras el análisis de Cada tratamiento se replicó siete veces y la unidad experimental fue la jaula con 16 pollos. A los 7 y 21 días de edad se sacrificaron y tomaron muestras de tres pollos al azar por cada réplica. Homogeneizados de tres bazos se dispusieron en tubos eppendorf con 1ml de una solución preservadora de ARN (RNA later, Ambion) y se almacenaron a -80°C para el posterior análisis de expresión de citoquinas. La extracción de ARN total se llevó a cabo utilizando el GenEluteMammalian Total RNA Miniprep kit (Sigma-Aldrich, Madrid, España) y la síntesis del ADN complementario (cDNA) utilizando el High-CapacitycDNA Archive Kit (AppliedBiosystems Foster City, CA, USA) siguiendo las

instrucciones y recomendaciones del fabricante. El estudio de la abundancia relativa del ARNm de los genes diana se llevó a cabo con el ABI Prism7300 Sequence Detector System (AppliedBiosystems Foster City, CA, USA) utilizando SYBR®Green (AppliedBiosystems, Foster City, CA, USA) como agente intercalante de fluorescencia. Para la cuantificación se utilizaron cebadores específicos de pollo que amplifican los siguientes genes a estudio: gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y ubiquitina (UB) utilizados como genes housekeeping o de referencia para normalizar los resultados de expresión, e INF $\gamma$ , IL2 y MGF como genes indicadores de funcionalidad del sistema inmune. Los cebadores utilizados para el gen UB fueron seleccionados a partir del artículo de DeBoever et al. (2008). Los de los genes GAPDH, INF $\gamma$ , IL2 y MGF se diseñados a partir de las secuencias codificantes accesibles en el GenBank y el NCBI con referencias K01458.1, Y07922.1, AF000631.1 y NM\_205279.1 respectivamente. Para este diseño, se utilizó el programa Primer Express v.2 (AppliedBiosystems, Foster City, CA, USA) y se seleccionaron los juegos de cebadores más específicos procurando acotar regiones codificantes. Para analizar el efecto de los distintos tratamientos sobre los cambios de expresión de los genes estudiados se utilizó el procedimiento mixed del paquete estadístico SAS incluyendo el nivel de vitamina E y el tiempo como efectos fijos siguiendo el modelo propuesto por Steibel et al. (2009).

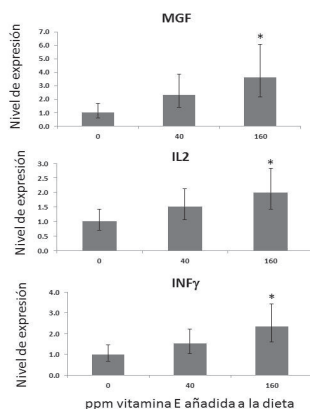
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los 7 días de edad se observaron cambios significativos de expresión de las tres citoquinas objeto de estudio en aquellas aves alimentadas con 160 ppm de vitamina E. La IL2, el MGF y el IFN $\gamma$  aumentaron su expresión 2, 3,6 y 2,3 veces respectivamente ( $P < 0,05$ ) respecto a la dieta control (Figura 1). No se observaron cambios de expresión debido a la vitamina E a los 21 días de edad. El correcto aporte de nutrientes inmediatamente después de la eclosión es vital para el rápido desarrollo del sistema inmune en pollos (Dibner et al. 1998). La vitamina E tiene un efecto estimulador del sistema inmune de las aves permitiendo mejorar y modular la funcionalidad fagocítica de macrófagos y heterófilos y potenciando la proliferación de linfocitos B (Koutsos y Klasing 2008). Parte de estos efectos están mediados por el efecto directo de la vitamina E sobre la IL2 o el IFN $\gamma$  (Calder y Kew, 2002). Los resultados del presente estudio parecen indicar un efecto potenciador del poder de la vitamina E a niveles de 160 ppm al incrementar la expresión de la IL2 y del IFN $\gamma$  indicadores de una mayor activación de linfocitos T y células Natural Killer. Un aumento de expresión de ambas citoquinas y de CD3+ en pollos se ha relacionado con la maduración del GALT a los 14 días de vida (Bar-Sira et al., 2002). Por lo tanto, la inclusión de 160 ppm de vitamina E en dietas de arranque para pollos presenta un efecto positivo sobre el desarrollo de la funcionalidad del sistema inmune.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bar-Shira, E., Sklan, D., y Friedman A. 2003. *Develop. Comp. Immunology* 27, 147–157.
- Calder, P.C. y Kew, S. 2002. *Brit. J. Nutr.*, 88, S165–S176.
- Dibner, J.J., Knight, C.D., Kitchell, M.L. y Atwell, C.A. 1998. *J. Appl. Poult. Res.*, 7, 425-436.
- De Boever, S., Vangestel, C., De Backer, P., Croubels, S. y Sys, S.U. 2008. *Vet. Immunol. Immunopat.* 122, 312–317.
- Friedman, A., Bartov, I. y Sklan, D. 1998. *Poult. Sci.*, 77, 956-962.
- Khan, R.U., Rahman, Z.U., Nikousefat, Z., Javdani, M., Tufarelli, V., Dario, C., Selvaggi, M. y Laudadio, V. 2012. *World's Poult. Sci. J.*, 68, 31-39.
- Kogut, M.H. 2009. *J. Applied Poult. Res.*, 18, 111–124.
- Koutsos, E.A. y Klasing, K. 2008. Factors modulating the avian immune system. En: *Avian Immunology*. T. Fred Davison, Bernd Kaspers, Karel AntoniSchat Eds. Academic Press. 323-338.
- Leshchinsky, T.V. y Klasing, K.C. 2001. *Poult. Sci.*, 80, 1590-1599.
- Lin, Y.E y Chang, S.J. 2006. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, 19, 884-891.
- Nakamura, Y.K. y Omaye, S.T. 2009. *J. Func. Foods*, 1, 241–252.
- National Research Council, 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*, 9th Edition. National Academy Press, Washington, DC.

**Agradecimientos:** El presente trabajo ha sido parcialmente financiado por la Comunidad de Madrid S2009/AGR-1704.



**Figura 1:** Efecto del nivel de vitamina E en el pienso sobre la expresión de los genes IL2, INF $\gamma$  y MGF en pollitos de 7 días de edad. El índice representa el cambio de expresión del nivel de VE (40 o 160 ppm) en relación al control. (Promedio  $\pm$  SEM; n = 6) \* P < 0,05.

## AGE AND DIETARY VITAMIN E LEVEL MODULATE IMMUNE RESPONSE IN BROILERS

**ABSTRACT:** The effects of age and dietary vitamin E concentration in the immune response of broiler were studied. A total of 336 Ross 308 chicks with an initial BW of  $41.4 \pm 2.6$  g were randomly assigned to 3 experimental diets, a control diet with no added vitamin E and the same basal diet supplemented with 40 or 160 ppm of vitamin. The experimental unit was the cage with 16 birds and there were seven cages per treatment. At 7 and 21 d of age, 3 birds per cage were slaughtered and their spleen removed for cytokine gene expression analysis by real time RT-PCR. Interleukin 2 (IL2), myelomonocytic growth factor (MGF), and Interferon-gamma (IFN $\gamma$ ) gene expression were selected as indicators of immune system functionality. The expression of IL2, MGF and IFN $\gamma$  increased (P < 0.05) by 2, 3.6, and 2.3 folds, respectively in birds fed the 160 ppm supplemented diet at 7 d of age when compared to those fed the control diet. No dietary effects were observed in cytokine gene expression in birds at 21 d of age. Under our experimental conditions the inclusion of 160 ppm of vitamin E in the diet enhances immune function during the first week of age of the chicks.

**Key words:** age, broilers, immune system, vitamin E.

## ESTUDIO DEL VALOR NUTRITIVO DE LA HOJA DE PAULOWNIA COMO RECURSO FORRAJERO

Descals, P.<sup>2</sup>, Seradj, A. R.<sup>1</sup>, Villorbina, G.<sup>2</sup> y Balcells, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Universidad de Lleida, 25198 Lleida, España,  
E-mail: [balcells@prodan.udl.cat](mailto:balcells@prodan.udl.cat)

<sup>2</sup>Departamento de Química, Universidad de Lleida, 25198 Lleida, España

### INTRODUCCIÓN

La *Paulownia* sp (*Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei*) por su rápido crecimiento y adaptación a las condiciones edafoclimáticas de la Península Ibérica es un recurso forestal que se utiliza para la producción de biomasa. Explotaciones de este tipo se están implementando en la zona de Lleida y el análisis bromatológico de sus hojas (Gutiérrez *et al.*, 2007) permiten considerarlo un subproducto con un elevado potencial nutritivo.

El objetivo general del estudio (Descals, 2012) es el de mejorar la rentabilidad económica de estos cultivos buscando establecer alternativas que permitan el aprovechamiento de los subproductos resultantes de este modelo de explotación. Por ello, en el presente ensayo se pretende determinar el valor nutritivo de las hojas de paulonia, en diferentes estados vegetativos, como recurso forrajero a partir de su composición bromatológica e incubación *in vitro* con líquido ruminal

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se recolectaron de forma aleatoria muestras de hojas de paulonia (500-1000 g), en cuatro momentos diferentes de su ciclo vegetativo: primavera, verano, otoño y otoño tardío (hoja senescente). En las muestras obtenidas se eliminaron los peciolo y los nervios principales para ser posteriormente troceadas y secadas en estufa de aire forzado a 50°C durante 24h. Una vez secas las muestras fueron molidas en molino de hélice (1-100µm) y almacenadas en botes de cristal herméticos.

En las muestras se determinó el contenido en Proteína Bruta (PB), Extracto Etéreo (EE), Fibra Bruta (FB), según los métodos oficiales de la AOAC (968.06, 920.39 y 962.09, respectivamente). La Fibra Neutro Detergente (FND) y la Fibra Ácido Detergente (FAD) se analizaron según el procedimiento propuesto por Van Soest *et al.* (1991). La cinética de producción de gas se estudió según el procedimiento propuesto por Theodorou *et al.* (1994) y los niveles de producción se determinaron por presurometría (Fondevila, 2006), cuantificando dicha producción a las 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 y 96 h. El modelo cinético propuesto por Krishnamoorthy *et al.* (1995) se ajustó a los valores de producción de gas registrados [ $Y = a (1 - e^{-b(t-c)})$ ] en dicho modelo y representa la producción de gas, "a" (potencial de fermentación), "b" (velocidad de reacción) y "c" (lag time o tiempo de retraso). Finalmente el contenido en EM de los diferentes sustratos fue estimado a partir de la ecuación [EM = 2,2 + 0,1357 PG + 0,0057 PB + 0,0002859 EE<sup>2</sup>] propuesta por Menke i Steingass (Krishnamoorthy *et al.*, 1995) a partir de la producción de gas (PG) y la composición de PB y EE.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de las muestras reveló un elevado contenido en PB de las hojas (Tabla1), la concentración fue máxima en las hojas jóvenes (27,1 g/100g MS) decreciendo con la maduración hasta alcanzar una concentración del 11,3% en las hojas senescentes. En relación a la paja de cereal y la alfalfa, considerados como forrajes de referencia, las hojas senescentes mostraron un contenido de PB superior al de paja de cereal (3,7 %PB; FEDNA, 2004) mientras que las hojas recolectadas en otoño (17% de PB) mostraron concentraciones proteicas similares a la alfalfa (15-18%, FEDNA 2004) en el caso de las hojas recolectadas en primavera y verano los contenidos de proteína fueron netamente superiores (27,1% y 22,6%, respectivamente).

Las concentraciones de fibra bruta (FB) fueron menores en las hojas tiernas, observándose, con la maduración de la planta, una evolución inversa a la observada en la proteína. Para determinar el valor potencial como recurso forrajero se determinó el contenido en FND y FAD. Ambas fracciones, al igual que sucedía con la FB;

mostraron los valores menores en las hojas tiernas (primavera/verano) e incrementaron con la madurez (Tabla 1). Dicha evolución se reflejó en el contenido de hemicelulosa, que fue máximo en las hojas tiernas disminuyendo a lo largo del ciclo hasta alcanzar los valores más bajos en las hojas senescentes.

La composición química de las hojas y su variación a lo largo de su ciclo vegetativo se reflejó en su fermentación *in vitro* y en la cinética de producción de gas. Así en la Tabla 1 se presentan también los parámetros obtenidos a partir del ajuste de los valores registrados al modelo cinético propuesto por Krishnamoorthy *et al.*, (1995). En la Tabla 1 se aprecia como el máximo de producción de gas (a) se registra con las hojas recolectadas en verano y disminuye con la maduración. Comparando la producción de gas entre forrajes, los valores registrados con las hojas tiernas (primavera/verano) de la paulonia fueron superiores a los de la alfalfa, en otoño fueron similares, mientras que en las hojas senescentes fueron inferiores a la alfalfa incluso a los registrados con la paja. Los elevados niveles de producción de gas registrados con las hojas de paulonia sugiere que dicho sustrato no presentan concentraciones significativas de compuestos antinutritivos que limiten su fermentación ruminal, como es el caso de de otras hojas de especies tropicales, caracterizadas también por elevados contenidos en proteína como lo son la morera (*Morus alba*) o acacias (*Acacia* sp.) (Van Soest, 1967).

La evolución registrada en los niveles de producción de gas con las hojas de paulonia y los forrajes de referencia se presenta en la Figura 1. En general la evolución de las hojas siguió un patrón similar al registrado con la alfalfa, aunque, en comparación con la paja, este forraje mostró niveles más lentos de producción/fermentación.

La cinética de fermentación y composición bromatológica se reflejaron en su contenido energético. El contenido en Energía Metabolizable (EM) estimado con las hojas tiernas (primavera/verano) fue superior al estimado con la alfalfa. Las hojas recolectadas en otoño dieron valores de EM ligeramente inferiores a la alfalfa aunque su valor energético fue siempre superior a la EM estimada con la paja considerada, para la presente discusión, como un testigo negativo.

La cinética de fermentación *In vitro* de las hojas de paulonia y los valores estimados de EM indican que el valor nutritivo de las hojas de paulonia estaría directamente relacionado con su estado vegetativo, disminuyendo con la maduración. En cualquier caso el valor nutritivo de las hojas recolectadas en primavera-verano constituiría un forraje de calidad media-alta cuyo contenido en energía y fibra podría ser similar a un heno de alfalfa.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

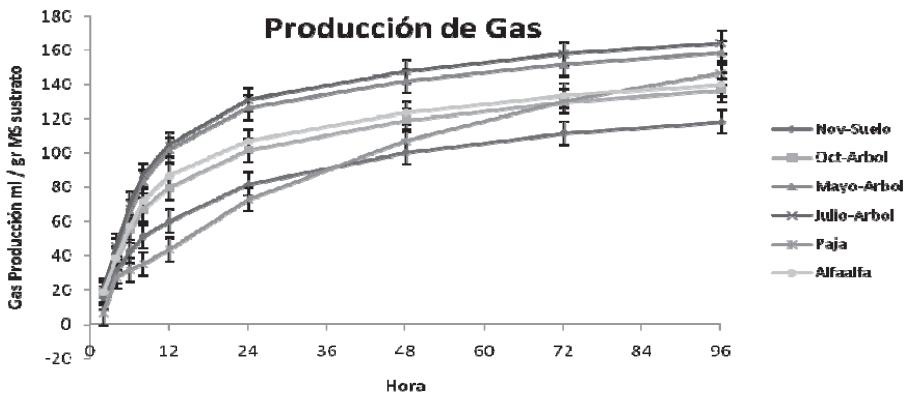
- AOAC International. Official method 920.39 Fat (crude) or ether extract in animal feed. • AOAC International. Official method 968.06 Protein (crude) in animal Feed: Dumas Method. • AOAC International. Official method 978.10 Fiber (crude) in animal feed and pet food. • "Tablas FEDNA de valor nutritivo de Forrajes y Subproductos fibrosos húmedos." 2004 • Descals, P., Proyecto de estudio del aprovechamiento secundario como fuente proteica de las hojas de *Paulownia* sp en plantaciones destinadas a la producción de biomasa. Trabajo final de grado. Universidad de Lleida, 2012 • Fondevila, M., 2006. P200600043. • Gutiérrez, J.L., Reyes, R. & Villalobos, M.A., 2007. Revista Paraninfo Universitario, 13: 89-94. • Krishnamoorthy, U., Soller, H., Steingass, H. & Menke, K.H., 1995. Anim Feed Sci Tech. 52: 177-188. • Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J., 1994. Anim Feed Sci Tech. 48: 185-197. • Van Soest, P.J., 1967. J. Anim. Sci. 26: 119-128. • Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. J. Dairy Sci. 74: 3583

### Agradecimientos:

Los autores agradecen a la empresa Urgesneda S.L. (Dr. Joan Solé) por el suministro de las muestras.

**Tabla 1.** Composición en proteína bruta (PB), extracto etéreo (EE), fibra bruta (FB), fibras neutro (FND) y ácido (FDA) detergente, junto los parámetros indicativos de la cinética de producción de gas (Krishnamoorthy et al. 1995) y el contenido estimado en EM (Mcal/Kg) de hojas de paulownia recolectadas en diferentes momentos de su ciclo vegetativo:

	Tratamientos				EMS	p-valor Trat
	Primavera	Verano	Otoño	Senescente (suelo)		
PB	27,1	22,6	17,0	11,3	0,24	<0,01
EE	4,1	4,3	2,7	2,2	0,10	<0,01
FB	12,9	15,7	14,1	15,7	0,26	<0,01
FND	45,7	49,0	40,9	42,8	0,29	<0,01
FDA	39,0	46,2	40,5	44,1	0,73	<0,01
Hemicelulosa	6,7	2,7	0,9	0,3	0,53	0,03
a	150,2	155,7	129,4	114,1	9,40	0,06
b	0,1	0,1	0,1	0,1	0,003	<0,01
c	0,3	0,2	-0,7	-2,0	0,39	<0,01
EM (Mcal/kg)	2,2	2,3	1,9	1,7	0,15	<0,01



**Figura 1.** Producción acumulada de gas de hojas de paulownia en diferentes momentos de su ciclo vegetativo, heno de alfalfa y paja de cereal incubadas *in vitro* con contenido ruminal.

### ESSAY ABOUT THE NUTRITIONAL VALUE OF PAULOWNIA SP LEAVES AS A FORAGE SOURCE

**ABSTRACT:** In the area of Lleida, several plantations of *Paulownia* sp. (*Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei*) can be found in order to produce biomass for thermal and electrical uses, due to its fast growth and its adaptation to the soil and climate conditions of the area. In this project, improving these crops is in purpose by searching alternative uses of their by-products, as paulownia leaves used as small ruminants feed. Several determinations of their nutritive value have been done along the cycle of production of the plant to find, thus, the best season of using them.

**Keywords:** *Paulownia* sp., forage, nutritive value, gas production.

## DIFERENCIAS EN COMPOSICIÓN QUÍMICA Y RELACIONES CON LA CALIDAD DE LA PROTEÍNA DE LAS HARINAS DE SOJA SEGÚN ORIGEN

García-Rebollar, P., Rodríguez, M., Berrocoso, J.D., Cámara, L., Lázaro, R., Mateos, G.G.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, UPM. Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid.  
[paloma.grebollar@upm.es](mailto:paloma.grebollar@upm.es).

### INTRODUCCIÓN

La harina de soja (HS) es la principal fuente de proteína utilizada en la fabricación de piensos. En Europa, la mayor parte de las HS procede de uno de los tres principales países productores: Estados Unidos (USA), Brasil (BRA) y Argentina (ARG). La composición y valor nutricional de las HS varía entre países de origen en función de las variedades cultivadas, las condiciones agronómicas y las condiciones de procesamiento (Grieshop *et al.*, 2003; De Coca *et al.*, 2008, 2010; Frikha *et al.*, 2012). En un trabajo anterior Mateos *et al.* (2011) presentaron los resultados obtenidos de una colección de 385 muestras de HS recogidas entre los años 2007 y 2010 procedentes de estos tres países. El presente trabajo tiene como objetivo complementar los resultados anteriores con nuevas muestras procedentes de las cosechas de los años 2011 y 2012. Asimismo se presentarán las correlaciones más destacadas entre componentes analíticos y las variables de calidad de la proteína habitualmente utilizadas por la industria.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron un total de 454 muestras de HS procedentes de ARG (n = 147), BRA (n = 139) y el Este (cuenca del Mississippi y costa Este) de USA (n = 168) durante los años 2007 a 2012. El muestreo se realizó bien en el país de origen o bien en el barco a su llegada a puerto Europeo. Se analizaron los constituyentes proximales, azúcares, minerales y los parámetros de calidad de la PB [actividad de los inhibidores de la tripsina (AIT), índice de dispersibilidad de la proteína (PDI), solubilidad en KOH (KOH sol.) y actividad ureásica (AU). Los análisis de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Mouriscade (Pontevedra, España). Las técnicas analíticas utilizadas para cada parámetro se describen en el trabajo de Frikha *et al.* (2012) y en las normas AOAC International (2000). Además, se determinó el perfil de aminoácidos (AA) mediante tecnología NIR y el índice de daño por calor (HDI) (AminoRed, Evonik, Hanau, Alemania). Los resultados se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (1990) para diseños al azar. El modelo incluyó el origen de la HS como efecto principal. Para la separación de medias se llevó a cabo un t-test. Los coeficientes de correlación de Pearson se determinaron con el proc CORR del SAS (1990). Los resultados se presentan en tablas como medias ajustadas por mínimos cuadrados para un contenido de MS del 88%.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El origen de la HS influyó significativamente ( $P < 0,001$ ) sobre todos los parámetros analíticos determinados (Tabla 1). Así, el contenido en PB fue mayor para las HS USA que para las ARG, presentando las HS de BRA valores intermedios (47,3 vs. 45,4 vs. 46,6%). Asimismo, el contenido en FND varió entre orígenes (7,8 vs. 9,2 vs. 10,5% para USA, ARG y BRA, respectivamente). Las HS BRA tuvieron menos sacarosa (5,7 vs. 7,2 vs. 6,7%) y estaquiosa (4,6 vs. 5,7 vs. 4,9%) y más refinosa (1,4 vs. 1,0 vs. 1,2) que las USA, presentando las ARG valores intermedios. El contenido en fósforo de las HS USA fue superior al de ARG y BRA (0,69 vs 0,65 vs 0,61;  $P < 0,001$ ). Las HS ARG y USA presentaron una concentración mayor en calcio (0,33 y 0,35 vs 0,29) y potasio (2,25 y 2,20 vs. 2,02%), y menor en hierro (110 y 114 vs. 168 mg/kg) que las BRA. El contenido en PB estuvo negativamente relacionado con el de sacarosa (-0,70,  $P < 0,001$ ) para las HS USA y con el de FND (-0,64 y -0,46,  $P < 0,001$ ) para las HS ARG y BRA. El contenido en fósforo estuvo positivamente relacionado con el contenido en PB de las HS pero la correlación fue mayor para USA (+0,60,  $P < 0,001$ ) que para ARG y BRA (+0,26 y +0,32,  $P < 0,01$ ). Los parámetros de calidad de la PB también variaron entre orígenes. Las HS USA presentaron unos valores mayores de AIT que las ARG y BRA (3,1 vs. 2,5 y 2,6 mg/g,

respectivamente) y la solubilidad de la PB y el HDI fue mayor para las HS USA que para las HS de origen Latinamericano (PDI = 19,7; 16,5 y 15,3%; KOH sol. = 86,8; 81,7 y 82,7% y HDI = para USA, ARG y BRA, respectivamente). Los valores de AIT estuvieron relacionados positivamente con los parámetros de calidad (+0,37 para AU, +0,61 para KOH sol. y +0,66 para PDI;  $P < 0,001$ ). El índice HDI estuvo negativamente correlacionado (-0,90, -0,87 y -0,85,  $P < 0,001$  para USA, ARG y BRA, respectivamente) con el contenido en Lys por unidad de proteína de las HS.

La concentración de AA esenciales de las HS varió con el origen de las harinas. Por unidad de proteína, las HS BRA presentaron un menor ( $P < 0,001$ ) contenido de AA esenciales (44,5 vs. 44,7 vs. 44,6 %PB) que las HS de USA, ocupando ARG la posición intermedia. El contenido en Lys (6,16 vs. 6,06 vs. 6,09 %PB), Thr (3,93 vs. 3,88 vs. 3,91 %PB) y Trp (1,37 vs. 1,34 vs. 1,36 %PB) fue mayor en las HS USA que en las BRA, con las ARG en posición intermedia. El contenido en Met+Cys fue igual en las de ARG y USA, y mayor que en las BRA (2,87 vs. 2,81 %PB). La suma de los 5 AA (Lys, Met, Cys, Thr y Trp) más limitantes en avicultura fue inferior para las HS BRA que para las ARG y USA (14,1 vs 14,3 %PB, respectivamente). El contenido en Lys (%PB) estuvo relacionado negativamente con el de PB (-0,47,  $P < 0,001$ ) para las HS USA y positivamente (+0,21,  $P < 0,001$ ) para las HS BRA, mientras que no hubo correlación ( $P > 0,10$ ) para las HS ARG.

**Tabla 1.** Influencia del origen sobre la composición química (%) y la calidad de la proteína de la harina de soja (sobre 88% MS)

Origen	ARG	BRA	USA	EEM	P
nº de muestras	147	139	168		
<i>Composición química</i>					
MS	88,5	88,6	88,6	0,08	NS
PB	45,4 <sup>c</sup>	46,6 <sup>b</sup>	47,3 <sup>a</sup>	0,12	***
EE	1,71 <sup>a,b</sup>	1,79 <sup>a</sup>	1,62 <sup>b</sup>	0,04	**
FB	4,76 <sup>b</sup>	5,54 <sup>a</sup>	3,76 <sup>c</sup>	0,08	***
FND	9,2 <sup>b</sup>	10,5 <sup>a</sup>	7,82 <sup>c</sup>	0,13	***
Sacarosa	6,66 <sup>b</sup>	5,71 <sup>c</sup>	7,24 <sup>a</sup>	0,08	***
Estaquiosa	4,90 <sup>b</sup>	4,61 <sup>c</sup>	5,68 <sup>a</sup>	0,04	***
Rafinosa	1,17 <sup>b</sup>	1,38 <sup>a</sup>	0,97 <sup>c</sup>	0,02	***
Cenizas	6,59 <sup>a</sup>	6,26 <sup>b</sup>	6,65 <sup>a</sup>	0,04	***
Calcio	0,33 <sup>a</sup>	0,29 <sup>b</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,007	***
Fósforo	0,65 <sup>b</sup>	0,61 <sup>c</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,004	***
Potasio	2,25 <sup>a</sup>	2,02 <sup>b</sup>	2,20 <sup>a</sup>	0,021	***
Sodio	0,03	0,03	0,02	0,004	NS
Magnesio	0,28	0,27	0,27	0,012	NS
Hierro, mg/kg	110 <sup>b</sup>	168 <sup>a</sup>	114 <sup>b</sup>	4,01	***
<i>Calidad de la proteína</i>					
AIT, mg/g <sup>1</sup>	2,47 <sup>b</sup>	2,58 <sup>b</sup>	3,10 <sup>a</sup>	0,05	***
PDI, %	16,5 <sup>b</sup>	15,3 <sup>c</sup>	19,7 <sup>a</sup>	0,34	***
KOH sol., %	81,7 <sup>b</sup>	82,7 <sup>b</sup>	86,8 <sup>a</sup>	0,33	***
Ureasa, g N/g	0,015 <sup>b</sup>	0,029 <sup>a</sup>	0,019 <sup>b</sup>	0,003	*
HDI <sup>2</sup>	12,7 <sup>b</sup>	15,5 <sup>a</sup>	8,9 <sup>c</sup>	0,42	***
<i>Aminoácidos</i>					
Lys	2,77 <sup>c</sup>	2,83 <sup>b</sup>	2,91 <sup>a</sup>	0,008	***
Met	0,62 <sup>b</sup>	0,62 <sup>b</sup>	0,64 <sup>a</sup>	0,002	***
Cys	0,69 <sup>b</sup>	0,69 <sup>b</sup>	0,71 <sup>a</sup>	0,002	***
Thr	1,79 <sup>c</sup>	1,81 <sup>b</sup>	1,85 <sup>a</sup>	0,005	***
Trp	0,62 <sup>c</sup>	0,63 <sup>b</sup>	0,64 <sup>a</sup>	0,002	***
AA limitantes <sup>3</sup>	6,49 <sup>c</sup>	6,58 <sup>b</sup>	6,77 <sup>a</sup>	0,011	***
AA esenciales <sup>4</sup>	20,3 <sup>c</sup>	20,8 <sup>b</sup>	21,2 <sup>a</sup>	0,058	***

<sup>1</sup>Actividad de inhibidores de tripsina. <sup>2</sup>Índice de daño por calor (AminoRed, Evonik, Hanau, Alemania); <sup>3</sup>Suma de Lys, Met, Cys, Thr y Trp; <sup>4</sup>Suma de Lys, Met, Thr, Trp, Ile, Leu, Arg, Val, His y Phe. <sup>a-c</sup>Valores en la misma fila con superíndices distintos son diferentes ( $P < 0,05$ ). NS:  $P > 0,05$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .



El presente trabajo muestra que la composición y el valor nutricional de las HS procedentes de estos tres países son diferentes y que las relaciones entre componentes analíticos y calidad de la proteína varían entre orígenes. En las HS USA los niveles de proteína y fósforo son mayores y están positivamente relacionados, tienen mejor composición de la fracción hidrocarbonada (más sacarosa y menos FND) y mejor calidad proteica (más AA indispensables por unidad de proteína, mayor solubilidad y menor HDI) que las HS de origen Latinoamericano. Por tanto, el país de origen debe ser considerado para la valoración de la composición y valor nutritivo de las HS comerciales, previo a su utilización en la formulación de piensos para no rumiantes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

• Association of Official Analytical Chemists International. 2000. *Official Methods of Analysis of the AOAC International*. 17ª edición. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. • Frikha, M., Serrano, M.P., Valencia, D.G., Rebollar, P.G., Fickler, J., Mateos, G.G. 2012. *Anim Feed Sci. Tech.* 178: 103-114. • De Coca-Sinova, A., Valencia, D. G., Jiménez-Moreno, E., Lázaro, R. y Mateos, G. G. 2008. *Poultry Sci.* 87: 2613-2623. • De Coca-Sinova, A., Jiménez-Moreno, E., González-Alvarado, J. M., Frikha, M., Lázaro, R., y Mateos, G.G. 2010. *Poultry Sci.* 89:1440-1450. • Grieshop, C. M., Kadzere, C. T., Clapper, G. M., Frazier, R. L. y Fahey Jr., G.C. 2003. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7684–7691. • Mateos, G. G., Sueiro, S., González, M., García-Rebollar, P., Serrano, M.P., Hermida, M. y Lázaro, R. 2011. ITEA. XIV Jornadas sobre Producción Animal AIDA. A. Sanz, I. Casasús, M. Joy, J. Álvarez, H. Calvo, B. Panea, P. Muñoz, J. Balcells (Eds.). AIDA, Zaragoza. pp: 297-299 • Statistical Analysis Systems Institute. 1990. *SAS user's guide: statistics*. Versión 6, 4ª edición. Cary, NC: SAS Institute, Inc, USA.

## DIFFERENCES ON NUTRIENT CONTENT AND RELATIONSHIPS WITH PROTEIN QUALITY OF SOYBEAN MEALS ACCORDING TO ORIGIN

**ABSTRACT:** This research studied the chemical composition and correlations between chemical analyses and protein quality of SBM of 3 different origins (USA, n=168; BRA, n=139, and ARG, n=147). Samples were collected during a 6-yr period and analyzed for major chemical components including amino acids, sugars and protein quality. On as fed bases (88% DM), SBM from USA had more CP (47.3 vs. 45.4 vs. 46.6 %;  $P < 0.001$ ) and less NDF (7.8 vs. 9.2 vs. 10.5%;  $P < 0.001$ ) than SBM from ARG and BRA. Sucrose and stachyose contents were higher for the USA than for the BRA meal, with ARG meal being intermediate ( $P < 0.001$ ). The CP content was negatively related with sucrose ( $-0.70$ ;  $P < 0.001$ ) for USA and with NDF ( $-0.46$  and  $-0.46$ ,  $P < 0.001$ ) for ARG and BRA meals. Also, P content was positively related with CP content ( $+0.60$ ,  $P < 0.001$  for USA, and  $+0.26$  and  $+0.32$ ,  $P < 0.01$  for ARG and BRA meals). The PDI and KOH solubility were higher for USA than for ARG or BRA SBM ( $P < 0.001$ ) and they were positively related ( $P < 0.001$ ) with trypsin inhibitor activity. In addition, SBM from USA had more lys, met + cys, thr, and trp than SBM from BRA and ARG ( $P < 0.001$ ). Lysine content per unit of CP was negatively related with CP content for USA ( $-0.47$ ,  $P < 0.001$ ), positively ( $+0.21$ ,  $P < 0.001$ ) for BRA SBM, but no relationship ( $P > 0.10$ ) was found for ARG SBM. It is concluded that the nutritive value and the relationship among chemical components and protein quality of the meals varied widely among origins. Thus, the origin of the beans should be considered in the evaluation of the nutritive value of commercial soybean meals for formulation of feeds for non ruminant animals.

**Keywords:** protein quality; nutritive value; soybean meal origin.

## **CARACTERÍSTICAS DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES CON POTENCIAL USO EN LA ALIMENTACIÓN DE CAPRINO**

Arco-Pérez A., Ramos-Morales E., Abecia L., Yañez-Ruiz D. y Martín-García A. I.  
Instituto de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC). C/Profesor Albareda,  
1, 18008, Granada  
[ana.arco@eez.csic.es](mailto:ana.arco@eez.csic.es)

### **INTRODUCCIÓN**

El sector caprino lechero tiene una gran importancia económica, social y ambiental y sus productos son reconocidos por su alta calidad organoléptica y funcional. No obstante se enfrenta a amenazas derivadas, entre otras causas, del encarecimiento de los ingredientes de las raciones y el bajo precio de la leche, por lo que es necesaria la búsqueda de estrategias que contribuyan a minimizar los costes de producción. Entre éstas se contempla la inclusión de subproductos agroindustriales locales que aporten nutrientes para reemplazar ingredientes convencionales. Es de vital importancia que dichos subproductos se encuentren en un estado de conservación que permita su empleo en distintas épocas del año y/o estadio productivo del ganado. Se ha demostrado que tanto el orujo de aceituna como la pulpa de tomate, incluidos en bloques multinutrientes, pueden sustituir hasta el 75% del concentrado sin afectar a la ingesta o la eficiencia metabólica en ovino (Ben Salem y Znaidi, 2008), además de contar con potencial para modificar la composición de la leche en caprino (Molina Alcaide y Yañez-Ruiz, 2008; Romano et al., 2010). Sin embargo, el uso práctico de bloques es poco viable. Por otro lado, la industria del zumo de granada está adquiriendo un interés creciente, dado su alto poder antioxidante, y los subproductos que genera pueden presentar un importante potencial para ser incluidos en la ración de rumiantes, ya que son capaces de aportar energía y mejorar el perfil lipídico de la leche de caprino (Modaresi et al., 2011).

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto que tiene sobre la fermentación ruminal la sustitución de la dieta, o parte de ella, por un ensilado de subproductos del olivar (EO), un ensilado de tomate (ET) y la pulpa resultante de la extracción de zumo de granada tras ser desecada al aire (PGS).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El EO utilizado contenía hoja de olivo (50%), alperujo resultante de la extracción de aceite de oliva (25%) y harina de cebada (25%). El ET contenía destríos de tomate de invernadero (85%) y paja de cebada (15%). Ambos ensilados fueron elaborados mediante el prensado en balas cilíndricas (850 kg y 1,20 m x 0,90 m) recubiertas completamente de plástico y empleados tras 70 días de maduración. La PGS es la pulpa extraída tal y como resulta del proceso industrial del exprimido de zumo y desecada tras ser extendida a la intemperie. La dieta control se elaboró como una proporción 1:1 de heno de alfalfa y concentrado comercial granulado para cabras en lactación. Las dietas fueron liofilizadas y molidas (1 mm). Se empleó un sistema *in vitro* de cultivo no renovado de microorganismos ruminales (Theodorou et al., 1994) mediante 4 periodos de incubaciones de 24 horas a 40°C de 300 mg de dieta experimental, por duplicado, en botellas Wheaton de 120 ml de capacidad total. Para cada periodo fue mezclado en volúmenes iguales contenido ruminal obtenido, antes de la primera comida de la mañana, de dos cabras de raza murciano-granadina alimentadas con heno de alfalfa y provistas de cánula ruminal. Cada botella se inoculó con 40 ml de medio de cultivo compuesto por contenido ruminal, filtrado a través de dos capas de gasa, y una solución tampón (1:3, Menke y Steingass, 1988). Tras 24 horas de incubación se midió el volumen de gas total producido, empleando una jeringa graduada (1 ml) de 60 ml de capacidad conectada a un transductor de presión. Una alícuota de 10 ml de dicho gas fue recogida para determinar, mediante cromatografía de gases, la proporción que estaba constituida por metano (Romero-Huelva, 2012). A continuación se abrieron las botellas, se midió el pH del contenido y se detuvo la fermentación en hielo, con el fin de obtener una alícuota para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV) mediante cromatografía de gases (Isac et al., 1994). El resto del contenido se liofilizó para determinar la fibra neutro detergente (FND, Goering y Van Soest, 1970). La energía metabolizable (EM) y la degradación de materia orgánica (DMO) se calcularon siguiendo los cálculos descritos por Menke et al. (1979) como:

$$ME \text{ (MJ/kg MS)} = 2,2+0,136 \times \text{GAS}+0,057 \times \text{PB.}$$

$$\text{DMO (g/kg MS)} = 148,8+8,89 \times \text{GAS}+4,5 \times \text{PB}+0,651 \times \text{Cenizas.}$$

La producción de proteína microbiana (PM) y el factor de partición (FP) se estimaron (Makkar et al., 2010) como:

$$\text{PM (g/kg MS)} = \text{DMS}-(\text{GAS}/\text{MSI}) \times 2,2, \text{ donde DMS} = (100 \times \text{MSI}-\text{MSR})/\text{MSI.}$$

$$\text{FP (g/l gas)} = (\text{MOI}-\text{FNDresidual})/\text{GAS.}$$

Donde MSI es la materia seca incubada y MSR es la materia seca residual tras la fermentación.

Como unidad experimental se empleó la media de los datos obtenidos de las parejas de botellas de cada periodo experimental. El análisis estadístico se realizó mediante el modelo factorial completo del GLM univariante de SPSS Statistics 21, considerando el periodo como efecto aleatorio y aplicando el test de Tukey para las comparaciones múltiples ( $P < 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH de la fermentación no se vio afectado por ninguno de los tratamientos. Respecto de la dieta control, tanto la producción de gas total como la proporción de metano se redujeron significativamente ( $P < 0,05$ ) con todas las dietas experimentales, excepto para la dieta ET. No obstante tales diferencias desaparecieron cuando la producción de metano se expresó respecto de la producción de AGV, aunque con una clara tendencia ( $P = 0,058$ ) a ser menor con la dieta ET, coincidente con las observaciones de Romero-Huelva et al. (2012), donde los animales alimentados con bloques multinutrientes que incluían tomate, tuvieron una menor producción de metano sin que se viera afectado el pH ruminal. La mayor producción de AGV totales resultó ser para la dieta ET y la menor para la dieta EO, mientras que con las dietas de PGS no se vio afectada, respecto del control. No obstante las mayores ( $P = 0,006$ ) proporciones acético:propiónico se observaron también con las dietas ensiladas, en concordancia con las características de su composición en nutrientes. Estos datos no coinciden con los obtenidos por otros autores que introdujeron subproductos de tomate y olivo en dietas de caprino (Romero-Huelva et al., 2012; Yáñez-Ruiz et al., 2004) debido probablemente a la proporción en que los mismos fueron incluidos. La EM calculada fue menor ( $P < 0,001$ ) en todas las dietas con subproductos respecto de la dieta control, siendo la más pobre en este sentido la constituida por EO. La estimación de la síntesis de PM tendió ( $P = 0,053$ ) a ser menor para los ensilados, pero superior al control (131 vs 113 g/kg MS) cuando ésta fue suplementada con PGS. De acuerdo con las observaciones de Abbeddou et al. (2011), la degradabilidad de la materia orgánica (DMO) fue menor ( $P < 0,001$ ) para todos los subproductos, especialmente para EO y el factor de partición (FP) aumentó significativamente ( $P < 0,001$ ) con todos ellos.

Los resultados muestran que los subproductos estudiados presentan una adecuada fermentación ruminal, constituyendo una fuente de nutrientes y energía con potencial de ser incluidos como parte de la dieta del ganado. Parecen ser más interesantes la PGS y el ET, especialmente este último por su efecto positivo sobre la disminución en la producción de metano. No obstante, es necesario realizar comprobaciones *in vivo* para conocer el nivel de ingesta voluntaria de estas formas de conservación de los subproductos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbeddou S., Riwhi S., Iñiguez L., Zaklouta M., Hess H. D. & Kreuzer M., 2011. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163:99-110. • Ben Salem H. & Znaïdi I. A., 2008. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147:1-3. • Blümmel M., Steingass H. & Becker K., 1997. *Br. J. Nut.* 77:911-921. • Goering M. K. & Van Soest P. J., 1970. *Agric. Handbook* Nº379. • Isac M. D., García M. A., Aguilera J. F. & Molina Alcaide E., 1994. *Arch. Tieremahr* 46:37-50. • Makkar H.P. S., 2010. IAEA, Dordrecht, the Netherlands 107-144. • Menke K. H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. & Schneider W., 1979. *J. Dairy Sci. Camb.* 92:217-222. • Menke K. H. & Steingass H., 1988. *Anim. Res. Develop.*, 7-55. • Modaresi J., Fathi Nasri M. H., Rashidi L., Dayani O. & Kebreab E., 2011. *J. Dairy Sci.* 94:4075-4080. • Molina-Alcaide E. & Yáñez-Ruiz D. R., 2008. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147, 247-264. • Romano R., Masucci F., Giordano A., Spagna-Musso S., Naviglio D. & Santini A., 2010. *Int. Dairy J.* 20:858-862. • Romero-Huelva, 2012. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, pp 109-110. • Romero-Huelva M., Ramos-Morales E. & Molina-Alcaide E., 2012. *J. Dairy Sci.* 95:6015-6026. • Theodorou M. K., Williams B. A., Dhanoa M. S., McAllan A. B. & France J., 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48:185-197. • Yáñez-Ruiz D. R., Moumen A., Martín-García A. I. & Molina-Alcaide E., 2004. *J. Anim. Sci.* 82:2023-2032.

**Agradecimientos** Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2011-27218). Se agradece a las empresas Fulgencio Spa S.L. (Motril, Granada), Aceites Sierra Sur S.A. (Pinos Puente, Granada) y Vitalgrana (Catral, Alicante) la cesión de muestras de subproductos. También se agradece la ayuda técnica a P. Rufino.

**Tabla 1.** Composición química de las dietas empleadas.

	Control	Ensilado de subproductos del olivar	Ensilado de tomate	Pulpa extractada de granada
MS (%)	92,9	97,5	89,1	92,6
MO (%)	83,2	83,7	89,7	95,8
EE (%MS)	1,91	5,95	3,16	10,8
FND (%MS)	37,8	39,0	51,6	34,4
PB(%MS)	17,7	8,80	11,9	12,1

MS: materia seca, MO: materia orgánica, EE: extracto etéreo, FND: fibra neutro detergente, PB: proteína bruta.

**Tabla 2.** Efecto de las dietas sobre la fermentación ruminal.

	Control	ET	EO	PGS, 50%	PGS, 100%	EEM	P-valor
pH	6,60	6,71	6,74	6,69	6,66	0,03	0,160
Gas 24 h, ml/g MSI	163 <sup>d</sup>	158 <sup>cd</sup>	114 <sup>a</sup>	153 <sup>c</sup>	146 <sup>b</sup>	1	<0,001
CH <sub>4</sub> , ml/100 ml gas tot.	7,53 <sup>c</sup>	7,26 <sup>bc</sup>	6,97 <sup>ab</sup>	7,16 <sup>ab</sup>	6,81 <sup>a</sup>	0,09	0,040
AGV totales, mM	22,5 <sup>b</sup>	25,5 <sup>c</sup>	16,2 <sup>a</sup>	21,1 <sup>b</sup>	19,6 <sup>b</sup>	0,71	<0,001
Acetato, %	69,3 <sup>a</sup>	72,9 <sup>c</sup>	71,1 <sup>b</sup>	69,7 <sup>a</sup>	69,6 <sup>a</sup>	0,30	0,001
Propionato, %	16,3	15,0	15,3	16,1	17,4	0,2	0,061
Isobutirato, %	1,80	1,96	2,06	1,99	1,80	0,18	0,595
Butirato, %	8,99	7,20	8,54	9,23	8,69	0,11	0,112
Isovalerato, %	2,05	1,88	1,99	1,84	1,54	0,13	0,304
Valerato, %	1,53 <sup>d</sup>	1,09 <sup>c</sup>	1,00 <sup>b</sup>	1,14 <sup>c</sup>	0,91 <sup>a</sup>	0,02	<0,001
Acetato: Propionato	4,35 <sup>a</sup>	4,93 <sup>c</sup>	4,71 <sup>bc</sup>	4,46 <sup>ab</sup>	4,16 <sup>a</sup>	0,08	0,006
CH <sub>4</sub> ml/mol AGV totales	179	147	183	169	170	6	0,058
EM, MJ/kg MS	7,64 <sup>d</sup>	7,19 <sup>c</sup>	5,77 <sup>a</sup>	7,22 <sup>c</sup>	6,87 <sup>b</sup>	0,04	<0,001
DMO, g/kg MS	525 <sup>d</sup>	483 <sup>c</sup>	397 <sup>a</sup>	491 <sup>c</sup>	461 <sup>b</sup>	2	<0,001
PM, g/kg MS	113	86,8	66,0	131	118	11,4	0,053
FP, g MO/l gas 24h	5,04 <sup>a</sup>	5,89 <sup>b</sup>	6,84 <sup>c</sup>	5,81 <sup>b</sup>	6,52 <sup>c</sup>	0,09	<0,001

EM: energía metabolizable, DMO: degradación de materia orgánica, PM: proteína microbiana, FP: factor de partición. EEM: error estándar de la media.

### RUMEN *IN VITRO* FERMENTATION OF AGRICULTURE BY-PRODUCTS WITH POTENTIAL USE IN FEEDING GOATS

**ABSTRACT:** Batch cultures of mixed rumen micro-organisms were used to study the ruminal fermentation promoted by diets based on agriculture by-products. Gas production and other fermentation parameters were evaluated. There was no effect either of diet type on pH. Significant differences were found on rate of gas, CH<sub>4</sub> and VFA production, EM, DMO and FP after 24 h of incubation. CH<sub>4</sub>/VFA tended to be lower with ET (P=0,058) and PM tended to be lower with EO (P=0,053). Our results showed the potential of ET and PGS to be used in goats feeding.

**Keywords:** ruminal fermentation, agriculture by-products, fermentation parameters, goat.

## EL ORUJO DE UVA EN LA ALIMENTACIÓN DEL GANADO OVINO: COMPOSICIÓN QUÍMICA, DEGRADACIÓN DE LA MATERIA SECA, PH Y N-NH<sub>3</sub> RUMINAL.

Guerra-Rivas, C.<sup>1</sup>, Gallardo, B.<sup>1</sup>, Lavín, P.<sup>2</sup>, Mantecón A.R.<sup>2</sup> y Manso, T.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Área de Producción Animal. Dpto. Ciencias Agroforestales. ETS Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. 34004 Palencia.

<sup>2</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). 24346 Grulleros (León)

\*e-mail: tmanso@agro.uva.es

### INTRODUCCIÓN

Los subproductos procedentes de elaboración del vino plantean un grave problema medioambiental y económico en relación con su almacenaje, transformación y eliminación. Se estima que sólo un 3% de estos residuos se destinan a alimentación animal, encontrándose su principal utilidad en raciones de mantenimiento para rumiantes. Sin embargo, el orujo de uva contiene numerosos compuestos fenólicos con efectos beneficiosos sobre la salud y la calidad de los productos de origen animal obtenidos (Gladine et al., 2007; Moñino et al., 2008) que ha hecho que se despierte un gran interés por su uso en alimentación del ganado ovino.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar la composición química y la cinética de degradación de la materia seca del orujo de vino tinto, así como la actividad ruminal de ovejas alimentadas con o sin orujo en la ración.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se utilizaron seis muestras de orujo de vino tinto procedentes de distintas bodegas representativas de Castilla y León (DO Ribera de Duero y DO Toro). Las muestras se secaron en estufa de aire forzado a 50°C, se separaron las semillas de la parte correspondiente a hollejos y pulpa, y en cada muestra se determinó su contenido en materia orgánica (MO), proteína (PB), PB ligada a la FAD y extracto etéreo (EE), de acuerdo con los métodos de la AOAC (2003). Los niveles de FND, FAD y lignina ácido detergente (LAD), se analizaron siguiendo el método de Van Soest et al. (1991).

Para la determinación de la actividad ruminal y cinética de degradación de los hollejos y semillas del orujo de uva se emplearon ocho ovejas no gestantes ni en lactación de raza Churra de 62,7 ± 5,81 kg de peso vivo provistas de una cánula ruminal de 35 mm de diámetro interior. Las ovejas se alojaron en jaulas individuales con libre acceso al consumo de agua y se asignaron, de forma equilibrada según su peso a dos tratamientos experimentales de acuerdo con la ración que recibieron: *control* (ración sin orujo) y *orujo* (ración control con 7,5% de orujo de uva tinta). La ración control consistió en una ración total mezclada (89,96% MS, 81,68% MO, 29,33% FND, 19,37% FAD, 14,77% PB, 2,31% EE) compuesta por: heno de alfalfa (50,0%), cebada (20,2%), avena (20,2%), harina de soja 44 (7,8%), corrector vitamínico mineral (Mervigor Ovejas<sup>®</sup>) (1,6%) y bicarbonato sódico (0,2%). A lo largo de todo el periodo experimental los animales recibieron 45 g/kg P<sup>0,75</sup>, distribuidos en dos comidas al día (8:00h y 17:00h). Después de un periodo de adaptación de 14 días de las ovejas a las dietas experimentales, se procedió a la determinación de la actividad (pH y N-NH<sub>3</sub>) y cinética de degradación ruminal de las muestras (hollejos y semillas) de orujo.

La cinética de degradación ruminal de las muestras se determinó utilizando la técnica de las bolsas de nylon (Orskov et al., 1980). Las muestras se molieron a 2 mm, se introdujeron en bolsas de nylon de tamaño 70x110 mm. En cada bolsa se pesaron aproximadamente 5 g de muestra, realizándose la incubación por duplicado. La serie de incubación fue la siguiente: 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 y 72h. Las bolsas correspondientes a cada tiempo se introdujeron siempre antes de la primera comida de la mañana y, después de ser retiradas del rumen, se aclararon bajo un grifo de agua fría y se congelaron a -20°C durante 24h para, posteriormente, ser lavadas en lavadora automática con agua fría durante 20 min. Este proceso de lavado también se utilizó para establecer el valor 0h. Las bolsas se secaron a 45-50°C y se pesaron para determinar la degradabilidad de la MS. Los parámetros de degradación ruminal se estimaron por regresión no lineal de forma independiente para cada animal, utilizando el modelo matemático descrito por Ørskov y McDonald (1979):  $P = a + b(1 - e^{-ct})$ . La degradabilidad efectiva (DE) fue calculada como:  $DE = a + bc / (c + k)$ , donde se tomó  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ .

Una vez finalizadas las incubaciones en el rumen y durante dos días alternos, se tomaron muestras de líquido ruminal con la finalidad de estudiar la evolución del pH y la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) a lo largo del día. Las muestras se tomaron a las 8:00h (antes de suministrar la primera comida del día), 9:00, 11:00, 14:00 y 17:00h. El pH del líquido ruminal fue medido inmediatamente después de la extracción. El contenido en N-NH<sub>3</sub> del líquido ruminal se determinó mediante modificación del método colorimétrico de Wheatherburn (1967).

Los datos de composición química de hollejos y semillas, así como pH y N-NH<sub>3</sub>, se analizaron utilizando procedimiento GLM y los parámetros que definen la cinética de degradación ruminal mediante el procedimiento NLIN del paquete estadístico SAS 9.2. (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

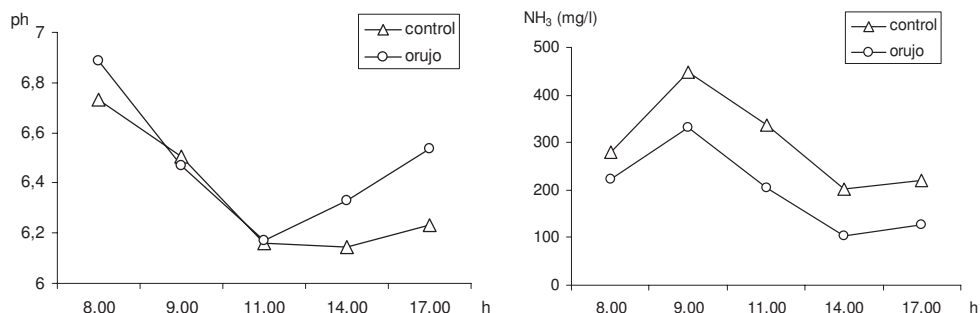
La proporción media de semillas del orujo de vino tinto fue de 47,21 ± 6,25%. La composición química de las muestras de orujo analizadas en este trabajo se encuentra dentro del rango de valores obtenidos por otros autores (Molina-Alcaide et al., 2008; Spanghero et al., 2009) en orujos de uva de distintas procedencias. Así, y de acuerdo con los datos presentados en la Tabla 1, las semillas presentaron mayores valores (P < 0,001) de hidratos de carbono fibrosos altamente lignificados y de EE que los hollejos. El contenido en PB medio del orujo de uva integral fue del 12 ± 1,17%, siendo superior (P < 0,01) en los hollejos que en las semillas. Es preciso destacar que una parte importante de la proteína se encuentra ligada a la FAD, lo que indica una baja utilización digestiva.

**Tabla 1.** Composición química (g/kg MS) de las fracciones constitutivas del orujo de uva de vino tinto.

	Hollejos	Semillas	RDS	Nivel de significación
MO	810,8	926,6	21,62	***
FND	242,7	522,8	47,20	***
FAD	192,7	453,9	32,79	***
LAD	74,7	353,1	24,77	***
PB	137,5	103,9	14,56	**
EE	31,7	99,0	6,65	***
PB ligada a la FAD	33,9	14,4	5,36	***

Nivel de significación: \*\*, P < 0,01; \*\*\*, P < 0,001.

La Figura 1 representa la evolución a lo largo del día de los valores de pH y N-NH<sub>3</sub> (mg/l) en el líquido ruminal obtenido en las ovejas pertenecientes a los distintos tratamientos. Los valores medios de pH correspondientes a la dieta control fueron más bajos (P < 0,1) que los de la dieta orujo (6,35 vs. 6,48, RSD= 0,316) y la concentración de N-NH<sub>3</sub> en el líquido ruminal, fue significativamente superior (P < 0,05) en las ovejas que no habían ingerido orujo. Estos resultados están de acuerdo con Abarghwei et al. (2010) y podrían atribuirse a la presencia de una alta proporción de PB ligada a la FAD y de taninos en la dieta de los animales que recibieron orujo en la ración. De acuerdo con Frutos et al. (2004) el consumo de cantidades pequeñas o moderadas de taninos puede reducir la degradación ruminal de la proteína y, en consecuencia, dar lugar a una menor disponibilidad de N-NH<sub>3</sub> a nivel ruminal.



**Figura 1.** Evolución del pH y del N-NH<sub>3</sub> del líquido ruminal de las ovejas de cada tratamiento.

En la Tabla 2 se presentan los parámetros que definen la cinética de degradación de la MS de hollejos y semillas. Los valores obtenidos están dentro del rango de valores presentados por otros autores (Molina-Alcaide et al., 2008). La fracción soluble (*a*) y potencialmente degradable (*b*) fue superior, y el ritmo de degradación (*c*), inferior en hollejos que en semillas. Como consecuencia, los valores más altos de DE ( $P < 0,001$ ) se registraron en hollejos (0,47 vs. 0,33). El tipo de ración (control vs. orujo) no afectó a ninguno de los parámetros de degradación ruminal de hollejos y semillas y en ningún caso se observaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) debidas a la interacción entre el tipo de muestra y la dieta consumida por los animales.

**Tabla 2.** Perfil de degradación ruminal de la MS de hollejos y semillas de orujo de vino tinto.

	control		orujo		RSD	Muestra	Tto	MxT
	Hollejos	Semillas	Hollejos	Semillas				
<i>a</i>	0,38	0,19	0,35	0,18	0,007	***	**	†
<i>b</i>	0,28	0,19	0,28	0,20	0,061	*	ns	ns
<i>c</i>	0,01	0,06	0,02	0,07	0,015	***	ns	ns
DE	0,47	0,33	0,48	0,34	0,010	***	ns	ns

*a*, fracción soluble; *b*, fracción potencialmente degradable; *c*, ritmo de degradación; DE, degradabilidad efectiva =  $a + bc/(c + k)$ , donde  $k = 0.02$ .

Nivel de significación: ns,  $P > 0,05$ ; †,  $P < 0,10$ ; \*,  $P < 0,05$ ; \*\*,  $P < 0,01$ ; \*\*\*,  $P < 0,001$

Los resultados de este trabajo ponen de manifiesto el limitado valor nutritivo del orujo de uva, por lo que su interés en alimentación del ganado ovino podría estar más relacionado con los efectos de los compuestos bioactivos que contiene.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarghuei, M.J., Rouzberhan, Y. & Alipour, D. 2010. *Livest. Sci.* 132, 79-73.
- AOAC. 2003. 17th ed. Gaithersburg, MD, USA.
- Frutos, P., Hervás, G., Giraldez, F.J. & Mantecón, A.R. 2004. *Spanish J. Agr. Res.* 2, 191-202.
- Gladine, C., Morand, C., Rock, E., Gruffat, D., Bauchart, D. & Durand, D. 2007. *Anim. Feed Sci. Tech.* 139, 257-272.
- Molina-Alcaide, E., Moumen, A. & Martín-García, I. 2008. *J. Sci. Food. Agric.* 88, 597-604.
- Moñino, I., Martínez, C., Sotomayor, J.A., Lafuente, A. & Jordán, M.J. 2008. *J. Agric. Food Chem.* 56, 3363-3367.
- Ørskov, E.R. & McDonald, I. 1979. *J. Agric. Sci.* 92, 499-503.
- Ørskov, E.R., Hovell, F.D. DeB & Mould, F. 1980. *Trop. Anim. Prod.* 5, 195-213.
- Spanghero, M., Salem, A.Z.M. & Robinson, P.H. 2009. *Anim. Feed Sci. Tech.* 152, 243-255.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.
- Weatherburn, M.W. 1967. *Anal. Chem.* 39, 971-974.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen la colaboración de la Escuela de Capacitación Agraria de Viñalta (Palencia). Financiación procedente de INIA (RTA2010-0068-C02-02) y de la Consejería de Educación de la JCyL (VA196A11-2). C. Guerra-Rivas disfruta de una beca FPU del Ministerio de Educación y B. Gallardo de un contrato PIRTU de la JCyL.

#### GRAPE POMACE IN SHEEP FEED: CHEMICAL COMPOSITION, RUMINAL DEGRADABILITY AND RUMINAL PARAMETERS

**ABSTRACT:** Chemical composition, *in situ* dry matter degradability of grape pomace and ruminal activity of sheep were studied in this work. Eight ruminally castrated Churra ewes were assigned to two dietary treatments, control (C, without grape pomace) and grape pomace (GP, with 7,5% of grape pomace in the diet). Fiber and ether extract content were higher ( $p < 0.001$ ) and crude protein content and ruminal degradability were lower ( $P < 0.001$ ) in seeds than in pulps-skins. Ruminal pH was higher and ruminal N-NH<sub>3</sub> was lower in sheep feed GP diet than C ( $P < 0.05$ ). The nutritive value of grape pomace as a feed for ruminant diets is limited, however grape pomace could be interesting by their bioactive compounds.

**Keywords:** grape pomace, degradability, ruminal activity.

## ESTRATEGIAS PARA MODIFICAR LA BIOHIDROGENACIÓN RUMINAL DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN DIETAS RICAS EN OMEGA-3

A. Siurana<sup>a</sup>, A. Ferrer<sup>a</sup>, D. Bravo<sup>b</sup>, S. Calsamiglia<sup>a</sup>. <sup>a</sup>Universitat Autònoma de Barcelona, Spain; <sup>b</sup>Pancosma, Switzerland  
Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.  
sergio.calsamiglia@uab.es

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha desarrollado un interés creciente en la producción de leche enriquecida con ácidos grasos omega-3 y ácido linoleico conjugado (CLA). En condiciones naturales, casi todo el CLA se produce a partir de los intermediarios de la biohidrogenación de las grasas poliinsaturadas en el rumen. Por esta razón, el aporte de CLA en la dieta humana proviene mayoritariamente del consumo de productos lácteos y cárnicos derivados de rumiantes (Ritzenthaler *et al.*, 2001). En el rumen ocurren dos procesos en el metabolismo de los lípidos: la hidrólisis de los enlaces éster mediante lipasas microbianas (o lipólisis) (Dawson *et al.*, 1977) y la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados (AGI). La adición de aceites vegetales ricos en ácido linoleico y linolénico a la dieta de rumiantes resulta en la acumulación de ácido vaccénico (*trans*-11 C18:1) y la posterior desaturación del ácido vaccénico a *cis*-9, *trans*-11 CLA en la glándula mamaria mediante el enzima delta-9 desaturasa. Esta síntesis endógena en la glándula mamaria es la mayor fuente de CLA en la leche. Sin embargo, bajo ciertas condiciones dietarias, como dietas suplementadas con aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados y un pH ruminal bajo, las vías de la biohidrogenación ruminal se alteran y se producen ácidos grasos intermediarios, de los cuales algunos son potentes inhibidores de la síntesis de la grasa láctea (Bauman y Griinari, 2001). Esta depresión de la grasa láctea se ha relacionado sobre todo con el incremento del isómero *trans*-10 C18:1 en el rumen, y *trans*-10, *cis*-12 CLA en el rumen y en la glándula mamaria. Esta reducción de la grasa láctea tiene implicaciones económicas importantes en las explotaciones lecheras y en la planificación de la comercialización de leche enriquecida con omega-3 y CLA, ya que puede comprometer la normativa de garantías de composición de dicha leche.

El objetivo general de este proyecto es evaluar estrategias nutricionales para desarrollar una leche enriquecida en CLA minimizando la reducción del contenido en grasa láctea.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se evaluaron las siguientes 3 estrategias en 2 experimentos: 1) Estimular la lipólisis con el objetivo de aumentar la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados disponibles para la biohidrogenación bajo la hipótesis que éste incremento puede saturar la actividad microbiana ruminal encargada de la biohidrogenación e inhibir los pasos intermediarios de la biohidrogenación (Lourenço *et al.*, 2010). En consecuencia, se espera un aumento de los ácidos grasos poliinsaturados intermediarios, especialmente en el *trans*-11 C18:1. Para ello se utilizaron dos lipasas (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark); 2) Inhibir la lipólisis con el objetivo de observar qué cambios se producen en los intermediarios de la biohidrogenación, y su posible potencial para disminuir la completa saturación de los ácidos linoleico y linolénico. Para alcanzar este objetivo se probó un inhibidor de la enzima lipasa pancreática. 3) Limitar la acción microbiana del último paso de la biohidrogenación (saturación del *trans*-11 C18:1 a C18:0) y evitar el desarrollo de la vía metabólica alternativa que produce *trans*-10 C18:1. Para este objetivo se utilizaron tres aceites esenciales, los cuales tienen actividad antimicrobiana (Pancosma S. A., Geneva, Switzerland).

En el primer experimento, se estudiaron los aditivos señalados anteriormente mediante la técnica de digestibilidad "in vitro" Tilley-Terry (1963). Se utilizó una dieta 50:50 forraje:concentrado enriquecida con aceite de lino como fuente de ácidos grasos omega-3 (8,3%MS). Los tratamientos fueron control; lipasa 1 y 2 (0,4 y 4 µl/g MS); inhibidor de la lipasa pancreática (0,4 y 2 mg/g MS); Oxy-propyl-tiosulfato (PTSO) (60 y 120 mg/l); Eugenol (EUG) y Cinamaldehido (CIN) (150 y 500 ml/l). Los tratamientos se probaron a dos niveles de pH (6,4 y 5,6) durante 2h (lipasas e inhibidor de la lipasa pancreática) o 6h (aceites esenciales) y se realizaron 2 periodos experimentales. Pasadas las horas de incubación se determinó el pH final y se recogieron muestras para determinar el Nitrógeno amoniacal, los ácidos grasos volátiles (AGV) y el perfil de ácidos grasos de cadena larga.



En el segundo experimento, se utilizaron 8 fermentadores de doble flujo continuo (1320 ml) en 3 periodos experimentales (5 días de adaptación y 3 días de muestreo) para estudiar los efectos de la lipasa 1, el PTSO y el CIN en la biohidrogenación de los ácidos LA y LNA, y la fermentación ruminal. Los fermentadores se alimentaron con 95 g/d de MS de una dieta 60:40 forraje:concentrado enriquecida con aceite de lino como fuente de omega-3 (5% MS). Los tratamientos fueron control, lipasa 1 (4µl/l), PTSO (90 mg/l) y CIN (250 mg/l) a dos niveles de pH (6,4 y 5,6). Durante los últimos 3 días de cada periodo, se recogieron muestras a las 0, 3 y 6 h después de la comida de la mañana para analizar el perfil de ácidos grasos de cadena larga. A las 0 y 3 h después de la comida de la mañana se recogieron muestras para determinar el Nitrógeno amoniacal y los AGV.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el primer experimento, la lipasa 1, independientemente del pH y la dosis, incrementó la biohidrogenación aparente del LNA (pH 6.4: 45.3 vs. 20.4; pH 5.6: 32.9 vs.19.6, respectivamente) y disminuyó la eficiencia de los pasos intermediarios de la biohidrogenación del LA y LNA. La lipasa 2 incrementó la biohidrogenación aparente del LNA a pH 6,4 (33.9 vs. 20.4). No se observó ningún efecto con el inhibidor de la lipasa pancreática sobre la biohidrogenación. El tratamiento PTSO inhibió la biohidrogenación aparente del LA y LNA a los 2 niveles de pH. El tratamiento EUG, a la dosis de 150 mg/l, incrementó la concentración de *cis*-9, *trans*-11 CLA a pH 6,4. El tratamiento CIN, a la dosis de 500 mg/l, inhibió la biohidrogenación aparente del LNA a los dos niveles de pH. Después de 6 h de incubación, el pH 5,6 disminuyó la concentración total de AGV. Además, a pH 6,4 el tratamiento PTSO, a las 2 dosis, y CIN, a dosis alta, disminuyeron la concentración total de AGV; y a pH 5,6, los tratamientos PTSO y CIN, a las dos dosis, y EUG, a dosis alta, disminuyeron la concentración total de AGV. En el segundo experimento, el tratamiento PTSO inhibió la concentración aparente del LA y LNA, y disminuyó la concentración total de AGV a los dos niveles de pH. El pH bajo (5,6) inhibió la biohidrogenación del LA, incrementó la concentración del isómero *trans*-10 C18:1 y disminuyó la concentración total de AGV.

Los efectos más importantes de disminuir el pH fueron la reducción de los ácidos *trans*-11 C18:1 y *cis*-9, *trans*-11 CLA pero no los ácidos *trans*-10 C18:1 y *trans*-10, *cis*-12 CLA que, además, en el experimento 2 aumentaron. Por lo tanto, con un pH bajo, que podemos encontrar en granjas con producción intensiva, incrementa la actividad de la vía alternativa de la biohidrogenación ruminal que podría provocar la inhibición de la síntesis de la grasa láctea. Además, la fermentación ruminal también se vió afectada, ya que se observó una disminución de los AGV totales, aunque este efecto no se observó en el experimento 1 en los tratamientos que sólo fueron incubados durante 2 horas. Esto demuestra que los efectos de la reducción del pH aumentan cuanto más largo es el tiempo de incubación. Los efectos negativos del pH sobre los intermediarios de la biohidrogenación y AGV también fueron observados por Fuentes *et al.* (2009; 2011).

Los resultados indicaron que la lipasa 1 aumentó la biohidrogenación aparente del ácido linoleico y linolénico por lo cual en el perfil final de los ácidos grasos se observa una disminución de los ácidos linoleico y linolénico, y un aumento del ácido esteárico (C18:0). El incremento de la actividad lipolítica produce un incremento de los ácidos grasos poliinsaturados disponibles para la biohidrogenación a las 2 horas de incubación. Este incremento puede saturar la actividad microbiana ruminal encargada de la biohidrogenación e inhibir los pasos intermediarios de la biohidrogenación (Lourenço *et al.*, 2010). Por lo tanto hay un aumento de los ácidos grasos poliinsaturados intermediarios. Incrementar la actividad lipolítica puede aumentar el flujo de *trans*-11 C18:1 y *cis*-9, *trans*-11 CLA desde el rumen a la glándula mamaria y, consecuentemente, aumentar la concentración de *cis*-9, *trans*-11 CLA en la grasa láctea y obtener una leche enriquecida en CLA, pero no disminuye los isómeros *trans*-10 y *trans*-10, *cis*-12 CLA, por lo que el objetivo de evitar la disminución de la síntesis de grasa láctea es improbable. Además, estos efectos no se demostraron en el experimento 2, lo que nos sugiere que las poblaciones microbianas se adaptaron a la acción de las lipasas.

En el caso de los aceites esenciales, incluir CIN y PTSO en la dieta inhibió la biohidrogenación del LNA, lo que podría incrementar el flujo duodenal de ácidos grasos omega-3 y disminuir el flujo de ácido esteárico (C18:0) hacia la glándula mamaria, por lo que se podría obtener una leche enriquecida con ácidos grasos omega-3 y menos grasas saturadas, pero no se evitaría la depresión de la síntesis de la grasa láctea. Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos por Lourenço *et al.* (2008), donde se

observó que incluir cinamaldehído a dosis de 500 mg/l inhibía la biohidrogenación aparente del ácido linoleico y linoléico. Por otro lado, en el experimento 2 no se observó ningún efecto en el perfil de ácidos grasos a causa de la adición de cinamaldehído, lo que coincide con Benchaar y Chouinard (2009) que probaron dosis de 1 g/d en vacas de raza Holstein. Por otro lado, estos dos tratamientos provocaron una disminución de los AGV, lo que sugiere que a las dosis utilizadas afectaron a la fermentación ruminal. Además, en el caso del PTSO, existe una interacción significativa entre el pH y tratamiento que provoca una disminución mayor de los AGV totales a pH 5,6 respecto a pH 6,4, por lo tanto los resultados observados cuando incluimos PTSO en la dieta deben atribuirse parcialmente al efecto del pH.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bauman, D.E., y J.M. Griinari. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70:15-29.
- Benchaar, C., Chouinard, P.Y., 2009. Short communication: Assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:3392-3396.
- Dawson, R.M.C., N. Hemington, y G.P. Hazlewood. 1977. Role of higher plant and microbial lipases in ruminal hydrolysis of grass lipids. *Br. J. Nutr.* 38:225-232.
- Fuentes, M.C., Calsamiglia, S., Cardozo, P.W., Vlaeminck, B., 2009 Effect of pH and level of concentrate in the diet on the production of biohydrogenation intermediates in a dual-flow continuous cultura. *J. Dairy Sci.* 92:4458-4466.
- Fuentes, M.C., Calsamiglia, S., Fievez, V., Blanch, M., Mercadal, D., 2011. Effect of pH on ruminal fermentation and biohydrogenation of diets rich in omega-3 or omega-6 fatty acids in continuous cultura of ruminal fluid. *J. Anim. Feed Sci. Technol.* 169:35-45.
- Lourenço, M., Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Fievez, V., 2008. Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. *J. Anim. Sci.* 86:3045-3053.
- Lourenço, M., Ramos-Morales, E., Wallace, R.J., 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal* 4.7:1008-1023.
- Ritzenthaler, K.L., M.K. McGuire, R. Falen, T.D. Shultz, N. Dasgupta, y M.A. McGuire. 2001. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J. Nutr.* 131:1548-1554.
- Tilley, J.M.A. and Terry, R.A., 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, v. 18, n. 2:104-111.

## STRATEGIES TO MODIFY BIOHYDROGENATION PATHWAYS OF DIETS RICH IN POLYUNSATURATED FATTY ACIDS

**ABSTRACT:** Two experiments were conducted to determinate the effects of several commercial lipases and essential oils on apparent biohydrogenation of linoleic (LA) and linolenic (LNA) acids and rumen fermentation. In a first experiment, *in vitro* incubations (Tilley & Terry, 1963) at two pH levels (6.4 and 5.6) in two replicated periods were used. Treatments were control; lipase 1 and 2 (0.4 and 4  $\mu$ l/g DM); lipase inhibitor (0.4 and 2 mg/g DM); Oxy-propyl-thiosulphate (PTSO) (60 and 120 mg/l); Eugenol (EUG) and Cinnamaldehyde (CIN) (150 and 500 ml/l). In a second experiment, 8 dual-flow continuous culture fermenters (1,320 ml) were used in 3 replicated periods to study the effects of lipase 1 (4  $\mu$ l/l), PTSO (90 mg/l) and CIN (250 mg/l) at two pH levels (6.4 and 5.6). Lipase 1, independently pH level and doses, increased the apparent biohydrogenation of LNA in the first experiment, however these results were not observed in the second experiment. PTSO inhibited the apparent biohydrogenation of LA and LNA and decreased the total VFA concentration at the two pH. The low pH inhibited the biohydrogenation of LA, increased the *trans*-10 18:1 isomer, and decreased the total VFA concentrations. Results indicated that effects of lipases observed in the Tilley & Terry incubation were not observed in long term fermenters, which suggests that microbial population was adapted to lipases. Reducing the pH inhibited the ruminal fermentation and increased the alternative pathway of ruminal biohydrogenation.

**Keywords:** biohydrogenation, conjugated linoleic acid (CLA), fatty acid.

## EFFECTO DE LA INCLUSION DE COMPUESTOS ORGANOSULFURADOS EN LA DIETA SOBRE LA BIOHIDROGENACION RUMINAL DE ACIDOS GRASOS EN FERMENTADORES DE FLUJO CONTINUO

\*E. Ramos-Morales, G. Martínez, L. Abecia, A.I. Martín-García, D.R. Yáñez-Ruiz, E. Molina-Alcaide

Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Profesor Albareda 1, 18008, Granada, Spain

\*[eva.ramos@eez.csic.es](mailto:eva.ramos@eez.csic.es)

### INTRODUCCIÓN

Los productos derivados de los rumiantes se caracterizan por un elevado contenido en ácidos grasos saturados, pero también son la fuente principal de ácido linoleico conjugado (*cis*-9, *trans*-11 CLA) y ácido vaccénico (VA; *trans*-11 18:1), asociados con efectos beneficiosos para la salud humana. Estos ácidos grasos se producen por la biohidrogenación parcial de ácidos grasos insaturados, particularmente ácido linoleico (LA; *cis*-9, *cis*-12 18:2), que llevan a cabo ciertos microorganismos del rumen. Actualmente, se están desarrollando estrategias que permitan modificar el perfil lipídico de los productos derivados de los rumiantes, aumentando su contenido en *cis*-9, *trans*-11 CLA y VA en el rumen. El uso de compuestos derivados del ajo ha despertado un gran interés como alternativa al uso de antibióticos para la manipulación de la fermentación ruminal. Principalmente, y dado el creciente interés en la reducción de las emisiones entéricas de metano, se ha evaluado el potencial de estos compuestos como antimetanológicos (Benchaar y Greathead, 2011). Sin embargo, existen muy pocos trabajos acerca del efecto de la adición de aceite de ajo a la dieta sobre la biohidrogenación ruminal (Laverroux et al., 2011; Zhu et al., 2012) y ninguno relativo al uso de compuestos organosulfurados concretos. El hidrógeno molecular conecta muchos procesos metabólicos en el rumen, de manera que los compuestos derivados del ajo, con actividad antimetanológica, podrían afectar no solo al metabolismo de los ácidos grasos volátiles, sino también al proceso de biohidrogenación ruminal. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de dialil disulfuro (DDS) y propil propano tiosulfinato (PTS), adicionados en las dosis que mostraron un potencial antimetanológico en incubaciones *in vitro* durante 24 h (Martínez et al., 2011), sobre la biohidrogenación ruminal tras un periodo de incubación *in vitro* más prolongado (12 días).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 6 fermentadores de flujo continuo simple (1 l) en dos periodos replicados de 12 días cada uno. El inóculo ruminal (700 ml/fermentador) se obtuvo de 8 cabras de raza murciano-granadina, canuladas en rumen y alimentadas a base de heno de alfalfa y concentrado (1:1). Para cada periodo, tres de los fermentadores se inocularon con una mezcla de contenido ruminal procedente de tres animales distintos seleccionados al azar. Los fermentadores recibían la misma dieta (16 gramos/ fermentador/día) que los animales donadores del inóculo en dos tomas, a las 9:00 y a las 14:00 h. Además, a dos fermentadores por periodo se les adicionó 80 µl/l o 200 µl/l al día de DDS y PTS, respectivamente. Al final de cada periodo, se extrajo contenido de los vasos de fermentación que se filtró a través de dos capas de gasa bajo un flujo de CO<sub>2</sub>. Un ml de contenido del fermentador se añadió, en condiciones de anaerobiosis, a tubos que contenían 0.1 ml de 2 g de LA/l. Los tubos se incubaron a 39°C durante 0, 1, 3, 6, 9 y 24 h, deteniéndose la reacción mediante calentamiento a 100°C durante 10 minutos. Las muestras se conservaron a -20°C hasta la extracción y metilación de ácidos grasos (Devillard et al., 2006), que se analizaron mediante cromatografía gaseosa (Shingfield et al., 2003). El análisis estadístico de los datos experimentales se realizó, para cada tiempo de incubación por independiente, mediante un modelo univariante GLM del programa SPSS 19.0, considerando la mezcla del contenido ruminal inoculado a los fermentadores como covariable. Las diferencias entre medias se establecieron utilizando el test DMS (P < 0,05).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron cambios ( $P>0.05$ ) en la tasa inicial del metabolismo del LA (Figura 1a) o en la acumulación de *cis*-9, *trans*-11 CLA (Figura 1b) y de *trans*-10, *cis*-12 CLA (Figura 1c) entre tratamientos. Las concentraciones de VA (Figura 1d) y de *trans*-10 18:1 (Figura 1e) aumentaron ( $P=0,028$  a 9 h y  $P=0,011$  a 3 h, respectivamente) cuando se incubó LA con contenido de fermentadores a los que se les adicionó DDS o PTS, en comparación con los no tratados. Sin embargo, no se observaron cambios ( $P>0,05$ ) en la producción de ácido esteárico (SA; Figura 1f) como resultado de la adición de compuestos derivados del ajo. Aun cuando los incrementos en *trans*-10 18:1 se han relacionado con implicaciones para el metabolismo ruminal del hospedador y con la calidad nutricional de los productos de los rumiantes, en este estudio dichos incrementos no fueron desproporcionados y las concentraciones de VA fueron siempre mayores que las de *trans*-10 18:1 para los tratamientos DDS y PTS, en comparación con el control. Estos resultados muestran que la biohidrogenación del LA por microorganismos ruminales presentes en el contenido de fermentadores tras 12 días de tratamiento con PTS y DDS fue incompleta, resultando en un aumento de VA lo que podría promover un aumento de ácidos grasos saludables para el consumidor en productos derivados de los rumiantes. Se requieren estudios *in vivo* para confirmar el efecto de estos aditivos sobre la biohidrogenación ruminal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

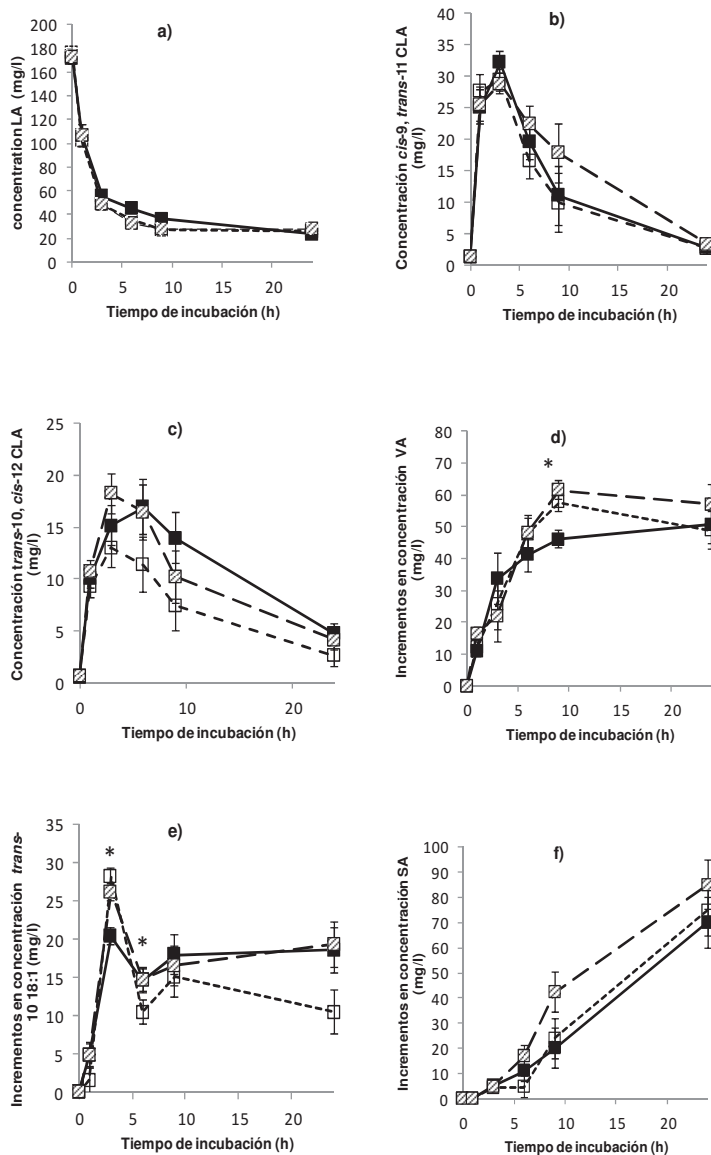
• Benchaar, C., Greathead, H. 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 166-167: 338-355. • Devillard, E., F. M. McIntosh, C. J. Newbold, and R. J. Wallace. 2006. Br. J. Nutr. 96:697-704. • Laverroux, S., Arturo-Shaan M., Doreau, M. 2011. Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Symposium on the Nutrition of Herbivores. 279. • Martínez, G., Abecia, L., Martín-García, A. I., Ramos-Morales, E., Molina-Alcaide, E., Ranilla, M. J., Yáñez-Ruiz, D.R. 2011. Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Symposium on the Nutrition of Herbivores. 488. • Shingfield, K. J., S. Ahvenjarvi, V. Toivonen, A. Arola, K. V. V. Nurmela, P. Huhtanen, and J. M. Griinari. 2003. Anim. Sci. 77:165–179. • Zhu, Z., Mao, S., Zhu, W. 2012. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 25: 962-970.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Andalucía (Proyecto de Excelencia P07-RNM-02746) y el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2008-04707-C02-01).

## EFFECT OF ADDING ORGANOSULPHUR COMPOUNDS TO THE DIET ON RUMINAL FATTY ACID BIOHYDROGENATION IN CONTINUOUS CULTURE FERMENTERS

**ABSTRACT:** Garlic essential oil contains a variety of fat soluble organosulphur compounds with antimicrobial activity. In the last decade an increasing research interest has focused on using garlic oil and its constituents as modulators of ruminal processes. The present study was undertaken to evaluate the potential of diallyl disulfide (DDS) and propyl propane thiosulfinate (PTS) to modulate rumen biohydrogenation *in vitro*. Six single-flow continuous-culture fermenters, inoculated with rumen fluid from 8 goats, were used in two replicated periods of 12 days each. Two fermenters per period received either a control diet or the same diet with 80  $\mu\text{l/l}$  of DDS or 200  $\mu\text{l/l}$  of PTS daily. On day 12 of the experiment, one ml of fermenter's content was incubated *in vitro* with 0.1 ml of 2 g LA/l for 0, 1, 3, 6, 9 and 24 h. There were no changes ( $P>0.05$ ) in either the initial rate of metabolism of LA (Figure 1a) or the accumulation of *cis*-9, *trans*-11 CLA (Figure 1b) and *trans*-10, *cis*-12 CLA (Figure 1c) between treatments. Vaccenic acid and *trans*-10 18:1 accumulated to higher concentrations ( $P=0.028$  at 9 h and  $P=0.011$  at 3 h, respectively) when LA was incubated in rumen fluid from fermenters receiving DDS and PTS (Figure 1d and 1e). It was concluded that adding DDS and PTS to the diet of fermenters increased the accumulation of VA, with potential health benefits for ruminant products. *In vivo* studies are now required to confirm the potential of these additives.

**Keywords:** biohidrogenación, fermentadores, compuestos organosulfurados



**Figura 1.** Efecto de la adición de DDS y PTS a la dieta de fermentadores de flujo continuo sobre el metabolismo *in vitro* del LA (ácido linoleico); a) Metabolismo del LA. b) acumulación de cis-9, trans-11 CLA.; c) acumulación de trans-10, cis-12 CLA.; d) Cambios en la concentración de ácido vaccénico (VA); e) Cambios en la concentración de trans-10 18:1.; f) Cambios en la formación de esteárico (SA). Los cuadrados negros, blancos y estriados, corresponden a las incubaciones con contenido de los fermentadores que recibieron la dieta control (sin aditivo) o con DDS y PTS, respectivamente.

## **EFFECTO DEL TIPO Y FORMA DE PRESENTACIÓN DEL CEREAL DEL CONCENTRADO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL EN TERNEROS EN CEBO INTENSIVO**

Gimeno, A., Al-Alami, A., Fondevila, M., de Vega, A., Castrillo, C.

Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón, Depto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. ccastrí@unizar.es

### **INTRODUCCIÓN**

El uso de dietas con un alto contenido en cereales, típico del sistema de cebo intensivo de terneros en el área Mediterránea, puede resultar en la aparición de acidosis ruminal, debido a la fermentación masiva de los carbohidratos que llegan al rumen y la consecuente acumulación de ácidos orgánicos (Bramley et al., 2008). Entre las estrategias estudiadas para su prevención se encuentra un correcto manejo de la alimentación. En este aspecto, cobra especial importancia la elección de los cereales (en función del ritmo de degradación del almidón) y la forma de presentación del concentrado, siendo ventajosas aquellas que promuevan una fermentación ruminal más estable. El objetivo de este experimento fue estudiar el efecto del tipo de cereal (de moderado - maíz - o rápido - cebada - ritmo de fermentación) y de su forma de presentación (molido o aplastado en seco) sobre la fermentación ruminal en terneros en cebo intensivo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron ocho terneros machos de raza Frisona provistos de una cánula ruminal de 1 cm de diámetro interno, con un peso vivo inicial de  $282 \pm 5.2$  kg, previamente adaptados a una dieta rica en concentrado y alojados individualmente. Se formularon dos concentrados isoenergéticos (1,05 UFC/kg MS) e isoproteicos (150g PB/kg MS), con un 60 % de maíz y cebada, incluidos en proporciones 75:25 (M) ó 25:75 (C). A su vez los cereales fueron ofrecidos en dos formas de presentación (molidos a 3.5 mm - m - o aplastados en seco - a). El concentrado se administró *ad libitum*, en una única distribución diaria, y los animales dispusieron además de paja de cebada a voluntad. Cuatro animales fueron asignados a cada una de las dietas (M o C) durante todo el experimento. Se llevaron a cabo dos periodos experimentales de 35 d, en cada uno de los cuales el concentrado se administró en una u otra forma de presentación, siguiendo un diseño en "change-over", con 2 animales por tratamiento y periodo. Las 4 primeras semanas de cada periodo fueron de adaptación a la dieta, y durante la última se tomaron muestras de líquido ruminal en dos días no consecutivos, justo antes de la distribución del concentrado (8:00) y 4 y 8 h más tarde. En cada muestra se determinó el pH y la concentración de amoníaco y ácidos grasos volátiles (AGV). Los días de muestreo también se determinaron el consumo de alimento y agua desde la distribución del concentrado a cada una de las horas de muestreo, así como la ingestión diaria. Los resultados fueron analizados usando el procedimiento MIXED (SAS, versión 9.2), considerando al animal dentro de cereal como unidad experimental y la hora de muestreo como medidas repetidas.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El consumo medio diario de concentrado y paja no se vio afectado de forma significativa por los tratamientos experimentales ( $89 \pm 2,0$  y  $11 \pm 1,0$  g kg<sup>-1</sup> PV<sup>0.75</sup>, respectivamente). No obstante, la ingestión de concentrado fue cuantitativamente superior en los animales que

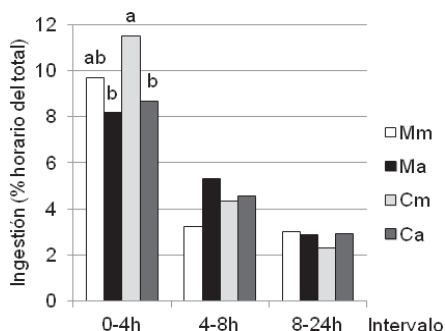
recibieron la cebada molida (84 vs. 95, con a y m respectivamente,  $P>0.10$ ), mientras que los que la recibieron en forma aplastada consumieron una proporción cuantitativamente mayor de paja (14,3 vs. 9,8 % del total,  $P>0.10$ ). Por otra parte, los animales que recibieron el cereal aplastado presentaron una pauta de ingestión del concentrado a lo largo del día más homogénea que los que lo recibieron en forma de harina, debido fundamentalmente a un menor consumo durante las primeras 4 h tras la distribución del alimento (0,34 vs. 0,43 del total diario, respectivamente,  $P=0,010$ ), siendo este hecho más evidente con la cebada (Figura 1). El consumo de agua fue cuantitativamente mayor en los animales alimentados con los cereales molidos (30,4 vs. 27,0 L d<sup>-1</sup>, e.e. 1,98,  $P>0,10$ ). No se observaron diferencias en la concentración de AGV totales entre tratamientos antes de la distribución de la mañana (83 mmol L<sup>-1</sup>, e.e. 4,6), aumentando ( $P<0,001$ ) de forma similar en todos los tratamientos durante las primeras 4 horas, hasta alcanzar un valor medio de 126 mmol L<sup>-1</sup>. Sin embargo, su evolución de 4 a 8 h post-distribución dependió de la forma de presentación del concentrado, de manera que con las dietas aplastadas la concentración de AGV tendió a estabilizarse y con las molidas siguió en aumento, siendo este incremento significativo con la dieta Cm ( $P<0,01$ ). Por otra parte, las dietas molidas promovieron una mayor ratio acético:propiónico a todas las horas de muestreo ( $P<0,05$ ). El pH ruminal (Figura 2) mostró una tendencia inversa a la de los AGV, presentando ambos parámetros una elevada correlación negativa ( $r= -0,892$ ). Así, antes de la distribución del concentrado no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, ni tampoco tras las 4 h siguientes, durante las cuales disminuyó el pH ( $P<0,001$ ). Los animales alimentados con los cereales aplastados mostraron una estabilización de los valores de pH entre las 4 y 8 h post-distribución, mientras que en los que los recibieron molidos el pH siguió disminuyendo, siendo la caída significativa con la dieta Cm ( $P<0,05$ ). La molienda del cereal provocó una mayor proporción de observaciones individuales de pH por debajo de 5,6 y de AGV por encima de 150 mM, valores considerados como umbrales de acidosis ruminal subaguda (SARA) por varios autores (Nagaraja and Titgemeyer, 2007). En el caso de la dieta alta en cebada, a las 8 h la proporción de observaciones que cumplieron los dos criterios fue del 0,69 cuando fue administrada en forma de harina (m), mientras que no se registró ninguna con la presentación aplastada. En cuanto a la concentración de amoníaco, los animales que recibieron los cereales molidos mostraron concentraciones superiores a los alimentados con los cereales aplastados (concentración media diaria de 60 vs. 32 mg L<sup>-1</sup>,  $P<0,5$ ). En teoría, el efecto del procesado de los cereales sobre el ritmo de fermentación de su almidón se manifiesta más en aquellos de lenta o moderada degradación (Offner et al., 2003), por lo que las mayores diferencias encontradas con las dietas altas en cebada en este trabajo podrían ser en parte explicadas por un mayor efecto de la forma de presentación sobre la pauta de ingestión en este cereal. Estos resultados sugieren que el aplastado en seco de los cereales podría ser una posible estrategia para controlar el ritmo de ingestión del concentrado y/o de fermentación del almidón y, por lo tanto, el riesgo de acidosis ruminal en terneros en cebo intensivo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

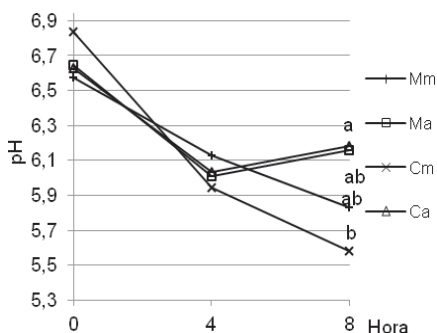
- Bramley, E., Lean, I. J., Fulkerson, W. J., Stevenson, M. A., Rabiee, A. R. & Costa, N. D. 2008. *J. Dairy Sci.* 91: 308-321.
- Nagaraja, T. G., & E. C. Titgemeyer. 2007. *J. Dairy Sci.* 90 Suppl 1: E17-38.
- Offner, A., A. Bach, & D. Sauvant. 2003. *Anim. Feed Sci. Tech.* 106: 81-93.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2009-12026). Gimeno, A., disfrutó de una beca FPI BES-2010-039495.

**Figura 1.** Efecto de los tratamientos experimentales (Mm, maíz molido; Ma, maíz aplastado; Cm, cebada molida; Ca, cebada aplastada) y del intervalo de muestreo sobre la pauta de ingestión del concentrado.



**Figura 2.** Efecto de los tratamientos experimentales (Mm, maíz molido; Ma, maíz aplastado; Cm, cebada molida; Ca, cebada aplastada) y de la hora de muestreo sobre el pH en rumen.



### EFFECT OF TYPE AND PHYSICAL FORM OF THE CEREAL OF THE CONCENTRATE ON RUMEN FERMENTATION IN INTENSIVELY REARED STEERS

**ABSTRACT:** Ruminal acidosis is a common metabolic disorder found in feedlot cattle. The aim of this work was to study the effect of the source of cereal (maize or barley) in the concentrate and its physical form (ground to 3.5 mm or dry rolled) on rumen fermentation parameters (rumen pH, volatile fatty acids - VFA - and ammonia) and intake pattern of feed and water in intensively reared steers. Rolled diets tended to promote a more homogeneous intake pattern of concentrate along day by regulating the intake during the first 4 h after feeding. Furthermore, rolled cereals promoted a more stable rumen fermentation, characterized by a lower proportion of observations in risk of rumen acidosis (pH below 5,6 and total VFA concentration above 150 mM), been this effect more evident in the case of barley. These results suggest that the dry rolling processing of the cereals of the concentrate could be a good way of preventing rumen acidosis in feedlot cattle by a regulation on the intake pattern of concentrate and/or the fermentation rate of starch.

**Keywords:** intake pattern, rumen acidosis, volatile fatty acids, rumen pH



## **CEBO DE TERNEROS CON UNIFEED O PIENSO Y PAJA: EFECTO SOBRE EL RENDIMIENTO Y EL AMBIENTE RUMINAL**

Posado, R.<sup>1</sup>, Bodas, R.<sup>1</sup>, Tabernero de Paz, M.J.<sup>1</sup>, Bartolomé, D.J.<sup>1</sup>, Herraiz, P.<sup>2</sup> y García, J.J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico Agrario - Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León. Finca Zamadueñas. Ctra. Burgos, km 119. 47071 Valladolid (Spain). Correo e.: ita-posferre@itacyl.es

<sup>2</sup>Asociación Española de la Raza Avileña-Negra Ibérica. Padre Tenaquillo, 8. 05004 Ávila

### **INTRODUCCIÓN**

Los dos tipos de alimentación que con más frecuencia se utilizan para el cebo de terneros son el empleo de pienso concentrado a voluntad (generalmente suministrado en tolvas) y la utilización de raciones unifeed, basadas fundamentalmente en silo de maíz, complementado con cierta cantidad de pienso. En este último caso, el alimento es suministrado una o dos veces al día en comederos corridos, donde los animales disponen de él a lo largo de todo el día (González et al., 2012). Las preferencias de los consumidores y sobre todo, las circunstancias económicas de los últimos años han ocasionado que cada vez se valore más positivamente la posibilidad de utilizar raciones menos dependientes de la volatilidad de los precios de las materias primas, como el pastoreo suplementado con concentrados o la incorporación de más forrajes (Casasús et al., 2011, 2012). Los efectos de estos tipos de raciones sobre el rendimiento de los animales y las características de la canal y de la carne han sido ampliamente estudiados. Así, por ejemplo, mientras que las raciones a base de concentrado permiten un ritmo de crecimiento más rápido, controlado y predecible (O'Kiely et al., 2011), el empleo de raciones unifeed a base de ensilado de maíz puede resultar más rentable aunque empeore el índice de conversión (Casasús et al., 2012).

El tipo de ración consumida por los animales afecta no sólo a su rendimiento, sino también a su bienestar. Así, el empleo de raciones a base de concentrados puede provocar descensos en el pH ruminal y el desarrollo de fenómenos de acidosis ruminal subaguda (Calsamiglia et al., 2012; González et al., 2012).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto que dos sistemas de alimentación diferentes, uno con pienso concentrado y paja a voluntad y otro con una ración unifeed a base de ensilado de maíz, pueden tener sobre el pH ruminal y el rendimiento productivo de terneros de raza Avileña-Negra Ibérica mantenidos en condiciones prácticas de explotación.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 14 animales de raza Avileña-Negra Ibérica (peso al inicio del cebo de  $270 \pm 22,6$  kg y  $7 \pm 0,5$  meses), distribuidos en dos grupos de 7 animales cada uno. Un grupo recibió pienso concentrado (grupo PIENSO) y el otro una ración unifeed a base de silo de maíz (grupo UNIFEED). Los animales fueron alojados en lotes de 20 animales en un cebadero comercial, y recibieron la correspondiente dieta a voluntad. El unifeed fue distribuido a los animales de una sola vez, a primera hora de la mañana, permitiendo restos. Los animales del grupo de pienso disponían de un comedero tolva con el alimento disponible las 24 h y paja a voluntad. Todos los animales disponían de agua fresca a voluntad.

El pH se midió de forma continua usando una sonda interna sin cables. El sistema consiste en una sonda de pH y temperatura (smaXtec® animal care sales GMBH, Graz, Austria), que recoge los valores de esos parámetros cada 10 minutos durante todo el periodo de medida. Cada sonda fue calibrada usando estándares de pH 4 y 7 como paso previo a su administración a los animales con ayuda de un aplicador, permaneciendo alojada en el retículo hasta el momento del sacrificio de los animales. Una vez recuperados en el matadero, los bolos eran lavados, desinfectados, recalibrados y, posteriormente, introducidos en el retículo de los siguientes animales. Los bolos se introdujeron en animales con un peso medio de 508 kg y una edad de 13 meses. En cada fase se introdujeron 2 bolos en animales del grupo PIENSO y 2 bolos en animales del grupo UNIFEED. Se llevaron a cabo un total de 4 fases. Los bolos permanecieron en cada animal durante los 18 días previos al sacrificio.

Los animales fueron sacrificados con un peso vivo medio de  $535 \pm 8,8$  kg. Se registraron los siguientes parámetros relacionados con el rendimiento productivo de los animales: peso

inicial de los animales, peso de salida al matadero, ganancia media diaria (GMD), peso de la canal y rendimiento comercial (peso canal/peso de salida al matadero).

Los datos relativos al rendimiento productivo de los animales se sometieron a un análisis de varianza de una vía, con la alimentación recibida como fuente de variación. Los datos de temperatura y pH se promediaron para cada día como máximo, mínimo y medio. Éstos fueron posteriormente analizados como medidas repetidas en el tiempo, seleccionándose la estructura de covarianza (autorregresiva de primer orden) en función del criterio Bayesiano de Schwarz y el de Akaike. En el análisis, bolo y fase fueron utilizados como efecto bloque; ración, día y su interacción fueron considerados como efectos fijos, y el animal dentro del tratamiento como sujeto. Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software estadístico SPSS 16.0 para Windows (IBM Corp., Nueva York, EE. UU.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados productivos de los animales. El tipo de dieta no dio lugar a cambios estadísticamente significativos ( $P>0,10$ ) en el peso de los animales o su edad al sacrificio, la ganancia media diaria durante el periodo de cebo, el peso de la canal ni el rendimiento comercial. Los rendimientos observados se encuentran dentro del rango de los esperados para la raza (Fernández-Perea y Alenda, 2004), aunque son ligeramente superiores a los publicados por Casasús et al. (2012) e inferiores a los observados por Moya et al. (2011), quienes emplearon animales de edades similares pero de pesos y razas distintas. La ausencia de diferencias en los parámetros productivos hace que ambas raciones puedan considerarse como adecuadas para cubrir las necesidades de los animales y mantener un adecuado ritmo de crecimiento. Moya et al. (2011) y Casasús et al. (2011, 2012) tampoco observaron cambios en el ritmo de crecimiento, el peso y el rendimiento a la canal al comparar una dieta concentrada con dietas unifeed. De acuerdo con estos autores, la ausencia de diferencias debidas al tipo de alimentación parece deberse a que el ensilado de maíz, pese a ser un forraje, aporta un elevado contenido energético, en comparación con otros forrajes (ensilado de pradera) o con pasto aprovechado a diente, que sí determinarían menores ritmos de crecimiento.

La Figura 1 muestra los valores medios, mínimos y máximos de pH y temperatura ruminal para cada uno de los grupos experimentales. Tanto el pH medio como el máximo diario tendieron a ser menores ( $P=0,06$ ) para los animales que consumieron la ración unifeed, sin que se observaran cambios significativos en el pH mínimo diario ( $P>0,10$ ). No se observaron cambios significativos entre grupos experimentales (aunque sí entre días) en los parámetros relacionados con la temperatura ( $P>0,10$ ). Los valores de pH observados estuvieron por encima de los señalados por otros autores para animales de similares características (Moya et al., 2011). Aunque, a priori podría esperarse obtener mayores valores de pH medio, máximo y mínimo en la ración UNIFEED (Moya et al., 2011), en nuestro estudio es este grupo el que tiende a presentar unos valores más bajos de pH medio y máximo. De acuerdo con Calsamiglia et al. (2012), estos datos muestran hasta que punto el manejo de la alimentación puede determinar los valores de pH del rumen y el riesgo de acidosis: los animales del grupo PIENSO tenían acceso a lo largo de todo el día a una tolva que les suministra pienso a voluntad, mientras que a los animales del grupo UNIFEED la comida se les distribuía a primera hora de la mañana y permanecía en el comedero disponible hasta el día siguiente, lo que pudo determinar diferencias en el patrón de ingestión de alimento y su apetecibilidad. La distribución del alimento en momentos más puntuales, aún con espacio suficiente en el comedero para todos los animales, da lugar a fenómenos de competencia entre animales por el acceso al mismo, reduciendo el número de comidas al día e incrementando la cantidad de alimento ingerida en cada comida, lo que da lugar a una desregulación de los mecanismos para mantener las condiciones ruminales (González et al., 2008; Schwartzkopf-Genswein et al., 2003).

El manejo de la alimentación puede resultar más determinante que la composición de la ración o las estrategias nutricionales sobre el pH ruminal y el consiguiente riesgo de acidosis.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Calsamiglia, S., Blanch, M., Ferret, A. & Moya, D. 2012. Anim. Feed Sci. Technol. 172: 42-50. • Casasús, I., Joy, M., Albertí, P., Ripoll, G. & Blanco, M. 2011. XIV Jornadas sobre

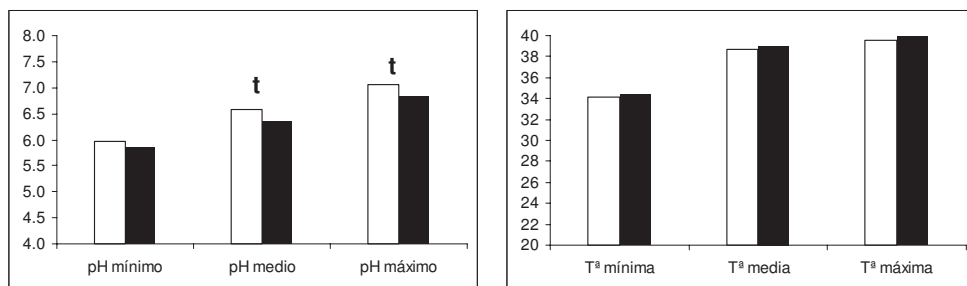
Producción Animal. AIDA. Zaragoza, pp.61-63. • Casasús, I., Ripoll, G. & Albertí, P. 2012. ITEA 108: 191-206. • Fernandez-Perea, M.T. & Alenda Jiménez, R. 2004. Livestock Prod. Sci. 89: 223-233. • González, L.A., Ferret, A., Manteca, X., Ruíz-de-la-Torre, J.L., Calsamiglia, S., Devant, M. & Bach, A. 2008. J. Anim. Sci. 86: 1446-1458. • González, L.A., Manteca, X., Calsamiglia, S., Schwartzkopf-Genswein, K.S. & Ferret, A. 2012. Anim. Feed Sci. Technol. 172: 66-79. • Moya, D., Mazzenga, A., Holtshausen, L., Cozzi, G., González, L.A., Calsamiglia, S., Gibb, D.G., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A. & Schwartzkopf-Genswein, K. 2011. J. Anim. Sci. 89: 520-530. O'Kiely, P. 2011. Irish J. Agric. Food Res. 50 (2): 189-207. • Schwartzkopf-Genswein, K.S., Beauchemin, K.A., Gibb, D.J., Crews, D.H., Hickman, D.D., Streeter, M. & McAllister, T.A. 2003. J. Anim. Sci. 81: E149-E158.

**Agradecimientos:** Financiado por Convenio de colaboración CO09-073 entre el INIA y el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León' (Consejería de Agricultura y Ganadería, Junta de Castilla y León). Asociación Española de la Raza Avileña-Negra Ibérica.

**Tabla 1.** Valores medios de peso y edad al sacrificio, ganancia media diaria, peso de la canal y el rendimiento comercial.

	Ración		e.e.d.	P
	Pienso	Unifeed		
Peso salida al matadero (kg)	533	537	18,2	n.s.
Edad al sacrificio (días)	405	431	35,0	n.s.
Ganancia media diaria durante el cebo (kg/día)	1,40	1,31	0,097	n.s.
Peso canal (kg)	289	298	10,9	n.s.
Rendimiento comercial (%)	54,3	55,4	0,68	n.s.

e.e.d.: error estándar de la diferencia. P=nivel de significación: ns=P>0,10; \*P<0,05.



**Figura 1.** Valores mínimos, medios y máximos de pH y temperatura ruminal para cada grupo: Piensó (□) y Unifeed (■). t=P<0.10 para el efecto del grupo.

### MAIZE SILAGE AND CONCENTRATE FOR FATTENING CATTLE ANIMAL PERFORMANCE AND RUMINAL pH AND TEMPERATURE

**ABSTRACT:** Two groups of seven Avileña-Negra Ibérica calves (270±22,6 kg and 7±0,5 months) received either concentrate from hoppers (PIENSO) or maize silage based unifeed from bunk feeder (UNIFEED). Each bull calf wore a wireless intraruminal pH and temperature probe for the last 19 days before slaughter. This probe recorded pH and temperature values every 10 min. Animals were slaughtered at 13 months of age (525±8,8 kg). Diet did not affect (P>0.10) final live weight, average daily gain, carcass weight or dressing percentage. Diet tended to affect (P<0.01) mean and minimum daily pH, PIENSO animals showing the greatest values. Maximum pH and temperature (mean, maximum and minimum) resulted unaffected by diet. Feed delivery may become more important than feed composition to determine ruminal pH and the associated risk of acidosis.

**Keywords:** rumen, pH, temperature, concentrate, maize silage

## **EFFECTO DEL TIPO DE RACIÓN SOBRE LOS NIVELES DE INGESTION, DIGESTIBILIDAD Y SINTESIS DE PROTEINA MICROBIANA EN TERNERAS SUJETAS A UN SISTEMA DE CEBO INTENSIVO**

Mora, J., Oliva, P., Cortés, X., Morazán, H., Seradj, A.R, Villalba, D., y Balcells, J.  
Departament de Producció Animal ETSEA, Universitat de Lleida. 25198 Lleida. España.  
E-mail: balcells@prodan.udl.cat

### **INTRODUCCIÓN**

En los países del área mediterránea la escasez de pastos y una demanda creciente de productos agropecuarios ha enfocado los sistemas de producción ganaderos a formas intensivas basadas, en el caso de los rumiantes, en el consumo de raciones concentradas. Ello ha permitido incrementar índices productivos y la eficiencia en los procesos de fermentación ruminal. No obstante, el incremento paulatino del coste de las materias primas y la pérdidas de productividad relacionadas con la retirada de los antibióticos utilizados convencionalmente como promotores de crecimiento (EU1986) han forzado al sector a buscar sistemas de producción basados en raciones alternativas que, manteniendo índices productivos, permita reducir los costes de alimentación. La sustitución de raciones basadas en concentrados (PP:pienso/paja) por raciones forrajeras (RCM) basadas en la tecnología "unifeed", comúnmente utilizadas en vacuno lechero, pueda resultar una alternativa eficaz. En el presente ensayo se pretendió analizar el impacto sobre la ingestión, digestibilidad y producción de nitrógeno microbiano (NM) en dos estrategias alimentarias: la convencional, basada en la utilización de raciones concentradas (PP) frente a una estrategia alternativa basada en la utilización de forrajes de alta calidad (RCM).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

En el presente ensayo se utilizaron 12 terneras (cruces Charoles x Limousine) con un peso vivo (PV) de  $362 \pm 25$  Kg al inicio de la experiencia. Las terneras, habían sido distribuidas al azar al inicio del cebo en dos lotes experimentales de 6 animales cada lote. Las terneras recibieron desde el inicio del cebo sendas raciones, la primera basada en pienso y paja de cereal administrados ambos "ad libitum", el pienso se formuló (g/100 g MS) en base a cereal (64,2) y turtós proteicos (25,8) con la siguiente composición (PB: 15,5%; GB: 6,2%; FB: 10,8%). La segunda ración se formuló en base a (g/100gMS) ensilado de raigrás (30), girasol (28) y *pastone* o ensilado de la mazorca completa de maíz en estado pastoso (42) con la siguiente composición (PB: 14,0%; GB: 7,15%; FB: 15,4%). Las terneras el ensayo se alojaron en dos corrales idénticos semi-cubiertos con suelo hormigonado y durante el experimento los animales dispusieron de cama caliente y agua limpia a voluntad. La digestibilidad de las raciones, nivel de consumo y el flujo duodenal se determinó mediante un sistema dual de marcadores, uno interno la lignina sulfúrico (Li-Sf: Van Soest et al., 1991) y otro externo Yterbio acetato (Yb). El Yb se administró durante los diez días previos al sacrificio (d0-d10), 7 días se destinaron a equilibrar el marcador y los restantes a la recolección de las muestras. Para la administración del Yb se utilizó una manga de manejo y un inmovilizador Texas, las dos dosis (0.8 g Yb/50 ml agua destilada) diarias (8:00 y 18:00 h) del marcador (2 mg/Kg PV) se administraron oralmente. El NM se cuantificó mediante dos marcadores, uno interno, las bases púricas (BP) y otro isotópico ( $^{15}\text{N}$ ) que fue administrado (d5-d10) en forma de  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  a una dosis de 2 mg  $^{15}\text{N}$  /g N ingerido. El cloruro de amonio fue diariamente mezclado y administrado con la dosis oral de Yterbio. El día de sacrificio (d10) los animales fueron embarcados en lotes (07:00), sacrificados (10:30) en una matadero comercial (INDELE S.A. Alcoletge, Segrià Lleida) procediéndose al muestreo del rumen y abomaso (11.00-11:30h). El contenido ruminal fue filtrado a través de dos capas de gasa y el efluente muestreado (4 ml) para determinar la concentración ruminal de amonio (Chaney and Marbach, 1962), ácidos grasos volátiles (AGV) (Jouany, 1982) el resto se destinó al aislamiento bacteriano por centrifugación diferencial (Martín-Orúe et al., 1998). La Li-Sf se analizó según Van Soest et al. (1991); Yb por espectrofotometría, el isótopo ( $^{15}\text{N}$ ) espectrofotometría de masas y las BP por HPLC (Balcells et al., 1992).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos obtenidos en el presente ensayo se complementan con los parámetros productivos y que corresponden al cebo de las terneras (Cortes et al., 2013) en un periodo (120 d) que engloba el presente ensayo. Las ingestiones registradas a partir de la administración del marcador (Tabla 2) no difieren del registro obtenido por lotes a partir de la diferencia del alimento suministrado y el residual, aunque fueron inferiores a las registradas durante la totalidad del periodo experimental (7 y 5,8 kg MS para PP y RCM, respectivamente). Los animales, pastencos de dehesa, entraron en la explotación con niveles mínimos de manipulación. Por ello, el manejo ligado a la administración del Yb les provocó niveles de estrés que alteraron su ingestión voluntaria. Por tanto, los valores obtenidos deben ser analizados con precaución. La utilización de raciones con una elevada carga de concentrados implica en el animal rumiante dos disfunciones digestivas importantes, la acidificación del ambiente ruminal (que pueda o no desembocar en un proceso de acidosis, Beauchemin and Buchanan-Smith, 1990) y la exigua eficiencia de síntesis de NM que se registra en dicho ambiente (ARC, 1984). El estudio de ambos procesos, especialmente en el segundo caso, implica intervenciones intensas en los animales experimentales (i.e canulaciones, administración marcadores) y por ello ciertas alteraciones en el comportamiento alimentario son inevitables e inherentes al proceso de estudio. En la Tabla 1 se presenta la concentración media de AGV y la de amoníaco, en general la concentración de AGV se situó en el rango descrito para esta especie (Koenig et al., 2003) aunque los niveles de amoníaco fueron en general elevados, superiores a los valores umbrales establecidos (50 mg/l; Satter and Slyter, 1974) para una óptima eficiencia en los procesos de síntesis. Los elevados niveles de amoníaco en el rumen permiten señalar un exceso de N degradable en ambas raciones y explicar la pérdida neta de N que se observa entre la ingestión y el flujo abomasal. El tipo de ración no modificó las concentraciones medias de amoníaco ni de AGV aunque la RCM indujo un perfil de AGV con una mayor proporción de acetato. El tipo de ración modificó también de forma significativa la ingestión y el proceso digestivo, así las terneras que ingirieron RCM mostraron un mayor nivel de ingestión (MS y MODI) y digestibilidad aparente (Tabla 2). La proporción de la MS digerida en el rumen fue superior en las terneras que recibieron RCM (0,84 vs 0,79 para RCM y PP) y en general dicha proporción fue superior al valor propuesto por ARC (1984) (0,65) pero en el rango descrito por los diferentes autores que han utilizado este tipo de raciones. RCM tendió a incrementar el flujo abomasal de N, mejoró la proporción y la producción de nitrógeno microbiano y su eficiencia de síntesis, con independencia del marcador microbiano (<sup>15</sup>N vs PB). Efectivamente los valores de eficiencia registrados con la ración concentrada fueron reducidos aunque mejoraron de forma significativa con el aporte de forraje.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA

- ARC (1984). The nutrient requirements of ruminant livestock Technical Review by an Agricultural Research Council Working Party Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK, ARC.
- Balcells, J., Guada, J. A., Peiro, J. M., and Parker, D. S. (1992). *J Chromatogr-Biomed* 575, 153-157.
- Beauchemin, K. A., and Buchanan-Smith, J. G. (1990). *J Dairy Sci* 73, 749-762.
- Chaney, A. L., and Marbach, E. P. (1962). *Clin Chem* 8, 130-132.
- Cortes, X., Mora, J., Oliva, P., Balcells, J., and D., V. (2013).. XV Jornadas de Producción Animal Zaragoza, Spain.
- Jouany, J. P. (1982). *Sci Aliments* 2, 131-144.
- Koenig, K. M., Beauchemin, K. A., and Rode, L. M. (2003). *J Anim Sci* 81, 1057-1067.
- Martín-Orúe, S. M., Balcells, J., Zakraoui, F., and Castrillo, C. (1998). *Animal Feed Science and Technology* 71, 269-282.
- Satter, L. D., and Slyter, L. L. (1974). *British Journal of Nutrition* 32, 199-208.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., and Lewis, B. A. (1991). *J Dairy Sci* 74, 3583-3597.

**Agradecimientos:** A.R, Seradj ha sido financiado por una Beca AGAUR (FI-DGR 2011)

**Tabla 1:** Concentración ruminal de N amoniacal ( $N-NH_3$ , mg/l) y ácidos grasos volátiles (AGV, Mol) junto a su proporción molar (mol/mol).

Item	Tipo Ración			Sig	Valor P
	PP	RCM	ESM		
<u>Concentración</u>					
$N-NH_3$ (mg/l)	124,1	95,6	22,10	ns	0,229
Ácidos Grasos Volátiles (Mmol)	130,5	126,5	0,281	ns	0,785
<u>Proporción molar AGV (Mol/Mol)</u>					
Ac, Acético	0,65	0,67	0,007	*	0,05
Ac, Propiónico	0,15	0,15	0,007	ns	0,26
Ac, Butírico	0,14	0,15	0,007	ns	0,23

**Tabla 2:** Ingestión y flujo de N en terneras alimentadas "ad libitum" con una ración convencional basada en pienso y paja o una ración completa mezclada (RCM) tipo "unifeed"

Item	Tipo Ración			Sig	P<
	PP	RCM	ESM		
<u>Ingestión (Kg/d)</u>					
Materia Seca	4,46	5,53	0,323	*	0,04
MO Digestible	3,62	4,60	0,281	*	0,039
<u>Digestibilidad (%)</u>					
Tracto Digestivo	0,87	0,91	0,011	*	0,036
Abomaso	0,67	0,77	0,043	ns	0,18
<u>Flujo de N (g/d)</u>					
Ingerido	102,7	123,4	7,38	T	0,08
Abomaso	41,6	57,3	4,74	*	0,047
<u>Microbiano</u>					
(1) $^{15}N$	21,79	38,41	3,562	*	0,010
(2) Bases Púricas	21,76	33,79	2,888	*	0,018
<u>Eficiencia Síntesis (g/Kg MODR)</u>					
$^{15}N$	19,33	24,45	1,13	*	0,012
Bases Púricas	19,24	22,02	1,82	ns	0,312

### EFFECT OF RATION ON INTAKES, DIGESTIBILITY AND MICROBIAL PROTEIN SYNTHESIS IN HEIFERS SUBJECTED TO INTENSIVE FEEDING SYSTEM

**ABSTRACT:** Twelve crossbred heifers (362 Kg LW; 12-13 month age) were distributed in two feeding groups. Animals were feed *ad libitum* in an intensive commercial system two experimental rations composed by concentrate plus straw (PP: cereal 0.64 and protein meals 0.26) and a total mixed ratio (RCM, ray grass 0.30 sunflower 0.28 and immature corncob silage "pastone" 0.42). Animals receive the experimental ration during all the fattening period (120 days) until they reach the breed/sex-target slaughtering weight. The last ten days of the feeding trial intake, digestibility and microbial production were determined using two flow (Ytterbium Acetate and Lignin sulphuric) and microbial ( $^{15}N$  and purine bases) markers. Digesta was sampled during the heifers sacrifice in the slaughter house. Heifers feed RCM ate more, DM was better digested on that group MN flow and efficiency was also improved significantly by roughage.

**Keywords:** Heifers, Digestibility, Rumen microbial Yield

## CARACTERIZACIÓN DE RACIONES PREPARTO DE OVINO LECHERO MANEJADO BAJO DISTINTOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN: RESULTADOS PRELIMINARES

Pineda-Quiroga C.<sup>1</sup>, Mandaluniz N.<sup>1</sup>, García-Rodríguez A.<sup>1</sup>, Marijuán S.<sup>2</sup>, Ruiz R.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz; <sup>2</sup>SERGal S. Coop.  
Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz. E-mail: [ruiz@neiker.net](mailto:ruiz@neiker.net)

### INTRODUCCIÓN

El sector de ovino lechero de la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV) se ha basado tradicionalmente en la utilización de la raza Latxa mediante sistemas de producción ligados a la explotación de los recursos forrajeros locales (Ruiz *et al.*, 2008b). Sin embargo, durante las últimas décadas hemos asistido a una cierta intensificación de los sistemas de alimentación, llegando incluso a la introducción de razas foráneas manejadas en sistemas de estabulación permanente (Ugarte *et al.*, 2001). El estudio de la calidad de las dietas empleadas a lo largo del ciclo productivo en los diferentes sistemas, en particular su valor nutritivo, digestibilidad, las cinéticas de degradación y las rutas metabólicas de fermentación, resultan clave para plantear estrategias encaminadas a mejorar su eficiencia y reducir las emisiones asociadas a la ganadería (Dijkstra *et al.*, 2005) y en definitiva contribuir a la sostenibilidad. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar las raciones preparto (últimos 20-30 días de gestación) de distintos sistemas de producción de ovino lechero de la CAPV.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los meses de noviembre y diciembre de 2012 se recogieron las muestras de los alimentos que constituían 10 raciones preparto (Tabla 1) en un conjunto de rebaños diferenciados por la raza de ovejas empleada, el tipo de forraje y el pienso empleado. Las muestras fueron secadas en estufa a 60°C/48 h, molidas a 1 mm y procesadas para la determinación de proteína bruta (PB), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) mediante tecnología NIRS. A partir del contenido en FND y FAD de los forrajes se calculó la digestibilidad (%) de la materia seca ( $DMS=88,9-(0,779 \times FAD)$ ), su ingestibilidad (% PV) ( $IMS=120/FND$ ) y el valor relativo forrajero ( $VRF=IMS \times DMS/1,29$ ), de acuerdo a las ecuaciones y sistema de clasificación propuestos por Calsamiglia (1997).

La cinética de degradación ruminal de las dietas se determinó mediante la técnica *in vitro* de producción de gas siguiendo el procedimiento descrito por García-Rodríguez *et al.* (2005). La producción de gas acumulada se ajustó al modelo exponencial propuesto por Krisnamoorthy *et al.* (1991). Las características nutricionales de las dietas (forrajes y concentrados) se analizaron mediante estadística descriptiva y los parámetros del ajuste de la producción acumulada de gas se analizaron mediante un análisis de varianza (SAS, 2003). Se utilizó un contraste ortogonal de Tukey para la separación de medias.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general se observa que las dietas preparto están compuestas principalmente por forraje (entre 64-80%), salvo en el caso de una de las explotaciones intensivas de raza Assaf. El contenido medio de las distintas dietas fue de 14,2±1,5% de PB, 37,2±7,2% de FND y 24,2±4,5% de FAD. En el caso de la PB, todas las dietas cubrían el nivel de proteína mínimo necesario para el periodo de gestación (11,7% de acuerdo a Ocak *et al.*, 2005). Mientras que en las explotaciones de Assaf el aporte de proteína de la dieta procede fundamentalmente del pienso, puesto que el forraje empleado era paja, el papel de los forrajes en este sentido es más relevante en el resto de explotaciones de raza Latxa.

Teniendo en cuenta el contenido en fibra de los forrajes, la paja ofrecería bajos valores de ingestibilidad ( $IMS=1,78\pm0,2\%PV$ ) y digestibilidad ( $DMS=54,8\pm4,8\%$ ). El resto de forrajes, en cambio, presentaron unos valores aceptables ( $IMS=2,3\pm0,5\%PV$  y  $DMS=62,7\pm5,2\%$ ) y un valor forrajero medio ( $VRF=113,4\pm31,1$ ) (Tabla 1). Como ya se ha puesto de manifiesto en otras ocasiones (Ruiz *et al.*, 2008a) existe una gran variabilidad en la calidad del forraje

empleado en las explotaciones (origen, composición botánica, fenología-momento de corte, forma de conservación, etc.). En este sentido, a finales de gestación las necesidades nutricionales de los animales aumentan mientras que la capacidad de ingestión tiende a reducirse, por lo que las dietas con alto contenido en fibra puedan comprometer la capacidad de ingestión así como la disponibilidad de nutrientes para las ovejas (INRA, 2007). Si consideramos el VRF de los forrajes empleados, a excepción de la paja, nos encontramos con forrajes de primera y segunda calidad (VRF=122,7±26,8), de acuerdo a la clasificación descrita por Calsamiglia (1997), lo que indica que los ganaderos tienden a cuidar la calidad de los mismos para alimentar a sus rebaños en el periodo preparto. Respecto a los parámetros resultantes del ajuste de producción de gas, únicamente se encontraron diferencias estadísticas en la cinética de producción de gas (c), siendo significativamente superior para la dieta 10 con respecto a las dietas 2, 4 y 9, indicando que existe una mayor velocidad de fermentación y de degradación por unidad de tiempo en esta dieta. Este rebaño empleó como fuente de forraje heno de alfalfa, mientras que el resto de rebaños emplearon heno de pradera (principalmente compuesto por gramíneas) o paja. Para una mejor interpretación de los resultados obtenidos, se tiene previsto ampliar el número de dietas y rebaños monitorizados, e incluir elementos relacionados con la formulación de los piensos y las cantidades administradas. Además, se van a analizar las dietas proporcionadas durante la fase de lactación, incorporando también las emisiones de metano y los ácidos grasos volátiles tanto de las dietas como de las materias primas. Como conclusión, se observa una gran variabilidad en las características de las dietas suministradas al final de la gestación en ovino lechero, si bien en los rebaños de raza Latxa se trata de dietas forrajeras basadas en forrajes de primera y segunda calidad (Calsamiglia, 1997).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Calsamiglia S., 1997. XIII Curso de especialización FEDNA.
- Dijkstra J., Forbes J.M., France J., 2005. Second Ed. CABI, Cambridge.
- García-Rodríguez A., Mandaluniz N., Flores G. Oregui L.M., 2005. *Animal Feed Sci. and Tech.*, 123-124:267-276.
- INRA, 2007. *Alimentation des bovins, ovins et caprins: besoins des animaux, valeurs des aliments.* 307 pp.
- Krisnamoorthy, U., Soller, H., Steingass, H., Menke, K.H., 1991. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 65, 28-35.
- Ocak N., Cam M.A., Kuran M., 2005. *Small Ruminant Research*, 56(1-3): 89-94.
- Ruiz R., Alonso A., Mas C., Marijuán S., Zuriarrain I., Borja J. M., Mas C., Zabala P., Ortuzar J. M., 2008a. *Sustrai: revista agropesquera*, 86: 68-71.
- Ruiz R., Bernués A., García-Martínez A., Oregui L. y Olaizola A., 2008b. En: *Oportunidades y Retos para los Sistemas Campesinos de Rumiantes en Latinoamérica: Manejo de Recursos, Seguridad Alimentaria, Calidad y Acceso a Mercados*, pp. 77-103. Toluca, México.
- Ugarte E., Ruiz R., Gabiña D., Beltrán de Heredia I., 2001. *Liv. Prod. Sci.*, 71:3-10.

**Agradecimientos:** la presente comunicación se ha realizado en el marco del proyecto "RTA-2011-00133-C02--01" financiado por el INIA. Los autores quieren agradecer a los pastores que han colaborado en el estudio.

## CHARACTERIZATION OF PRELAMING FEED RATIOS OF DAIRY SHEEP MANAGED UNDER DIFFERENT PRODUCTION SYSTEMS: PRELIMINARY RESULTS

### ABSTRACT:

The dairy sheep sector in the Basque Country (BC) has been traditionally based on the use of breed Latxa through pasture based production systems linked to the exploitation of local feed resources. However, there has been a certain intensification of feeding practices during these last years, even with the introduction of higher productive foreign breeds managed through permanent indoors conditions. The study of the quality of the diets employed throughout the production cycle in different systems, in particular their nutritional value, digestibility, the kinetics of degradation and fermentation metabolic pathways, are critical to improve their efficiency and reduce the emissions associated with livestock. The objective of this study was to characterize the feed rations provided at the end of pregnancy in different dairy sheep production systems existing in the BC.

Keywords: dairy sheep, feeding, production systems



**Tabla 1.** Características nutricionales de las dietas estudiadas (% MS, MO, PB, GB, FND y FAD) y promedios de los parámetros del ajuste de producción de gas (A y c).

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA DIETA	DIETAS										EEM	p-Valor
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Raza / sistema ovino	Assaf 1	Assaf 1	Latxa 1	Latxa 1	Latxa 2	Latxa 2	Latxa 3	Latxa 3	Latxa 4	Latxa 4		
% pienso / forraje	67 / 33	32 / 68	27 / 73	25 / 75	28 / 72	24 / 76	29 / 71	36 / 64	20 / 80	31 / 69		
Origen forraje	Paja	Paja	Heno pradera	Heno pradera	Heno pradera	Heno pradera	Heno pradera	Heno pradera	Heno pradera	Heno alfalfa		
PB pienso / forraje	14,6/7,5	19,8/8,1	17,7/13,9	11,5/13,8	15,7/21,3	11,8/15,5	12,4/16,2	12,4/16,6	17,7/14,8	17,7/15,5		
Ingestibilidad del forraje (%PV)	1,64	1,93	2,31	2,12	2,36	1,93	2,55	2,68	2,19	3,33		
Digestibilidad del forraje (%)	51,45	58,23	62,79	62,87	67,71	60,67	66,75	66,77	61,76	68,22		
VRF del forraje	65,30	87,04	112,35	103,10	123,90	90,71	132,15	138,80	104,65	175,90		
<b>DIETA (% MS)</b>												
Materia seca (MS)	94,1	92,8	86,7	91,0	74,9	64,3	90,0	81,9	88,8	90,4		
Materia orgánica (MO)	87,1	85,7	78,6	82,8	68,5	61,7	89,1	84,4	83,7	85,2		
Proteína bruta (PB)	12,7	12,2	15,4	13,4	14,6	14,3	16,8	16,8	14,4	14,7		
Grasa bruta (GB)	2,3	1,0	0,7	1,1	2,1	0,4	0,9	1,2	0,9	1,2		
Fibra neutro detergente (FND)	24,0	42,5	37,8	42,5	36,0	47,5	33,3	29,5	44,0	35,3		
Fibra ácido detergente (FAD)	15,7	26,8	24,4	25,1	20,2	27,7	28,2	18,1	27,9	27,6		
<b>AJUSTES DEL MODELO</b>												
A	260,3	277,6	261,9	239,6	245,8	233,9	239,8	257,0	235,3	234,7		
C	0,037 <sup>ab</sup>	0,032 <sup>b</sup>	0,038 <sup>ab</sup>	0,036 <sup>b</sup>	0,037 <sup>ab</sup>	0,035 <sup>ab</sup>	0,036 <sup>ab</sup>	0,037 <sup>ab</sup>	0,031 <sup>b</sup>	0,046 <sup>a</sup>		

Assaf 1 : Sistema de explotación intensivo; Latxa1 : Explotación de latxa convencional; Latxa 2: explotación que no emplea soja como fuente de proteína; Latxa 3: explotación convencional/unifeed; Latxa 4: explotación con certificado de producción en ecológico.

F/C: proporción de forraje (F) y concentrado (C- pienso preparto) de la ración.

EEM: Error Estándar de la Media

A: Producción potencial de gas (ml/g MO)

c: Cinética de producción de gas (h<sup>-1</sup>)

## UTILIZACIÓN DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS PARA MEJORAR LA DIGESTIÓN DE FORRAJES TROPICALES. I. INFLUENCIA DEL MÉTODO DE APLICACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO* Y LA COMPOSICIÓN QUÍMICA

Díaz, A.<sup>1</sup>, M.J. Ranilla<sup>1,2</sup>, C. Saro<sup>1</sup>, L.A. Giraldo<sup>3</sup> y M.D. Carro<sup>4</sup>\*

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal, Universidad de León. 24071 León, España

<sup>2</sup> IGM (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Calle 59A No 63-20, Autopista Norte. Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Departamento de Producción Animal, E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España

\* [mariadolores.carro@upm.es](mailto:mariadolores.carro@upm.es)

### INTRODUCCIÓN

En muchos países tropicales los sistemas productivos de animales rumiantes se basan en una amplia utilización de recursos forrajeros. Sin embargo, estos recursos suelen tener una baja calidad, por lo que cualquier mejora de su valor nutritivo tendrá una repercusión positiva en la productividad de los animales. En los últimos años se han realizado numerosos estudios para evaluar diferentes enzimas fibrolíticas como aditivos para mejorar el valor nutritivo de forrajes, pero la mayoría de ellos han utilizado forrajes de elevada calidad y apenas existen estudios con forrajes de baja calidad. Por otra parte, los resultados han sido muy variables, ya que la efectividad de las enzimas se ve afectada por numerosos factores, siendo el tipo de forraje y el método de aplicación de las enzimas dos de los más importantes (Giraldo *et al.*, 2008). El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de tres enzimas fibrolíticas exógenas en la fermentación ruminal *in vitro* de tres forrajes tropicales cuando las enzimas se aplicaron 24 h antes o en el momento de la incubación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando un sistema de cultivos discontinuos de microorganismos ruminales y muestras de tres forrajes tropicales: *Pennisetum clandestinum*, *Dichanthium aristatum Benth* y *Acacia mangium*. El contenido (g/kg materia seca (MS)) en proteína bruta, fibra neutro-detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina en los forrajes fue 186, 630, 264 y 5,8 en *P. clandestinum*, 39, 736, 400 y 34 en *D. aristatum Benth*, y 106, 488, 318 y 157 en *A. mangium*. Se pesaron 500 mg de MS de los forrajes en botellas de 120 mL a las que se añadieron 50 mL de una mezcla (1:4) de líquido ruminal y medio de cultivo para microorganismos anaerobios. Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de cuatro ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de alfalfa de calidad media *ad libitum*. Se analizaron los efectos de siete tratamientos enzimáticos: forrajes sin tratar (control; **CON**), tratamiento con una celulasa producida por *Trichoderma longibrachiatum* aplicada inmediatamente antes de la incubación *in vitro* (**CELO**) o 24 antes (**CEL24**), tratamiento con xilanas de microorganismos ruminales aplicada de las dos formas descritas (**XILO** y **XIL24**) y una mezcla a partes iguales de los dos tratamientos anteriores (**MEZO** y **MEZ24**). Las enzimas se disolvieron en una solución tampón de fosfato sódico 1 mM (pH=6,5) y se dosificaron directamente sobre los forrajes dentro de las botellas a una dosis de 20 unidades internacionales por g de forraje. Las botellas se incubaron a 39°C y se midió el gas a las 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96 y 120 h, dejando salir el gas después de cada medición. Tras 120 h de incubación, el contenido de las botellas se filtró a través de crisoles provistos de una placa porosa y se determinó la desaparición de materia orgánica (MO). Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo exponencial:  $y = A (1 - e^{-c(t-lag)})$ , en el que *A* representa la producción potencial de gas y *c* es el ritmo de producción de gas. A partir de estos datos se calculó el ritmo medio de producción de gas como  $RMPG = A c / [2 (\ln 2 + c lag)]$  y la degradabilidad efectiva de la MO (DEMO) para un ritmo de paso a través del retículo-rumen de 0,035 h<sup>-1</sup>.

Para estudiar el efecto del pre-tratamiento con enzimas sobre la composición química de los forrajes se pesaron 250 mg de muestra en bolsas de poliéster (Ankom Corp #57; 50 x 40 mm; 25 ± 10 µm poro) previamente pesadas, a las que se añadió 1 mL de buffer sin enzima (**CON**) o con 5 unidades enzimáticas de las enzimas evaluadas. Las bolsas se sellaron, se dejaron a temperatura ambiente (21-23°C) durante 24 h y a continuación se analizó el

contenido en FND y FAD. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza y cuando se detectó un efecto significativo ( $P < 0,05$ ) del tratamiento experimental las diferencias entre las medias se analizaron mediante el test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para realizar este estudio se eligió la técnica de la producción de gas porque se ha demostrado que la cantidad de gas producida en las incubaciones *in vitro* es una medida indirecta de la degradación de los sustratos (Menke y Steingass, 1998). Como se puede observar en la Tabla 1, ninguno de los tratamientos enzimáticos afectó ( $P > 0,05$ ) a la producción potencial de gas de *P. clandestinum*, pero todos, excepto **XILO**, aumentaron ( $P < 0,05$ ) los valores de *c* y RMPG. Los valores de estos parámetros fueron mayores ( $P < 0,05$ ) para **CEL24** y **MEZ24** que para los tratamientos **CELO** y **MEZO**, indicando una mayor eficacia de las enzimas cuando se permite un período de contacto con el forraje antes de que se inicie la degradación por los microorganismos ruminales. De acuerdo con estos resultados, **CEL24** y **MEZ24** aumentaron ( $P < 0,05$ ) la DEMO de *P. clandestinum* comparados con **CELO** y **MEZO**, respectivamente.

**Tabla 1.** Efecto de diferentes tratamientos enzimáticos en la producción potencial de gas (A; mL/500 mg materia seca), ritmo de producción de gas (c; %/h), ritmo medio de producción de gas (RMPG; mL/h) y degradabilidad efectiva de la materia orgánica (DEMO; %) de forrajes tropicales incubados *in vitro* con líquido ruminal

Forraje y parámetro	Tratamiento enzimático <sup>1</sup>							eem <sup>2</sup>	P =
	CON	CELO	CEL24	XILO	XIL24	MEZO	MEZ24		
<i>P. clandestinum</i>									
A	149 <sup>ab</sup>	155 <sup>b</sup>	155 <sup>b</sup>	146 <sup>a</sup>	150 <sup>ab</sup>	152 <sup>b</sup>	155 <sup>b</sup>	1,8	0,027
c	0,028 <sup>a</sup>	0,030 <sup>b</sup>	0,034 <sup>c</sup>	0,028 <sup>a</sup>	0,029 <sup>b</sup>	0,030 <sup>b</sup>	0,033 <sup>c</sup>	0,0005	<0,001
RMPG	2,06 <sup>a</sup>	2,36 <sup>b</sup>	2,62 <sup>c</sup>	2,02 <sup>a</sup>	2,22 <sup>b</sup>	2,26 <sup>b</sup>	2,54 <sup>c</sup>	0,05	<0,001
DEMO	33,1 <sup>a</sup>	34,7 <sup>ab</sup>	37,4 <sup>c</sup>	33,0 <sup>a</sup>	34,7 <sup>ab</sup>	33,7 <sup>a</sup>	36,2 <sup>bc</sup>	0,55	<0,001
<i>D. aristatum Benth</i>									
A	138 <sup>b</sup>	144 <sup>c</sup>	133 <sup>a</sup>	139 <sup>b</sup>	130 <sup>a</sup>	140 <sup>b</sup>	132 <sup>a</sup>	1,4	<0,001
c	0,025 <sup>b</sup>	0,029 <sup>c</sup>	0,034 <sup>d</sup>	0,023 <sup>a</sup>	0,025 <sup>ab</sup>	0,027 <sup>c</sup>	0,033 <sup>d</sup>	0,0006	<0,001
RMPG	1,75 <sup>a</sup>	2,09 <sup>c</sup>	2,28 <sup>d</sup>	1,63 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,90 <sup>b</sup>	2,17 <sup>cd</sup>	0,05	<0,001
DEMO	24,5 <sup>ab</sup>	26,1 <sup>b</sup>	28,5 <sup>c</sup>	23,3 <sup>a</sup>	23,6 <sup>a</sup>	25,5 <sup>b</sup>	28,7 <sup>c</sup>	0,50	<0,001
<i>A. mangium</i>									
A	42,8 <sup>ab</sup>	50,2 <sup>cd</sup>	52,7 <sup>d</sup>	40,8 <sup>a</sup>	44,4 <sup>b</sup>	47,3 <sup>c</sup>	49,2 <sup>c</sup>	0,91	<0,001
c	0,048 <sup>a</sup>	0,052 <sup>bc</sup>	0,060 <sup>d</sup>	0,047 <sup>a</sup>	0,054 <sup>c</sup>	0,049 <sup>ab</sup>	0,058 <sup>d</sup>	0,0009	<0,001
RMPG	1,03 <sup>a</sup>	1,31 <sup>bc</sup>	1,61 <sup>d</sup>	0,97 <sup>a</sup>	1,21 <sup>b</sup>	1,18 <sup>b</sup>	1,44 <sup>c</sup>	0,05	<0,001
DEMO	18,2	18,9	20,4	17,9	19,4	18,1	20,4	0,69	0,108

<sup>1</sup> **CON**: control (sin tratamiento); **CEL**: celulasa de *Trichoderma longibrachiatum*; **XIL**: xilanasa de microorganismos ruminales; **MEZ**: mezcla 1:1 de CEL y XIL. Las enzimas se aplicaron inmediatamente antes de la incubación (0) o 24 horas antes de la misma (24).

<sup>2</sup> error estándar de la media

<sup>a, b, c, d</sup> en la misma fila, los valores con diferente letra difieren ( $P < 0,05$ )

Cuando se utilizó *D. aristatum Benth* como sustrato, no se observó ningún efecto positivo de **XILO** y **XIL24**, pero **CELO**, **CEL24** y **MEZ24** aumentaron ( $P < 0,05$ ) los valores de *c*, RMPG y DEMO. De nuevo se observó que los efectos positivos de CEL y MEZ sobre *c*, RMPG y la DEMO eran mayores ( $P < 0,05$ ) cuando las enzimas se aplicaban a los forrajes 24 horas antes de la incubación que cuando se administraban inmediatamente antes de la misma. El tratamiento de *A. mangium* con **CELO**, **CEL24** y **MEZ24** aumentó ( $P < 0,05$ ) la producción potencial y los ritmos de producción de gas (*c* y RMPG), pero no se observaron efectos en la DEMO. El tratamiento **XILO** no ejerció efecto ( $P > 0,05$ ) sobre la degradación de *A. mangium*,

pero **XIL24** y **MEZ0** aumentaron ( $P < 0,05$ ) los valores de  $c$  y RMPG, siendo en general más acusados los efectos de **MEZ24**.

El hecho de que los efectos de las enzimas CEL y MEZ fuesen más acusados cuando se aplicaron a los forrajes 24 h antes de la incubación podría deberse parcialmente a su acción hidrolítica sobre los componentes de la pared celular de los mismos. Como se observa en la Tabla 2, **CEL24** y **MEZ24** produjeron una reducción del contenido en FND de *P. clandestinum* y *D. aristatum Benth*, pero no afectaron ( $P < 0,05$ ) a la composición de *A. mangium*, lo que estaría de acuerdo con los menores efectos de las enzimas observados para este forraje.

**Tabla 2.** Efecto del tratamiento de forrajes tropicales con diferentes enzimas durante 24 horas en su contenido (g/kg materia seca) en fibra neutro-detergente (FND) y fibra ácido-detergente (FAD)

Forraje		Tratamiento enzimático <sup>1</sup>				eem <sup>2</sup>	P =
		CON	CEL24	XIL24	MEZ24		
<i>P. clandestinum</i>	FND	630 <sup>c</sup>	613 <sup>a</sup>	625 <sup>bc</sup>	619 <sup>ab</sup>	3,3	0.012
	FAD	264 <sup>b</sup>	258 <sup>a</sup>	263 <sup>b</sup>	260 <sup>ab</sup>	1,3	0.024
<i>D. aristatum Benth</i>	FND	736 <sup>b</sup>	710 <sup>a</sup>	738 <sup>b</sup>	712 <sup>a</sup>	6,0	0.010
	FAD	400	394	398	390	3,7	0.250
<i>A. mangium</i>	FND	489	493	491	494	3,1	0.731
	FAD	318	314	319	320	4,0	0.768

<sup>1</sup> CON: control (sin tratamiento); **CEL24**: celulasa de *Trichoderma longibrachiatum*; **XIL24**: xilanasa de microorganismos ruminales; **MEZ24**: mezcla 1:1 de CEL24 y XIL24.

<sup>2</sup> error estándar de la media

<sup>a, b, c</sup> en la misma fila, los valores con diferente letra difieren ( $P < 0,05$ )

En las condiciones del presente estudio el pre-tratamiento con enzimas 24 h antes de la incubación estimuló la degradación *in vitro* de los forrajes en mayor medida que la aplicación de las enzimas en el momento de la incubación. Este efecto podría deberse en parte a la reducción del contenido en FND observado en dos de los tres forrajes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Menke, K.H., 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.
- Giraldo, L.A., M.L. Tejido, M.J. Ranilla, M.D. Carro. 2008. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on *in vitro* ruminal fermentation of substrates with different forage:concentrate ratios. Anim. Feed Sci. Technol. 141: 306-325

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte de los Proyectos AGL2008-04707-C02-02, financiado por el MICINN y el PCI-Iberoamérica A/4951/06, financiado por MAE-AECID.

## USE OF FIBROLYTIC ENZYMES TO IMPROVE DIGESTION OF TROPICAL FORAGES: INFLUENCE OF APPLICATION METHOD ON CHEMICAL COMPOSITION AND *IN VITRO* GAS PRODUCTION

**ABSTRACT:** The objective of this study was to investigate the effects of three enzymes (cellulase, xylanase and a 1:1 mixture of both enzymes), applied either immediately before incubation or 24 h before, on the *in vitro* gas production of three tropical forages. In general, xylanase showed little or no effects ( $P > 0.05$ ) on *in vitro* gas production for the three forages. Both cellulase and the mixture increased ( $P < 0.05$ ) the gas production rate and effective degradability of organic matter when they were applied to forages 24 h before incubation, but the effects were less marked or even disappeared when were applied immediately before incubation. Neutral detergent fiber content of two forages decreased ( $P < 0.05$ ) after 24 h pre-treatment with cellulase. The results indicate that 24 h pre-treatment of forages with cellulase and the mixture increased their efficacy, but results were affected by the incubated forage.

**Keywords:** cellulase, xylanase, fibre, *in vitro* gas production

## **EFFECTO DEL AGUA ELECTROLIZADA SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* UTILIZANDO INÓCULO DE ANIMALES RECIBIENDO FORRAJE**

Bodas, R.<sup>1</sup>, Bartolomé, D.J.<sup>1</sup>, Taberero de Paz, M.J.<sup>1</sup>, Posado, R.<sup>1</sup>, Tejido, M.L.<sup>2</sup>, Martín-Diana, A.B.<sup>1</sup>, Rodríguez, L.A.<sup>1</sup>, Olmedo, S.<sup>1</sup>, García, J.J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico Agrario - Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León. Finca Zamadueñas. Ctra. Burgos, km 119. 47071 Valladolid (Spain). Correo e.: bodrodra@itacyl.es

<sup>2</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). Finca Marzanas. 24346 Grulleros, León

### **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años cada vez son más numerosos los trabajos en los que se valora la aplicación del agua electrolizada en el ámbito de la producción animal. Así, por ejemplo, Abol-Enein et al. (2009) utilizaron agua electrolizada para corregir la acidosis metabólica inducida a perros y ratas, observando una recuperación de los valores fisiológicos de bicarbonato y presión parcial de CO<sub>2</sub> en sangre. En este sentido, se ha señalado que un 3% de agua electrolizada en el agua de bebida puede ocasionar un incremento de los valores de pCO<sub>2</sub> y bicarbonato sanguíneo en ganado vacuno de leche (Bartolomé et al., 2011c).

Por otra parte, el agua electrolizada tiene demostradas propiedades desinfectantes (Kubota et al., 2009; Yahagi et al., 2008). Así, un 3% de agua electrolizada en el agua de bebida habitual de vacas en lactación redonda en una mayor calidad higiénico-sanitaria del mismo agua, disminuyendo considerablemente los recuentos de bacterias en los bebederos, pudiendo repercutir positivamente sobre la calidad microbiológica de la leche y la salud de la ubre (Bartolomé et al., 2011b), si bien el nivel óptimo de concentración puede variar en función de la calidad microbiológica del agua de partida.

Aunque se han realizado diferentes estudios sobre el uso del agua electrolizada, han sido pocos los enfocados a nivel nutricional y no se ha encontrado información referente al mecanismo que podría explicar los efectos observados sobre la productividad de los animales. Sin embargo, el interés por la aplicación de este tipo de agua ha llevado al desarrollo de dos patentes en relación con los efectos del agua electrolizada en rumiantes. Los efectos observados dependerán, lógicamente, del tipo de agua electrolizada utilizada. En este sentido, la electrolisis diafrágica da lugar al menos a dos tipos de agua electrolizada: ácida u oxidante (procedente del ánodo y rica en ácido hipocloroso) y otra básica o reducida (procedente del cátodo y rica en hidróxido sódico). El agua electrolizada ácida suele utilizarse diluida, con un pH cercano a la neutralidad, y ambos tipos de agua pueden combinarse para dar lugar a agua electrolizada neutra. Además de con el tipo de agua empleada, los efectos pueden variar en función de la dieta que consuman los animales.

El objetivo de este trabajo es estudiar los efectos del agua electrolizada (ácida y básica), sustituyendo un 25 y 50% del agua destilada del medio de cultivo, sobre la fermentación ruminal *in vitro* de animales alimentados a base de forraje.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizó agua electrolizada básica (Catolyte, pH 11,5) y ácida diluida (Anolyte, pH 7,0) proporcionadas por el equipo de producción instalado en la granja de la Escuela de Capacitación Agraria de Palencia (Finca Viñalta, Junta de Castilla y León).

Como inóculo se utilizó líquido ruminal de 3 ovejas fistuladas en el rumen pertenecientes al rebaño del Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), que estaban recibiendo una ración a base de heno de alfalfa. Se incubaron dos sustratos: alfalfa y pienso concentrado (compuesto por 49% cebada, 21% maíz, 22% torta de soja, 5% paja de cebada, 3% suplemento mineral). La prueba de producción de gas (Theodorou et al., 1994) se llevó a cabo en viales de 120 ml a los cuales se añadieron 50 ml de líquido ruminal diluido (1:4) (Menke y Steingass, 1988).

Para evaluar el efecto del agua electrolizada, se sustituyó el agua destilada del medio (Menke y Steingass, 1988) por diferentes proporciones de agua electrolizada: Control (sólo agua destilada), AN25 (25% Anolyte), AN50 (50% Anolyte), CA25 (25% Catolyte), CA50 (50% Catolyte). Las incubaciones se llevaron a cabo en 3 días diferentes y cada día se incubaron 22 viales, correspondientes a 2 dietas × [2 tipos de agua electrolizada (Anolyte o Catolyte) × 2 dosis (25 y 50%) + 1 control (medio sin modificar)] × 2 réplicas + 4 blancos.

Una vez llenas, las botellas se introdujeron en un incubador durante 24 h, pasadas las cuales se midió la producción de gas (López et al., 2007) y se abrieron los viales para medir el pH y tomar muestras para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV, Ottenstein y Bartley, 1971).

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza factorial, con el tipo de agua electrolizada y la ración incubada como fuentes de variación, considerando la tanda de incubación como factor bloque. Los datos se procesaron utilizando el modelo lineal general y las medias se compararon ( $P < 0,05$ ) utilizando el test DMS del paquete estadístico SPSS (v 16.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores medios de producción de gas, pH, producción total de AGV y porcentaje de los principales AGV (acético, propiónico, butírico). Como puede apreciarse, la utilización de forraje como sustrato disminuyó ( $P < 0,001$ ) la producción de gas y de AGV y la proporción de ácido butírico, mientras que aumentó la proporción de acético ( $P < 0,001$ ). Por otra parte, la sustitución del agua destilada por Anolyte produjo una disminución significativa en la producción de gas ( $P < 0,01$ ), mientras que el descenso provocado por Catolyte sólo es evidente cuando se emplea la dosis más elevada. El pH final tras 24 h de incubación disminuyó cuando se sustituyó un 50% del agua destilada del medio por Anolyte ( $P < 0,01$ ); sin embargo, la producción de AGV no se vio modificada, mientras que la proporción de acético aumentó ( $P < 0,05$ ) con el porcentaje de sustitución del 50%, independientemente del tipo de agua electrolizada añadida. Por su parte, la proporción de ácido butírico disminuyó en respuesta a la adición de dosis altas de cualquiera de los dos tipos de agua testada ( $P < 0,05$ ).

El medio de cultivo está basado en la mezcla de sustancias buffer fuertes, de tal manera que modificar el pH es realmente complicado. La disminución observada en los valores de pH final debido al Anolyte, acompañados de un descenso en la producción de gas, estarían relacionados con la disminución en los valores de pH iniciales observados en el medio de cultivo previamente a la mezcla con el inóculo ruminal correspondiente (8,02, 7,84, 7,73, 8,10 y 8,26 para 0, AN25, AN50, CA25, CA50, respectivamente). Por otra parte, el elevado contenido en cloro de Anolyte ( $>300$  ppm;  $<1$  ppm en Catolyte), pudo ejercer un efecto bactericida (ampliamente demostrado en estudios relacionados con la limpieza y la desinfección: Bartolomé et al., 2011a; Kubota et al., 2009; Yahagi et al., 2008), que si bien se tradujo en una disminución en la producción de gas, no dio lugar a un descenso en los valores de producción total de AGV. Sin embargo, el cambio en las proporciones de ácido acético sugiere que el Anolyte sí podría ejercer un efecto inhibitorio selectivo sobre determinados microorganismos ruminales.

El empleo de dosis elevadas de agua electrolizada (básica o ligeramente ácida) afecta a la fermentación ruminal *in vitro* reduciendo la producción de gas y aumentando la proporción de ácido acético. Además, el agua electrolizada ligeramente ácida (Anolyte) tiende a reducir el pH del medio ruminal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abol-Enein, H., Gheith, O.A., Barakat, N., Nour, E. & Sharaf, A.E. 2009. Ther. Apher. Dial., 13: 220-224. • Bartolomé, D., Posado, R., Rodríguez, L., Bueno, F., Olmedo, S., García, J.J. & Martín-Diana, A.B. 2011a. AIDA, XIV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 13-15. • Bartolomé, D., Posado, R., Rodríguez, L., Bueno, F., Olmedo, S., García, J.J. & Martín-Diana, A.B. 2011b. AIDA, XIV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 16-18. • Bartolomé, D., Posado, R., Olmedo, S., García, J.J. & Martín-Diana, A.B. 2011c. AIDA, XIV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 19-21. • Kubota, A., Nose, K., Yonekura, T., Kosumi, T., Yamauchi, K. & Oyanagi, H. 2009. Surg. Today, 39 (6): 514-517. • López, S., Dhanoa, M.S., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E. & France, J. 2007. Anim. Feed Sci. Technol. 135: 139-156. • Menke, K.H. & Steingass, H., 1988. Anim. Res. Develop. 28: 7-55. • Ottenstein, D.M. & Bartley, D.A. 1971. Anal. Chem. 43, 952-955. • Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J. 1994. Anim. Feed Sci. Technol. 48: 185-197. • Weatherburn, M.W. 1967. Anal. Chem. 39: 971-974. • Yahagi, N., Kono, M., Kitahara, M., Ohmura, A., Sumita, O., Hashimoto, T., Hori, K., Ning-Juan, C., Woodson, P., Kubota, S., Murakami, A. & Takamoto, S. 2008. Artif. Organs: 24: 984-987.

**Agradecimientos:** Proyecto financiado por el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Consejería de Agricultura y Ganadería, Junta de Castilla y León) (Proyecto 2010-1284) y Fondos FEDER.

**Tabla 1.** Valores medios de producción de gas, pH, producción total de AGV y proporciones de los principales AGV.

	Gas producido (ml/g MS)	pH	AGV total (mmol/g MS)	Acético (%)	Propiónico (%)	Butírico (%)
<b>Dosis y tipo de agua electrolizada</b>						
0 (Control)	160 <sup>b</sup>	6,74 <sup>b</sup>	2,824	63,1 <sup>ab</sup>	22,5	11,4 <sup>bc</sup>
AN25	151 <sup>a</sup>	6,74 <sup>b</sup>	2,822	62,9 <sup>a</sup>	22,1	11,5 <sup>c</sup>
AN50	150 <sup>a</sup>	6,70 <sup>a</sup>	2,710	65,0 <sup>c</sup>	22,7	9,6 <sup>a</sup>
CA25	156 <sup>b</sup>	6,75 <sup>b</sup>	2,838	63,0 <sup>ab</sup>	23,1	11,0 <sup>bc</sup>
CA50	152 <sup>a</sup>	6,73 <sup>b</sup>	2,683	64,3 <sup>bc</sup>	22,7	10,5 <sup>ab</sup>
<i>eem</i>	1,7	0,007	0,0698	0,52	0,48	0,39
<i>P-agua</i>	***	***	n.s.	*	n.s.	*
<b>Ración incubada</b>						
Concentrado	190	6,64	3,259	57,3	22,8	17,3
Forraje	118	6,82	2,293	70,1	22,4	4,3
<i>eem</i>	1,1	0,004	0,0441	0,33	0,3	0,24
<i>P-ración</i>	***	***	***	***	n,s,	***
<i>P-agua*ración</i>	***	n,s,	n,s,	n,s,	n,s,	n,s,

*eem*: error estándar de la media,

*P*=nivel de significación: ns=*P*>0,10; \*=*P*<0,05; \*\*\*=*P*<0,001,

a, b, c Superíndices distintos en la misma columna indican diferencias significativas (*P*<0,05),

## EFFECT OF ELECTROLYZED WATER ON RUMINAL FERMENTATION *IN VITRO* USING INOCULUM FROM FORAGE-FED ANIMALS

**ABSTRACT:** The effects of alkaline (Catolyte, pH 11,5) and slightly acidic (Anolyte, pH 7,0) electrolyzed water substituting 25 or 50% of distilled water in the culture medium for in vitro gas production technique were evaluated when using inocula from fistulated ewes fed on alfalfa hay., Two diets (alfalfa and concentrate) were incubated., When alfalfa was used as substrate, gas and AGV production and butyrate proportion decreased (*P*<0.,001) and acetate proportion increased (*P*<0.,001). Anolyte at 25 or 50% rates and Catolyte at 50% rate decreased gas production., Anolyte at 50% rate also decreased final pH, Volatile fatty acids production was not affected, but acetate proportion increased and butyrate proportion decreased when either Anolyte or Catolyte were used at 50% rate (*P*<0.,05)., Using high doses of electrolyzed water affects ruminal fermentation in vitro by reducing gas production and increasing acetate proportion. Anolyte tends to reduce ruminal pH.

**Keywords:** electrolyzed water, rumen, sheep, forage, in vitro

## ESTUDIO IN VITRO DEL POTENCIAL DE DESTRIOS DE INVERNADERO PARA REEMPLAZAR A LOS CEREALES EN LA DIETA DE CAPRINO Y PARA REDUCIR LA PRODUCCIÓN DE METANO

Romero-Huelva, M, Martín-García, A. I., Nogales, R. y Molina-Alcaide, E.  
Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1, 18008 Granada  
[manuel.romero@eez.csic.es](mailto:manuel.romero@eez.csic.es)

### INTRODUCCIÓN

La producción de pequeños rumiantes en el área mediterránea se encuentra limitada por la escasez de pastos, siendo una práctica frecuente en el sector ganadero el uso de concentrados basados en cereales. En los últimos años se ha producido un aumento creciente de los precios de los cereales y otras materias primas (FAO, 2010), como consecuencia de la especulación internacional en los precios, las malas cosechas en los principales países productores, la creciente demanda de los países en vías de desarrollo y su uso para la producción de biocombustibles. Es esencial encontrar alternativas locales al uso de cereales en la alimentación del ganado. Los invernaderos del área mediterránea, entre los que predominan los cultivos de tomate y pepino, generan grandes cantidades de destrios (700.000 y 80.000 Tm, respectivamente) que podrían incorporarse a las dietas de rumiantes incluidos en bloques multinutrientes (Molina-Alcaide et al., 2010; Romero-Huelva et al., 2012, 2013). Los rumiantes juegan un papel importante en el cambio climático, contribuyendo aproximadamente al 45% de las emisiones de metano, gas con mayor potencial de efecto invernadero (Steinfeld et al., 2006) que el CO<sub>2</sub>. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de sustituir distintas cantidades de un concentrado comercial por bloques multinutrientes, que incluyen cebada o 650 g/kg de materia fresca de tomate, pepino o una mezcla de ambos sobre la fermentación ruminal y la producción de metano *in vitro*.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se empleó un sistema *in vitro* de cultivos no renovados de microorganismos ruminales (Theodorou et al., 1994) para incubar una dieta control (CO) compuesta por heno de alfalfa y un concentrado comercial en la relación 1:1, y 9 dietas experimentales en las que se sustituyó el 50, 75 y 100% del concentrado por bloques multinutrientes que incluían destrios de tomate (dietas T50, T75 and T100, respectivamente), pepino (dietas P50, P75 and P100, respectivamente) o cebada (dietas C50, C75 and C100, respectivamente). Se realizaron tres series de incubación idénticas, cada una de 72 h de duración. En cada serie se incubaron, por triplicado, 500 mg de materia seca de las diferentes dietas en botellas Wheaton de 120 ml a 39°C. El primer día de cada serie de incubación, cada botella se inoculaba con 50 ml de una mezcla (1:4 vol:vol) de líquido ruminal y una solución tampón (Goering y van Soest, 1970). El contenido del rumen se obtuvo antes de la primera toma de alimento del día de tres cabras de raza granadina (46,9 ± 2,15 kg PV) dotadas de cánula ruminal, se mezcló y se filtró, de acuerdo con el protocolo de Theodorou et al. (1994), con algunas modificaciones. Se midió la presión y el volumen de gas producido a las 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 y 72 horas tras el inicio de la incubación. A las 24 y 72 horas de incubación se tomaron muestras del gas de fermentación producido para determinar su concentración en CH<sub>4</sub>, mediante cromatografía gaseosa, se abrieron las botellas, se midió el pH del contenido y se detuvo la fermentación introduciendo las botellas en hielo. A continuación, se tomaron alícuotas del contenido de las botellas para la determinación de las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV) siguiendo el procedimiento descrito por Isac et al (1994) y, el contenido restante se liofilizó para analizar los contenidos en MS y FND. La composición química de las dietas se determinó según los procedimientos de la AOAC (2005). La producción de gas se ajustó al modelo de France et al. (2000):  $y = A [1 - e^{-ct}]$  donde  $y$  representa la producción acumulada de gas (ml),  $t$  el tiempo de incubación (h),  $A$  la asíntota (gas total, ml) y  $c$  es la tasa de producción de gas (h<sup>-1</sup>). El análisis estadístico de los datos experimentales se realizó siguiendo un modelo univariante del procedimiento GLM del programa SPSS (IBM SPSS Statistics v.19, IBM Corp., Somers, NY). Las diferencias entre medias se analizaron empleando el test de Tukey.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los bloques multinutrientes mostraron un mayor contenido en PB, FND, FAD y LAD, y menores de MO, EE y EB en comparación con el concentrado (Tabla 1). El tipo de bloque no afectó ( $P>0,25$ ) a ninguno de los parámetros de fermentación ruminal ni a la digestibilidad de las dietas (Tabla 2). El nivel de sustitución de concentrado por bloque sí afectó a la mayoría de los parámetros estudiados. La concentración de  $CH_4$  se redujo ( $P<0,001$ ) con niveles de sustitución  $\geq 75\%$ . La reducción en la producción de gas y AGV totales ( $P\leq 0,042$ ), y el aumento de la relación acético/propiónico y de la producción de acético ( $P\leq 0,023$ ), podrían estar asociados con el aumento progresivo del contenido en celulosa y la reducción del contenido en carbohidratos fácilmente degradables en aquellas dietas que incluían niveles crecientes de bloques multinutrientes (Beever et al., 1989). La relación acético/propiónico aumentó ( $P\leq 0,023$ ) con niveles de sustitución  $\geq 75\%$ . Sin embargo, las proporciones molares de butírico disminuían ( $P<0,001$ ) al reemplazar el 75% del concentrado por bloques, posiblemente debido a una reducción del contenido en carbohidratos no estructurales en la dieta (Getachew et al., 2004). Además, la presencia de compuestos secundarios bioactivos en los bloques podría modificar la fermentación ruminal, inhibiendo la metanogénesis por mecanismos aún desconocidos (Newbold et al., 2004). No se observó interacción ( $P\geq 0,14$ ) entre el tipo de bloque y el nivel de sustitución del concentrado.

Tabla 1. Composición química de los ingredientes de las dietas experimentales (g/kg materia seca)

	Heno de alfalfa	Concentrado	Bloque T	Bloque P	Bloque C
MS, g/kg de materia	929	884	919	933	932
MO	899	896	794	782	795
PB	152	150	162	166	164
FND	551	372	478	459	492
FAD	371	148	284	276	295
LAD	87	27	49	49	53
Extracto etéreo	14,1	27,1	5,06	3,84	3,76
EB, MJ/kg de MS	16,8	18,4	15,9	15,5	15,4

Tabla 2. Efecto de la sustitución parcial del concentrado por bloques multinutrientes sobre la producción de gas total y de metano, fermentación ruminal y digestibilidad verdadera de las dietas tras 24 horas de incubación en botellas Wheaton.

	Bloque <sup>1</sup>			Nivel de sustitución				EEM <sup>2</sup>	P-value		
	T	P	C	0	50	75	100		TB <sup>3</sup>	NS <sup>4</sup>	TB×N
pH	6,68	6,68	6,68	6,61 <sup>a</sup>	6,66 <sup>b</sup>	6,68 <sup>c</sup>	6,71 <sup>d</sup>	0,002	0,74	<0,001	0,75
Gas, mL/g MS incubada	176	173	177	214 <sup>d</sup>	188 <sup>c</sup>	176 <sup>b</sup>	163 <sup>a</sup>	0,53	0,27	<0,001	0,81
CH <sub>4</sub> , mL/ mL gas total prod	0,19	0,19	0,19	0,20 <sup>b</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,19 <sup>ab</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,001	0,99	<0,001	0,93
CH <sub>4</sub> , mL/g MS incubada	34,0	33,3	33,9	42,2 <sup>d</sup>	37,5 <sup>c</sup>	33,5 <sup>b</sup>	30,2 <sup>a</sup>	0,25	0,89	<0,001	0,85
CH <sub>4</sub> /AGV, mL/mmol	6,94	6,81	7,09	7,83 <sup>c</sup>	7,60 <sup>bc</sup>	6,74 <sup>ab</sup>	6,40 <sup>a</sup>	0,12	0,91	<0,001	0,99
A, mL	104	104	107	120 <sup>c</sup>	110 <sup>b</sup>	105 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0,63	0,51	<0,001	0,99
c, h <sup>-1</sup>	0,08	0,07	0,07	0,092 <sup>c</sup>	0,083 <sup>b</sup>	0,078 <sup>a</sup>	0,071 <sup>a</sup>	0,001	0,58	<0,001	0,99
AGV totales, mmol	2,47	2,48	2,40	2,71 <sup>b</sup>	2,49 <sup>ab</sup>	2,52 <sup>ab</sup>	2,37 <sup>a</sup>	0,041	0,93	0,042	0,99
AGV, mmol/100 mol											
Acético	70,9	71,6	71,4	69,7 <sup>a</sup>	70,1 <sup>a</sup>	71,8 <sup>b</sup>	71,8 <sup>b</sup>	0,17	0,74	<0,001	0,97
Propiónico	16,5	16,4	16,4	16,6	16,4	16,4	16,5	0,057	0,80	0,33	0,98
Iso-butírico	0,81	0,82	0,82	0,81	0,79	0,77	0,85	0,024	0,83	0,65	0,14
Butírico	9,38	9,01	9,30	10,7 <sup>c</sup>	10 <sup>bc</sup>	9,10 <sup>ab</sup>	8,58 <sup>a</sup>	0,16	0,93	<0,001	0,99
Iso-valérico	1,36	1,33	1,21	1,40	1,46	1,12	1,30	0,063	0,92	0,31	0,99
Valérico	1,04	0,84	0,96	0,74	1,15	0,76	0,93	0,086	0,94	0,27	0,99
Acético/propiónico	4,29	4,38	4,37	4,19 <sup>a</sup>	4,28 <sup>ab</sup>	4,37 <sup>b</sup>	4,37 <sup>b</sup>	0,022	0,69	0,023	0,97
Digestibilidad MS, g/g <sup>5</sup>	0,68	0,69	0,69	0,75 <sup>d</sup>	0,72 <sup>c</sup>	0,69 <sup>b</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,002	0,25	<0,001	0,83
Digestibilidad FND, g/g	0,36	0,38	0,39	0,45 <sup>d</sup>	0,42 <sup>c</sup>	0,39 <sup>b</sup>	0,32 <sup>a</sup>	0,003	0,29	<0,001	0,87

<sup>1</sup>Bloques que incluyen destríos de tomate (T), pepino (P), una mezcla de tomate y pepino (TP) y cebada (C). <sup>2</sup>Error estándar de la media. <sup>3</sup>Tipo de bloque. <sup>4</sup>Nivel de sustitución.

<sup>5</sup>Calculado según van Soest et al. (1966): Digestibilidad real MS = (input MS – output FND)/input MS, siendo el output FND el analizado en el residuo tras 24 h de incubación.

La digestibilidad de la MS y FND se redujo ( $P < 0,001$ ) con niveles crecientes de sustitución del concentrado por bloques. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por Ben Salem & Znaidi (2008) quienes observaron una menor digestibilidad de la MS y FND en corderos alimentados con dietas que incluían bloques multinutrientes. Las proporciones molares de propiónico, isobutírico, isovalérico, y valérico no se vieron afectadas ( $P \geq 0,27$ ) por el nivel de sustitución.

La sustitución de concentrado por bloques que incluyen destríos de invernadero modificó la fermentación ruminal *in vitro*, la digestibilidad de la MS y FND y tuvo un efecto antimetanogénico, siendo el efecto tanto más pronunciado cuanto mayor era la cantidad de concentrado que se sustituía por bloques. Los resultados apuntan un potencial interesante de los destríos de invernadero para disminuir las emisiones de metano en rumiantes.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. 2005. 18th ed. • Beever, D., Cammell, S., Sutton, J., Spooner, M., Haines, M., & Harland, J. 1989. *Proceedings 11th Symposium on Energy Metabolism EAAP*, Publication No:43.33. • Ben Salem, H., Znaidi, A. 2008. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147:206-222. • FAO, Índice de Precios de los Alimentos. 2010. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/FoodPricesIndex/en/>. • France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M. S., López, S. & Bannink, A. 2000. *Br. J. Nutr.* 83:143-150. • Getachew, G., Robinson, P. H., DePeters, E. J., Taylor, S. J. 2004. *Anim. Feed Sci. Tech.* 111:57-71. • Goering, M. K., & van Soest, P. J. 1970. *Agric. Handbook*. Nº 379. • Isac, M. D., García, M. A., Aguilera, J. F. & Molina-Alcaide, E. 1994. *Arch. Tierernahr.* 46:37-50. • Molina-Alcaide, E., Morales-García, E. Y., Martín-García, A. I., Ben Salem, H., Nefzaoui, A., & Sanz-Sampelayo, M. R. 2010. *J. Dairy Sci.* 93:2076-2087. • Newbold, C.J., McIntosh, F.M., Williams, P., Riccardo L., & Wallace R.J. 2004. *Anim. Feed Sci. Tech.* 114:105-112. • Romero-Huelva, M., Ramos-Morales, E., & Molina-Alcaide, E. 2012. *J. Dairy Sci.* 95:6015-6026. • Romero-Huelva, M., & Molina-Alcaide, E. 2013. *J. Anim. Sci.* En prensa. • Steinfield, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., & Rosales, M. 2006. Food & Agriculture Organization of the UN FA; 9251055718. • Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B. & France, J. 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48:185-197.

**Agradecimientos:** trabajo financiado por la Junta de Andalucía (Proy. Excelencia P05-AGR-00408 y P07-RNM-02746). Gracias a J. Fernández y T. García por su ayuda técnica. Manuel Romero agradece al CSIC por la beca JAE-pre concedida.

### POTENCIAL OF GREENHOUSE WASTES TO REPLACE CEREAL IN GOAT DIETS AND REDUCE METHANE PRODUCTION IN VITRO

**ABSTRACT:** The aim of this work was to evaluate the effect of replacing 0, 50, 75 or 100% of cereals-based concentrate in diets based on alfalfa hay with feed blocks including barley grain or 650 g/kg fresh matter of greenhouse waste fruits (tomato or cucumber) on the *in vitro* ruminal fermentation, digestibility and methane production. Three incubation runs were carried out in batch cultures of mixed rumen microorganisms. Kinetics of gas production were valuated based on the model  $y = A [1 - e^{-ct}]$ . The type of feed-blocks did not show any effect ( $P \geq 0.14$ ). However, the level of concentrate replacement with blocks affected ( $P \leq 0.023$ ) the pH, CH<sub>4</sub> concentration, degradation rate, total gas, CH<sub>4</sub> and total VFA productions, acetate/propionate and CH<sub>4</sub>/Total VFAs ratios and molar proportions of acetate and butyrate. Results from this experiment indicate that increasing levels of concentrate replacement with feed blocks modified ruminal fermentation, DM and NDF digestibility and had an antimethanogenic effect.

**Keywords:** feed blocks, greenhouse wastes, methane production, ruminal fermentation, cereals based concentrate.

## **EFFECTO DE LA UTILIZACIÓN DE TORTA DE COLZA OBTENIDA MEDIANTE PENSADO EN FRÍO SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE LA DIETA DE TERNEROS DE CEBO INTENSIVO Y LA EMISIÓN DE METANO EN FERMENTADORES RUSITEC**

Benhissi, H.\*; García- Rodríguez, A.; Beltrán de Heredia, I  
NEIKER-Tecnalia. Campus Agroalimentario de Arkaute, 46, 01080 Vitoria-Gasteiz.  
hbenhissi@neiker.net

### **INTRODUCCIÓN**

En términos generales el sector ganadero, y en particular el cebo de terneros, es una fuente importante de emisiones de gases con efecto invernadero de origen antropogénico. Los ruminantes producen una cantidad importante de metano como consecuencia del proceso de fermentación que sucede en su tracto digestivo. Estas emisiones de metano suponen el 37% de las emisiones de metano de origen antropogénico (Steinfeld et al., 2006). Por lo tanto, la manipulación de la dieta podría ser una buena alternativa para reducir las emisiones de metano.

Beauchemin et al. (2007) señalan que la inclusión de lípidos en la dieta de vacuno de carne implica alteraciones de la composición y de la actividad de la flora microbiana. Dichas modificaciones comportarían un incremento de la formación de propiónico y una disminución de la digestión de la fibra y de la producción de metano. En particular, se ha demostrado que el uso de tortas de oleaginosas como fuente de grasa poliinsaturada permitiría alterar las características fermentativas a nivel ruminal, reflejándose en una menor emisión de CH<sub>4</sub> (Lee et al., 2003). Sin embargo, los trabajos al respecto son sumamente escasos e inconsistentes.

Por lo tanto, el presente estudio se planteó con el objetivo de evaluar la repercusión de la inclusión de torta de colza obtenida mediante prensado en frío sobre la digestibilidad de la dieta de terneros de cebo intensivo y la emisión de metano en fermentadores Rusitec.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio se llevó a cabo mediante la técnica de simulación del rumen (Rusitec) descrita por Czerkawski y Breckenridge (1977), utilizando una unidad completa Rusitec (Sanshin Industrial Co., Ltd., Yokohama, Japón) compuesta de 4 vasijas de una capacidad de 700 ml/vasija. Se definieron dos tratamientos experimentales (control y colza) según la dieta utilizada como sustrato de fermentación. El tratamiento control consistió en una dieta compuesta de pienso comercial a base de cebada, avena, habas y grasa de palma, y paja de cebada. El tratamiento colza, a su vez consistió en un pienso a base de torta de colza obtenida por prensado en frío, cebada, avena, habas, y paja de cebada. Las dietas (relación forraje/concentrado 10/90) utilizadas fueron formuladas para ser isocalóricas y isoproteicas, siguiendo los requerimientos nutricionales de terneros Limousine en etapa de cebo intensivo, con 400 kg de peso vivo y 1500 g de ganancia diaria de peso (Inra, 2007). Los ingredientes y el valor nutritivo de los piensos experimentales pueden verse en la Tabla 1.

El día 1 del experimento se inocularon los fermentadores con contenido ruminal procedente de 2 ovejas fistuladas en el rumen. Cada fermentador recibió diariamente una bolsa de nailon que contenía 14 g de materia seca de dieta, molida a 2 mm, permaneciendo dentro del fermentador durante 48 h. El ensayo tuvo una duración de 10 días. Los 7 primeros días se dedicaron a la adaptación a la dieta, y durante los últimos 3 días se determinó la desaparición de la materia seca de la dieta tras 48 horas de incubación (DESMS). Se midió el volumen de gas producido diariamente mediante un contador de gas (modelo TG1; Ritter Apparatebau GmbH, Alemania), y se cuantificó la producción diaria de CH<sub>4</sub> mediante la técnica de cromatografía de gases descrita por García-González et al. (2008).

El efecto de la dieta sobre la DESMS, el volumen de gas producido y la producción diaria de CH<sub>4</sub> se analizó mediante un análisis de varianza de una sola vía, utilizando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS (SAS, 2003). Los valores medios de cada parámetro correspondiente al tratamiento colza se compararon con los del tratamiento control mediante una *t* de Student.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos derivados del uso de la torta de colza en la dieta de los terneros sobre la DESMS, producción total diaria de gas y producción diaria de metano pueden verse en la Tabla 2.

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre el control y la colza en lo que se refiere a DESMS (78,4 vs. 78,2 %; P=0,958). Estos resultados no se encuentran de acuerdo con lo descrito por Shingoethe et al. (1974) o Lardy et al. (1993) quienes encontraron que la inclusión de niveles altos de torta de colza en la dieta de terneros de cebo supuso un descenso acusado de la digestibilidad *in vitro* de materia seca. Una diferencia importante que podría justificar esta disparidad en los resultados encontrados podría ser el nivel de inclusión de la torta en las dietas, ya que mientras que en este estudio la inclusión de torta fue del 15%, Shingoethe et al. (1974) y Lardy et al. (1993) la incluyeron en un 24 y 19%, respectivamente.

Tampoco se encontraron diferencias significativas entre el control y la colza en producción total diaria de gas (2,58 vs. 2,52 l/d; P=0,556) o en la producción de metano diaria (38,0 vs. 36,7 ml/d; P=0,589). Los trabajos respecto al uso de la torta de colza para reducir la emisión de metano son sumamente escasos. En cualquier caso en ellos se ha puesto de manifiesto que la incubación *in vitro* de este alimento produjo un descenso significativo de la producción de CH<sub>4</sub> (Lee et al., 2003; Morgavi et al., 2011). De acuerdo con Morgavi et al. (2011), la reducción de la producción de metano en presencia de la torta de colza, podría ser, probablemente, el resultado de un efecto tóxico directo de los ácidos grasos poliinsaturados presentes en este producto, o de sus derivados metabólicos en el rumen sobre la flora metanogénica y celulolítica, o también, la consecuencia de la disminución de la digestibilidad ruminal del sustrato potencialmente fermentable, especialmente fibra (Lee et al., 2003) que reduciría la producción de acético y butírico, y por lo tanto, de CH<sub>4</sub>.

La falta de efecto de la torta de colza sobre la DESMS, observada en el presente trabajo, justificaría la ausencia de diferencia en la producción de metano entre el control y la colza.

## CONCLUSIÓN

La inclusión de de torta de colza obtenida mediante prensado en frío en la dieta de terneros de cebo intensivo, no afectó ni a la desaparición de la materia seca a 48 h, ni a la producción diaria de gas total, ni la emisión de metano en fermentadores continuos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M. y Petit, H.V. 2007. Can. J. Anim. Sci. 87: 431-440.
- Czerkawski, J.W. y Breckenridge, G. 1977. Br. J. Nutr. 38: 371-384.
- García-González, R., López, S., Fernández, M. y González, J.S. 2008. Anim. Feed Sci. Technol. 145: 319-334.
- Inra. 2007. Tables Inra 2007. Éditions Quae, Versailles, 307p.
- Lardy, G. P., Catlett, G. E., Kerley, M.S. y Paterson, J. A. 1993. J. Anim Sci. 71:3096-3104.
- Lee, H. J., Lee, C. S., Kim, J.D., Oh, Y. G., Kim, B. K., Kim, C. W. y Kim, K. J. 2003. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 8: 1143-1150.
- Morgavi, D. P., Eugéne, M., Martin, C. y Doreau, M. 2011. Options Méditerranéennes. 99:65-73.

SAS. 2003. SAS User's Guide: Statistics, Versión 9.1. SAS Inst. Inc., Cary, NC (Estados Unidos).  
 Schingoethe, D.J., Beardsley, G. L. y Lawrence, D. M. 1974. J. Nutr. 104: 358-362.  
 Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M. y de Haan, C. 2006. Livestock's long shadow environmental issues and options, FAO.

**Agradecimientos:** H. Benhissi disfruta de una beca predoctoral del INIA, ligada al proyecto RTA2010-00057-C03-03.

Tabla 1. Ingredientes y valor nutritivo de los piensos experimentales

	Control	Colza
<b>Ingredientes (% sobre MF)</b>		
Cebada	50	47
Avena	22,5	24
Haba	21	10
Grasa de palma	3,5	0
Torta de colza	0	15
Suplemento vitamínico-mineral	3	3
Bicarbonato sódico	1	1
<b>Valor nutritivo</b>		
UFC/kg	1,05	1,04
PB (% sobre MS)	14,57	14,86
GB (% sobre MS)	6,08	6,06

GB: grasa bruta; MF: materia fresca; MS: materia seca; PB: proteína bruta; UFC= unidades forrajeras carne.

Tabla 2: Efecto del uso de la torta de colza en la dieta de terneros de cebo sobre la DESMS, producción diaria de gas total y de metano.

	Control	Colza	EEM	P
DESMS (%)	78,40	78,20	0,030	0,958
Gas total (l/día)	2,58	2,52	0,086	0,556
CH <sub>4</sub> (ml/día)	38,00	36,70	0,050	0,589

DESMS: Desaparición de materia seca a 48 horas; EEM: error estándar de la media.

### EFFECT OF THE USE OF COLD-PRESSED RAPESEED MEAL ON THE DIGESTIBILITY OF BEEF STEERS FATTENING DIETS AND THE EMISSION OF METHANE IN RUSITEC DIGESTERS

**ABSTRACT:** The objective of this study was to investigate, in beef cattle, the impact of the use of rapeseed cake obtained by cold pressing, on the digestibility of the dry matter and the *in vitro* emission of methane. The experiment was carried out using the rumen simulation technique (RUSITEC), including two treatments: control (concentrate without rapeseed cake + barley straw) and rapeseed (concentrate with rapeseed cake + barley straw). The diets used were formulated following the nutritional needs of fattened Limousine steers, with 400 kg of live weight and 1500 g of daily weight gain. Each treatment was incubated in two digesters. The incubation experiment consisted of a 7 days of adaptation followed by a 3 days of sampling. The inclusion of 15% of rapeseed cake in the diet of fattened steers did not affect either the dry matter disappearance (78.4 vs. 78.2 %; P=0.958), the total gas production (2.6 vs. 2.5 l/day; P=0.556), or the daily methane emission (38.0 vs 36.7 ml/day; P=0.589). In conclusion, cold-pressed rapeseed cakes did not affect dry matter disappearance, the total gas production or the daily methane emission

**Keywords:** rapeseed cake, cold-pressing, steers, digestibility, methane.

## **EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACEITES Y OLEÍNAS VEGETALES SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO Y LA FERMENTACION RUMINAL *IN VITRO***

Tejido, M.L., Bodas, R., Blanco, C., Llorente\*, P., Giráldez, F.J.

Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León). Finca Marzanos. E-24346 Grulleros, León. \*Panía Animal, S.L. 24219 Vilafalé, León. Correo e.:mltejm@unileon.es.

### **INTRODUCCIÓN**

Diversos estudios han demostrado que la adición de aceites vegetales o ácidos grasos de cadena media o larga disminuyen la producción de metano en el rumen, aumentando de esta forma la eficiencia de utilización de la energía ingerida y disminuyendo las emisiones de este gas y su efecto contaminante (Martin et al., 2008; Soliva et al., 2003). La inclusión de aceites vegetales o ácidos grasos específicos en la dieta es costosa y sería muy útil disponer de fuentes lipídicas alternativas económicamente más asequibles. A este respecto cabe mencionar que en el mercado existen una serie de subproductos, ricos en ácidos grasos libres y en triglicéridos, denominados oleínas. Éstas se generan durante el proceso de refinado de los aceites, y presentan un coste inferior al de los aceites correspondientes. Si bien las oleínas se utilizan en alimentación animal, son escasos los trabajos que han valorado su efecto sobre la producción de metano en el rumen (Blanco et al., 2012) o que han comparado su eficacia en relación con los aceites de los que proceden. El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto de distintas dosis de aceite de girasol y de aceite de oliva y de sus correspondientes oleínas, sobre la fermentación ruminal y la producción de metano *in vitro*.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio se realizó utilizando un sistema *in vitro* de cultivos no renovados de microorganismos ruminales. Como sustrato de fermentación se utilizó una ración compuesta por 26,3% de paja de trigo, 17,0% de heno de veza y 56,7% de pienso concentrado. Su composición química (expresada en relación con la materia fresca) fue la siguiente: 90,3% de materia seca, 7,0% de cenizas, 12,0% de proteína bruta 45,1% de fibra neutro detergente y 26,4% de fibra ácido detergente. Esta ración (dieta basal) fue molida a 1 mm y mezclada con diferentes dosis (2, 4 y 6%) del suplemento lipídico correspondiente: mezcla 4:1 de ácidos láurico y mirístico (LM), aceite de girasol (AG), oleína de girasol (OG), aceite de oliva (AO) y oleína de oliva (OO). La mezcla de ácido laurico: mirístico se incluyó como control positivo debido a su conocido efecto antimetanogénico (Soliva et al., 2003). Se incluyó entre los tratamientos un tratamiento control, constituido por la dieta basal sin suplemento lipídico. Para hacer las incubaciones se utilizaron viales de 120 ml a los que se añadió 400 mg del sustrato correspondiente y 40 ml de una mezcla (1:4 v/v) de líquido ruminal y del medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970), pero sin CaCl<sub>2</sub> (de acuerdo con lo sugerido por Soliva et al., 2003). Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de 2 vacas fistuladas en el rumen y que recibían la misma ración que se utilizó como sustrato en los viales. Tras 24 horas de incubación en condiciones de anaerobiosis a 39 °C se midió el volumen de gas producido y se tomaron muestras del gas para analizar su contenido en metano. Posteriormente los viales fueron abiertos y se tomaron muestras para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV). Las incubaciones se realizaron en dos tandas, en días no consecutivos, y en cada tanda se usaron dos inóculos diferentes (uno por animal), incubándose 2 réplicas por sustrato. Las réplicas para cada sustrato, inóculo y día fueron promediadas. Para estudiar el efecto de la dosis (0, 2, 4, 6%), los datos fueron sometidos a un ANOVA para cada suplemento (LM, AG, OG, AO, OO), con la dosis como fuente de variación y realizando un contraste ortogonal para evaluar el efecto lineal. Para estudiar la comparación entre oleínas y aceites, se llevó a cabo un ANOVA para cada dosis (2, 4 y 6%), con el tipo de suplemento (AG, OG, AO, OO) como fuente de variación, realizando los siguientes contrastes ortogonales: aceites frente a oleínas, aceite de oliva frente a oleína de oliva, aceite de girasol frente a oleína de girasol. En todos los casos se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc., USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Efecto de la dosis*

Tal y como se muestra en la Tabla 1, la adición de todos los suplementos lipídicos estudiados (LM, AO, OO, AG y OG) redujo tanto la producción de gas ( $P<0,001$ ) como de metano por g de MS incubada ( $P<0,05$ ). La concentración de AGV, expresada en relación con la MS incubada, mostró una evolución similar a la señalada para las producciones de gas y de metano, si bien en el caso del AGV las diferencias observadas sólo mostraron una tendencia a la significación. Cabe destacar que esta disminución en la producción de AGV totales estuvo asociada a un cambio en su perfil, de manera que a medida que aumentó la dosis de suplemento lipídico se produjo una disminución significativa ( $P<0,001$ ) en la relación entre los ácidos acético y propiónico. Estos resultados concuerdan con trabajos previos en los que tanto el empleo de diversos tipos de aceites (Soliva et al., 2003; Martin et al., 2008) como de oleínas (Blanco et al., 2012) afecta a la fermentación ruminal y reduce la producción de metano.

### *Contraste aceites frente a oleínas*

Respecto a la producción de gas, no se observaron diferencias entre oleínas y aceites a la dosis de inclusión más elevada (6%). El aceite de oliva mostró un mayor efecto inhibitorio de la producción de gas que su oleína a dosis del 2% ( $P<0,01$ ) y 4% ( $P<0,05$ ). En el caso del AG y de la OG no se observaron diferencias en ninguna de las dosis evaluadas.

En relación con el efecto antimetanogénico el aceite de oliva tendió a ser más eficaz que su oleína al 4% ( $P>0,10$ ), mientras que la oleína de girasol ejerció una mayor inhibición sobre la producción de metano que el aceite correspondiente ( $P<0,05$ ). Los efectos sobre la producción de AGV no fueron diferentes entre aceites y oleínas a dosis del 4 y 6% ( $P>0,10$ ). Sin embargo, el aceite de oliva mostró un efecto inhibitorio más potente que su correspondiente oleína a dosis del 2% ( $P<0,01$ ). No obstante, la diferencia de efecto sobre la relación acético/propiónico resultó inapreciable a dosis bajas, mientras que al 6% la oleína de girasol dio lugar a menores valores de este parámetro que su aceite.

La utilización de dosis entre el 2 y el 6% de oleína o aceite de oliva o girasol inhiben la fermentación ruminal y reducen la producción de metano de forma lineal, aumentando la relación acético/propiónico. Aunque depende de la dosis utilizada, en general la oleína de girasol tiende a mostrar un efecto más marcado que su correspondiente aceite, mientras que en el caso de la oliva los efectos tienden a ser más notable en el caso del aceite que de la oleína.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blanco, C., Bodas, R., Prieto, N., Morán, L., Andrés, S., López, S. & Giráldez, F.J. 2012. Anim. Feed Sci. Technol. 176: 40-46. • Goering, M.K. & Van Soest, P.J. 1970. Agricultural Handbook No.379, USDA, Washington DC. • Martin, C., Rouel, J., Jouany, P., Doreau, M. & Chilliard, Y., 2008. J. Anim. Sci. 86: 2642–2650. • Soliva, C.R., Hindrichsen, I.K., Meile, L., Kreuzer, M. & Machmüller, A. 2003. Lett. Appl. Microbiol. 37: 35–39.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por un contrato de I+D asociado al proyecto CDTI IDI-20111238. M.L. Tejido disfruta de un contrato JAE-Doc del programa 'Junta para la Ampliación de Estudios' (CSIC-Fondo Social Europeo).

## EFFECT OF VEGETABLE OILS AND SOAPSTOCKS ON *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION AND METHANE PRODUCTION

**ABSTRACT:** The *in vitro* gas production technique was used to test the effects of different doses (0, 2, 4 and 6%) of vegetable oils and soapstocks (sunflower oil –AG-, sunflower soapstock –OG-, olive oil –AO-, olive soapstock –OO-) added to the substrate for incubations (Total mixed rations, TMR: (26.3% wheat straw, 17.0% vetch hay and 56.7% concentrate) on ruminal fermentation and methane production. Ruminal fluid from cows fed on the TMR was used as inoculum. A mixture of lauric and miristic acids (4:1) at the same doses was used as positive control. Both vegetable oils and soapstocks linearly reduced gas ( $P<0,001$ ) and

methane production ( $P<0.05$ ), raising acetate to propionate ratio ( $P<0.01$ ). All tested supplements but AG decreased volatile fatty acid production ( $P<0.05$ ). Although the differences between soapstocks and oils depend on the doses administered, generally speaking, the effects of AO were more pronounced than those of OO, and OG had more marked antimethanogenic effects than AG at 6% dose.

**Keywords:** rumen, vegetable oil, soapstocks, methane.

**Tabla 1.** Efecto de la adición de aceites u oleínas a distintas dosis sobre la producción de gas, metano, ácidos grasos volátiles y la relación acético/propiónico

	Dosis (%)				d.e.r.	P-lineal
	0	2	4	6		
<b>Producción de gas (ml/g MS incubada)</b>						
Mezcla láurico-mirístico (LM)	164	154	152	141	3,9	***
Aceite de oliva (AO)	164	160	154	153	2,5	***
Oleína de oliva (OO)	164	169	160	155	2,7	***
Aceite de girasol (AG)	164	159	158	150	2,9	***
Oleína de girasol (OG)	164	162	157	151	2,8	***
<b>d.e.r.</b>		3,8	3,0	4,9		
<b>P-aceites vs oleínas</b>		*	n.s.	n.s.		
<b>P-AO vs OO</b>		**	*	n.s.		
<b>P-AG vs OG</b>		n.s.	n.s.	n.s.		
<b>Producción de metano (ml/g MS incubada)</b>						
Mezcla láurico-mirístico (LM)	35,4	33,9	31,7	27,9	0,77	***
Aceite de oliva (AO)	35,4	32,3	30,4	30,7	1,46	**
Oleína de oliva (OO)	35,4	34,6	32,5	30,4	1,53	**
Aceite de girasol (AG)	35,4	33,6	32,0	31,0	1,52	**
Oleína de girasol (OG)	35,4	32,1	31,4	28,2	1,66	***
<b>d.e.r.</b>		1,98	1,38	1,64		
<b>P-aceites vs oleínas</b>		n.s.	n.s.	t		
<b>P-AO vs OO</b>		n.s.	t	n.s.		
<b>P-AG vs OG</b>		n.s.	n.s.	*		
<b>AGV (mmol/g MS incubada)</b>						
Mezcla láurico-mirístico (LM)	3,72	3,65	3,58	3,44	0,125	**
Aceite de oliva (AO)	3,72	3,54	3,47	3,49	0,118	*
Oleína de oliva (OO)	3,72	3,77	3,59	3,41	0,162	*
Aceite de girasol (AG)	3,72	3,65	3,59	3,49	0,153	t
Oleína de girasol (OG)	3,72	3,65	3,60	3,46	0,141	*
<b>d.e.r.</b>		0,107	0,159	0,140		
<b>P-aceites vs oleínas</b>		*	n.s.	n.s.		
<b>P-AO vs OO</b>		**	n.s.	n.s.		
<b>P-AG vs OG</b>		n.s.	n.s.	n.s.		
<b>Acético/propiónico (mol/mol)</b>						
Mezcla láurico-mirístico (LM)	4,50	4,55	3,87	3,64	0,228	***
Aceite de oliva (AO)	4,50	4,11	4,08	4,13	0,185	*
Oleína de oliva (OO)	4,50	4,33	4,24	3,94	0,124	***
Aceite de girasol (AG)	4,50	4,38	4,28	4,21	0,044	***
Oleína de girasol (OG)	4,50	4,21	4,08	3,70	0,117	***
<b>d.e.r.</b>		0,153	0,209	0,202		
<b>P-aceites vs oleínas</b>		n.s.	n.s.	**		
<b>P-AO vs OO</b>		t	n.s.	n.s.		
<b>P-AG vs OG</b>		n.s.	n.s.	**		

d.e.r.=Desviación estándar residual. P=nivel de significación estadística: n.s.= $P>0,10$ ;  $t=P<0,10$ ;  $*=P<0,05$ ;  $**=P<0,01$ ;  $***=P<0,001$ .



## EFFECTOS DEL TRATAMIENTO CON TIOSULFINATO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE METANO EN CAPRINO

Martínez-Fernández, G., Abecia, L., Ramos-Morales, Martín-García, A.I., Molina-Alcaide, E. y Yáñez-Ruiz, D. R.

Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008, Granada.

[gonzalo.martinez@eez.csic.es](mailto:gonzalo.martinez@eez.csic.es)

### INTRODUCCIÓN

Existen numerosos productos con potencial para modificar la fermentación ruminal, entre los que destacan los productos derivados del ajo. Esta capacidad es debida principalmente a las propiedades antimicrobianas de los compuestos sulfurados presentes en las especies del género *Allium* (Koch y Lawson, 1996). En los últimos años diferentes estudios han demostrado *in vitro* que distintos compuestos activos del ajo reducen la producción de metano (Kongum et al., 2010; Martínez et al., 2011; Soliva et al., 2011; Martínez et al., 2012). Sin embargo, la información derivada de ensayos *in vivo* es escasa y muestra resultados variables y contradictorios (Klevenhusen et al., 2011; Patra et al., 2011) respecto a lo observado *in vitro*. Parte de esa variabilidad está relacionada con las dosis utilizadas en los distintos ensayos y con la degradación de los compuestos activos por los microorganismos del rumen (Hart et al., 2008). Además, recientemente se ha sugerido que las arqueas del rumen, responsables de la síntesis de metano, necesitan un periodo de aproximadamente un mes para adaptarse a los cambios en el ecosistema ruminal (Williams et al., 2009). Este trabajo se planteó con el objetivo de estudiar el efecto de la adición de propil propano tiosulfinato (PTS) durante 30 días sobre la fermentación ruminal y la producción de metano en caprino.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 cabras adultas, de raza murciano-granadina, canuladas en rumen, que se distribuyeron en 2 grupos en función de su peso vivo ( $37,6 \pm 5,81$  kg). Los animales se alimentaron a nivel mantenimiento energético (Prieto et al., 1990) con una dieta de heno de alfalfa y concentrado en relación 1:1 (Ingredientes concentrado: Harinilla de trigo 35%, cebada 21%, torta de girasol 15%, harinilla de maíz 9%, sorgo 8%, harina de soja 5% y cáscara de soja 4%), durante un periodo de adaptación de 12 días. Durante los siguientes 30 días los animales recibieron la misma dieta, tratándose a 6 de ellos con PTS y a los 6 restantes sin administración del aditivo (control). El PTS (pureza del 9% fijado en alfa-ciclodextrina) se administró en cantidad creciente durante 5 días, para facilitar la adaptación de los animales al aditivo, hasta alcanzar la dosis experimental (0,2 g/kg peso vivo), que se repartió en 2 tomas diarias. En cada toma el PTS se pesaba en papel de celulosa junto con un 1 g de cebada molida a 1 mm y se introducía en el rumen a través de la cánula. A los animales del grupo control también se les introdujo, a través de la cánula, 1 g de cebada molida a 1 mm en papel de celulosa en los mismos momentos y de la misma manera que con el PTS. Los animales se alimentaron dos veces al día y la ingestión de alimento se controló diaria e individualmente. Los días 7, 14, 21 y 28 del experimento se pesaron a los animales y se tomaron alícuotas del contenido ruminal a las 4 horas tras haber recibido el alimento para analizar su contenido en ácidos grasos volátiles (AGV), mediante cromatografía de gases (Isac et al., 2004). A continuación, tras cada uno de los muestreos anteriores, los animales se introdujeron en cámaras individuales (Abecia et al. 2012) para medir la producción de metano durante 2 días consecutivos, usándose para ello un analizador de gases ADM MGA3000 (Spurling Works, Herts, Reino Unido). El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de varianza con medidas repetidas, considerando a cada animal como unidad experimental, usando el programa SPSS 19.0<sup>®</sup>. Las diferencias entre medias se establecieron utilizando el test DMS ( $P < 0,05$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento con PTS no afectó ( $P \geq 0,422$ ) a la ingestión de alimento ni al peso vivo de los animales (Tabla 1), en ninguno de los días ( $P \geq 0,167$ ) de muestreo. Patra y Saxena (2010) observaron que la adición de aceite de ajo a búfalos y ovejas disminuyó la ingesta del concentrado durante los primeros 15 días del experimento, mientras que otros autores (Yang et al., 2007; Chaves et al., 2008) no observaron efectos significativos sobre la ingesta

de alimento ni en corderos ni en vacas lecheras tratados con aceite de ajo. Esta variabilidad en los resultados puede deberse a las distintas dosis utilizadas, composición de la dieta, modo de administración de los compuestos, así como a diferencias químicas en los compuestos usados. En este trabajo el compuesto se ha administrado de forma progresiva y en cantidades crecientes durante los 5 días iniciales del experimento lo que asegura una adecuada adaptación de los animales a la ingesta del compuesto activo. Respecto a la concentración de AGV totales y la proporción acético:propiónico (Tabla 1) no se observaron diferencias del tratamiento ( $P \geq 0,433$ ) ni efecto del tiempo ( $P \geq 0,520$ ). Estos resultados sugieren que la fermentación ruminal no se vio afectada por el tratamiento con PTS. En el mismo sentido, no se observaron efectos significativos debidos al tratamiento ( $P = 0,211$ ) ni al tiempo ( $P = 0,854$ ) sobre la producción de metano (L/kg materia seca ingerida) (Tabla 1), aunque sí una reducción numérica a partir del día 7 de tratamiento que se mantuvo para el resto de mediciones. La falta de efecto significativo no concuerda con obtenido en trabajos anteriores realizados *in vitro* (Martínez et al., 2011; Martínez et al., 2012) en los que la adición de PTS disminuyó la producción de metano. Diferencias similares entre estudios *in vitro* e *in vivo* fueron observadas por Klevenhussen et al. (2011) en ovejas tratadas con aceite de ajo y dialil disulfuro en las que no se observó efecto significativo del aditivo sobre la producción de metano tras 18 días de tratamiento; sin embargo, ambos aditivos redujeron significativamente la producción de metano *in vitro* (Soliva et al., 2011; Busquet et al., 2005). La discrepancia observada con las mismas dosis *in vitro* e *in vivo* apoya la necesidad de ratificar *in vivo* los resultados observados en sistemas de simulación de la fermentación ruminal. Diversos factores pueden explicar las discrepancias *in vitro* vs *in vivo*: los compuestos utilizados en este estudio tenían muy baja solubilidad en agua y, por tanto, la distribución homogénea en todos los compartimentos del rumen podría no haberse logrado plenamente. Además, la administración del compuesto en dos tomas al día puede limitar su permanencia en el rumen, en comparación con un suministro más continuado durante el día. Los resultados *in vivo* de este trabajo tras 30 días de tratamiento no confirman los observados anteriormente *in vitro* en cuanto al efecto antimetanogénico del PTS por lo que se requieren nuevos estudios para corroborar si dosis superiores a las utilizadas en este trabajo o vías más eficientes de administración tendrían un efecto diferente sobre las emisiones de metano y la fermentación ruminal *in vivo*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia L., Toral P., Martín-García A., Martínez G., Tomkins N., Molina-Alcaide E., Newbold C. & Yáñez-Ruiz D. 2012. J. Dairy Sci. 95:2027-2036. ● Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Carro M.D. & Kamel C. 2005. J. Dairy Sci. 88, 4393–4404. ● Chaves A., Stanford K., Dugan M.E.R., Gibson L.L., McAllister T.A., Van Herk F. & Benchaar C. 2008. Livest. Sci. 117:215-224. ● Hart K. J., Yáñez-Ruiz D. R., Duval S. M., McEwan N. R. & Newbold C. J. 2008. Anim. Feed Sci. Technol. 147:8-35. ● Isac M. D., García M. A., Aguilera J. F. & Molina Alcaide E. 1994. Archv. Tieremahr. 46:37-50. ● Klevenhussen F., Zeitz J.O., Duval S., Kreuzer M. & Soliva C.R. 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 166–167:356-363 ● Koch H. & Lawson L. 1996. Maryland: Williams & Wilkins xv, 329p. ● Kongum P., Wanapat M., Pakdee P. & Navanukraw C. 2010. Livest. Sci. 127:38-44. ● Martínez G., Abecia L., Martín-García A.I., Ramos E., Molina-Alcaide E., Ranilla M. J. & Yáñez-Ruiz D.R. 2011. Poster Presentations. Advances in Animal Biosciences. 2:488 ● Martínez G., Abecia L., Martín-García A.I., Ramos E., Molina-Alcaide E. & Yáñez-Ruiz D.R. 2012. 14th International Seminar of the FAO-CIHEAM. S4-0-02 ● Patra A.K., Kamra D., Bhar R., Kumar R. & Agarwal N. 2011. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 95:187-191 ● Prieto C., Aguilera J., Lara L. & Fonollá J. 1990. Br. J. Nutr. 63:155-163. ● Soliva C.R., Amelchanka S.L., Duval S.M. & Kreuzer M. 2011. Br. J. Nutr. 106:114-122. ● Williams Y.J., Popovski S., Rea S.M., Skillman L.C., Toovey A.F., Northwood K.S. & Wright A.G. 2009. Appl. Environ. Microbiol. 75:1860-1866. ● Yang W., Benchaar C., Ametaj B.N., Chaves A.V., He M.L. & McAllister T.A. 2007. J. Dairy Sci. 90:5671-5681. ● Yáñez-Ruiz D.R., Moumen A., Martín-García A.I. & Molina-Alcaide E. 2004. J. Anim. Sci.82: 2023-2032.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2008AGL2008-04707-C02-01). G. Martínez agradece la concesión de una

beca predoctoral del programa FPI 2009 del Ministerio de Ciencia e Innovación. También se agradece la ayuda técnica a E. Jiménez, T. García, F. Ramos y P. Rufino.

**Tabla 1.** Efecto del tratamiento con propyl propane thiosulfinate (PTS) sobre el peso vivo, ingesta de materia seca, producción de metano, concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y relación acético:propiónico a los 7, 14, 21 y 28 días de administración del aditivo en caprino (n=12).

	Días								P-valor			
	7		14		21		28					
	Tratamiento								EEM	T	tiempo	Txt
	C	PTS	C	PTS	C	PTS	C	PTS				
Peso vivo (Kg)	36,2	39,2	36,6	39,4	36,0	39,0	37,0	39,5	2,34	0,422	0,167	0,688
Ingesta de MS (g/animal/d)	659	700	683	720	689	656	715	767	42,3	0,697	0,348	0,629
CH <sub>4</sub> L/Kg MSingerida	30,5	31,0	31,4	27,9	30,6	28,3	31,4	27,6	1,68	0,211	0,854	0,501
AGV (mmol/L)	76,9	74,2	70,9	70,7	75,4	73,1	75,7	71,5	2,26	0,483	0,903	0,991
Acético/Propiónico	3,69	3,83	4,06	3,92	4,29	3,96	3,82	3,65	0,109	0,433	0,520	0,494

PTS: propil propano tiosulfinato, C: Control (sin tratamiento).

EEM: error estándar de la media, MS: materia seca.

T: tratamiento; Txt: interacción del tratamiento con el tiempo.

CH<sub>4</sub>, L/Kg MS ingerida: Medición de 2 días consecutivos.

#### EFFECTS OF THE ADDITION OF THIOSULFINATE ON RUMEN FERMENTATION AND METHANE PRODUCTION IN GOATS

**ABSTRACT:** Twelve non-lactating goats were used to test the effect of the treatment of propyl propane thiosulfinate (PTS) on dry matter intake, body weight and rumen fermentation for 30 days. Goats received a diet based on alfalfa hay and a concentrate (F:C 1:1), and were divided in two groups, treated with 0,2 g/kg BW per day of PTS or without treatment (control). Dry matter intake, body weight, VFA and methane production (L/kg dry matter intake) were analysed on days 7, 14, 21 and 28. Neither dry matter intake, body weight, methane production, total VFA concentration and acetate:propionate ratio were affected ( $P \geq 0,211$ ) by the PTS treatment after 28 days of treatment. No time effect was observed ( $P \geq 0,167$ ). Probably the dose, the type of compound or the lack of homogenous distribution of compound within the rumen and the higher dilution rate *in vivo* were responsible for the lack of significant effects compared with *in vitro* experiments. Whether a reduction in CH<sub>4</sub> emissions would be achieved *in vivo* with higher doses of the active compound requires further research.

**Keywords:** propyl propane thiosulfinate, methane, rumen fermentation, goats.

**PROYECTO EUROPEO FP7 SMethane:  
PLATAFORMA TECNOLÓGICA PARA EL DESARROLLO DE ADITIVOS NUTRICIONALES  
PARA REDUCIR LA PRODUCCIÓN DE METANO: ESFUERZO CONJUNTO ENTRE EMPRESA  
E INVESTIGACIÓN.**

Yáñez-Ruiz, D. R., Losa, R., Núñez, C., Tessier, N., Media, B., Shearer, A. de Campanere, S., Morgavi, D., Fievez, F., Newbold, C.J.

Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008, Granada.

Agolin SA, Suiza; DOMCA, España; NorFeedSud, Francia; Phytosynthese, Francia; Neem Biotech, Reino Unido; ILVO, Bélgica; INRA, Francia; UGent, Bélgica, IBERS, Aberystwyth, Reino Unido.

[david.yanez@eez.csic.es](mailto:david.yanez@eez.csic.es)

### **INTRODUCCIÓN**

La comunidad científica ha identificado tres aproximaciones para mitigar la producción de metano producida por los rumiantes: i) Mejoras en la eficiencia de la explotación ganadera mediante un manejo eficiente en la granja y mejorando la genética de los animales; ii) Soluciones biotecnológicas basadas en la introducción de microorganismos modificados en el animal y tratamientos inmunológicos u hormonales, y iii) Cambios en la alimentación y aditivos que manipulen la función ruminal. SMethane es un proyecto europeo financiado por el 7º Programa Marco en el que nos hemos centrado en esta última opción basada en el uso de aditivos alimentarios.

En los últimos años se han publicado numerosos trabajos sobre el potencial de extractos de plantas para modificar la función ruminal. Sin embargo, todavía no se ha logrado comercializar ninguno exitosamente que demuestre que tiene un efecto mantenido en el tiempo mientras que incrementa la productividad del animal. SMethane tiene como objetivo proporcionar datos sobre el efecto de distintos compuestos en pequeños rumiantes y en vacuno lechero y de carne, así como información sobre la estabilidad de los aditivos.

El proyecto ha sido diseñado para ayudar a las empresas participantes en eliminar las restricciones que actualmente tienen en desarrollar exitosamente aditivos, en particular extractos de plantas, que puedan reducir la producción de metano en rumiantes. Específicamente hemos desarrollado una plataforma tecnológica para acometer las siguientes restricciones:

- La necesidad de estandarizar el contenido en la molécula activa
- La estabilidad de los compuestos en condiciones prácticas
- La persistencia de los efectos y adaptación del ecosistema ruminal
- Falta de datos sobre distintos sistemas de producción ganadera
- Efectos sobre la calidad y sabor de la leche
- La falta de datos productivos para evaluar el precio en el mercado

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El consorcio está formado por 10 organismos, que incluyen 5 Universidades y Centros de Investigación (CSIC, España; INRA, Francia; Universidad de Aberystwyth, Reino Unido; Universidad de Gante e ILVO, Bélgica) y 5 PYMEs (DOMCA SA, España; Neem Biotech Ltd, Reino Unido; Agolin SA, Suiza; Phytosynthese SARL y Nor-Feed Sud SARL, Francia). La financiación ha sido de 795.000 Euros y la duración del proyecto de 2 años (2011-2012).

La plataforma tecnológica incluye:

- Información sobre la estabilidad de los extractos en distintas condiciones ambientales:
  - o efecto de la peletización
  - o efecto del almacenamiento a distintas temperaturas (4, 15 y 30 °C) durante 1 y 2 meses.
- Screening in vitro que cubre el uso de distintas dietas y pH
- Mediciones in vivo durante periodos cortos (7 días) y largos (42 días) en ovino, caprino y vacuno de carne y leche, así como la posible transferencia de compuestos a leche.
- Basado en los datos obtenidos se ha diseñado una calculadora 'on line' para estimar el efecto de la inclusión de los extractos en la dieta de los animales sobre las emisiones y en relación a los créditos de carbono.

Los compuestos estudiados incluyen aceites esenciales, organosulfurados y extractos de saponinas. Un total de 29 compuestos diferentes han sido testados a distintos niveles de la plataforma.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de estabilidad muestran que el proceso de peletización supone una pérdida de entre el 8 y el 74 % del compuesto activo, mientras que la temperatura de almacenamiento incide negativamente a medida que aumenta (desde 0 % a 4°C hasta 80 % a 30°C).

El screening in vitro mostró una capacidad antimetanogénica variable dependiendo de la molécula activa: hasta 28 % para aceites esenciales, 8 % para saponinas y 63 % para compuestos organosulfurados en un rango que va desde 200 a 600 ppm en relación al volumen de incubación. Sin embargo, el efecto está influenciado por la dieta (substrato) que se incubó en las botellas y por el pH del medio, lo que sugiere que la eficacia de los compuestos potencialmente varía dependiendo del sistema de producción considerado.

Los compuestos que mostraron mayor potencial han sido estudiados in vivo tras incluirlos en la dieta de cabras y ovejas a tres concentraciones durante 7 días de tratamiento. En función de los resultados obtenidos, un nivel de inclusión se eligió para ser estudiado en vacuno durante 42 días de tratamiento. Los resultados obtenidos de ensayos in vivo arrojan diferencias entre pequeños rumiantes y vacuno para un mismo nivel de inclusión, con una disminución de la capacidad antimetanogénica del 25-50%. En otros casos la reducción en la producción de metano se detectó solo tras 2-4 semanas de tratamiento, lo que evidencia la necesidad de llevar a cabo ensayos a medio-largo plazo para confirmar los resultados obtenidos in vitro.

Los análisis de la posible transferencia de metabolitos a leche mediante cromatografía de gases-masas indicó que en el caso de los aceites esenciales no se detectó transferencia alguna, mientras que los compuestos organosulfurados, en particular derivados de la alicina, se detectan tras una semana de administración hasta las 6 semanas.

La información generada en cada capítulo del proyecto está disponible en la página web ([www.smethane.eu](http://www.smethane.eu)) y los aspectos más relevantes se presentarán en estas jornadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

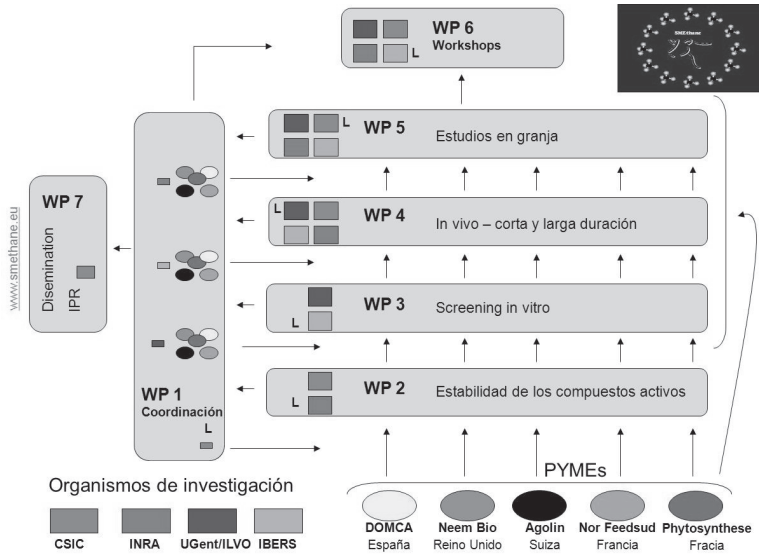
[www.smethane.eu](http://www.smethane.eu). Technological platform to develop nutritional additives to reduce methane emissions from ruminants. FP7-SME-262270.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por la Comisión Europea entro del 7º Programa Marco (Research for the Benefit of SMEs), contrato ref. 262270.

### **SMethane, A TECHNOLOGICAL PLATFORM TO DEVELOP NUTRITIOONAL ADDITIVES TO REDUCE METHANE EMISSIONS FROM RUMINANTS: PUTTING TOGETHER EFFORTS FROM INDUSTRY AND ACADEMIA.**

**ABSTRACT:** This project is designed to address the restrictions that SMEs face in successfully developing and marketing novel compounds, in particular plant extracts, capable of decreasing methane production from ruminant animals. The consortium is comprised by 5 SMEs: Agolin SA (Switzerland), DOMCA (Spain), Neem Biotech (UK) and NorFeedSud and Phytosynthese (France) plus 5 European Research Institutes and Universities: CSIC (Spain), Aberystwyth University (UK), INRA (France) and University of Ghent and ILVO (Belgium). The project was funded by the 7th FrameWork program of the European Commission through the specific call 'Research for the Benefit of SMEs' and had a duration of 2 years. The technological platform includes : 1) baseline information on the stability of plant extracts under different environmental conditions (effect of pelleting process and effect of storing at different temperatures (4, 20, 30 °C) over 1 and 2 months; 2) in vitro screening of different compounds that covers the use of different diets and pH; 3) in vivo measurements over short (7 days) and long (6 weeks) term treatments in sheep, goats, beef and dairy cattle and potential transfer of additives into milk; 4) estimation based on data obtained on the effect of including plant extract in ruminant diets on productivity, profitability (both with and without carbon credits) and greenhouse gas emissions per animals and per farm unit. This project has shown that integration of tests of nutritional additives is necessary to identify those with potential for further development. The anti-methanogenic activity varies according to factors such as diet, rumen conditions and animal species. The effect persist in some cases and in other cases needs at least 2 weeks to take place, which highlights the importance of conducting medium to long term trials.

**Keywords:** methane, ruminants, additives, plant extracts, SMEs



**Figura 1.** Representación gráfica de la plataforma tecnológica en SMETHANE.

## **EFFECTO DE LA ASOCIACIÓN FORRAJERA HABA-COLZA COMO ALTERNATIVA AL RAIGRÁS ITALIANO EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS FRISONAS DURANTE EL PERÍODO DE TRANSICIÓN**

Benaouda, M., Martínez-Fernández, A., Soldado, A., Vicente, F.  
Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). 33300 Villaviciosa (Asturias). [fvicente@serida.org](mailto:fvicente@serida.org)

### **INTRODUCCIÓN**

El período de transición, comprendido entre las 3 semanas previas al parto y las 3 posteriores, es un momento crucial en el ciclo productivo de la vaca lechera. En este período las necesidades energéticas de las vacas lecheras se incrementan debido al desarrollo fetal y las necesidades de síntesis del calostro y continúan aumentando tras el parto (Bauman y Currie, 1980). Este período se caracteriza por un descenso en el consumo de alimento en la última semana de gestación, incrementándose posteriormente durante las 3 semanas posteriores (Osborne et al., 2009). En las explotaciones lecheras de la Cornisa Cantábrica, la rotación forrajera maíz-raigrás italiano se repite de forma continua, siendo muy exigente en fertilización y ocasionando efectos negativos sobre la fertilidad del suelo. Como alternativa se presenta el cultivo asociado de habas forrajeras y colza, por la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y aceptable ensilabilidad de la leguminosa (Martínez-Fernández et al., 2010) y la capacidad de movilización de nutrientes del suelo de la colza (Vance et al., 2003). El objetivo de este trabajo fue evaluar sobre vacas frisonas durante el periodo de transición y en condiciones de pastoreo, el uso en la ración de ensilado de haba y colza forrajera en sustitución de la alimentación convencional sobre la ingestión de materia seca y la producción y la calidad de la leche tras el parto.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron dos parcelas colindantes de 1,7 ha cada una para los cultivos forrajeros, una sembrada con raigrás italiano no alternativo (RI; *Lolium multiflorum*) y otra con un cultivo asociado de habas y colza forrajeras (HC; *Vicia faba-Brassica napus*). Se efectuaron 2 cortes de RI y un corte único de la asociación HC. A partir de sus correspondientes ensilados se formularon dos raciones *unifeed* isoenergéticas e isoproteicas (Tabla 1) de acuerdo al NRC (2001). Nueve vacas frisonas en preparto con 635±25 kg de peso vivo, fueron distribuidas en dos grupos al azar, asignando a cada uno de ellos una de las dos raciones, ofertadas *ad libitum*. Tras dos semanas de adaptación se midió el consumo de alimento desde 3 semanas antes del parto hasta las 4 semanas postparto, así como la producción de leche tras el mismo. Dos concentrados adicionales, L y S, fueron aportados como suplementos energéticos. El concentrado L durante todo el ensayo a 3 kg/vaca y día y el S tras el parto a 1 kg/vaca y día. Las vacas tuvieron acceso al pasto durante 12 horas al día en 7 parcelas de 1,5 ha cada una aprovechadas en un sistema de pastoreo rotacional. El consumo de *unifeed* fue medido mediante un sistema de registro automatizado, el de los concentrados adicionales mediante alimentadores automáticos y la ingestión de hierba estimada mediante las ecuaciones propuestas por Macoon et al. (2003). Muestras de ambas raciones *unifeed* fueron tomadas semanalmente, de los dos concentrados mensualmente y de hierba cada vez que cambiaban de parcela. Tras el parto, las vacas fueron ordeñadas dos veces al día registrándose su producción y tomando una muestra de leche semanal. El valor nutritivo de los alimentos se estimó por espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS). La composición de la leche fue determinada por MilkoScan FT6000. Los datos de ingestión y producción fueron analizados usando el procedimiento GLM del SAS (1999), considerando el tipo de dieta y la semana al parto como factores principales, el animal como efecto aleatorio dentro de cada dieta y la interacción entre la dieta y la semana al parto.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 que presenta el valor nutritivo de los ensilados utilizados en las dietas, así como la composición de ingredientes y valor nutritivo de las mismas y el de los concentrados suplementarios y el pasto. El diferente valor nutritivo de los ensilados condujo a formular la ración *unifeed* basada en RI con un 21,8% más de concentrado que cuando se utilizó ensilado HC para que ambas raciones fueran isoenergéticas e isoproteicas. Por lo tanto, la relación forraje:concentrado en la dieta HC fue de 85:15, mientras que en la dieta RI fue de 80:20.

**Tabla 1.** Valor nutritivo de los ensilados de haba+colza (HC) y raigrás italiano (RI). Composición de ingredientes de las mezclas *unifeed* y química de las mezclas *unifeed*, concentrados L y S y hierba de pastoreo.

	HC	RI	Conc. L	Conc. S	Pasto
<b>Ensilado (%MS)</b>					
Materia Seca	30,05	24,20			
Materia Orgánica	91,54	89,60			
Proteína Bruta	14,48	10,71			
Fibra Neutro Detergente	63,29	47,55			
Energía Neta de lactación (Mcal/kgMS)	1,27	1,56			
<b>Mezcla <i>Unifeed</i></b>					
<b>Ingredientes (%MS)</b>					
Ensilado de Haba+Colza	75,33	---			
Ensilado de raigrás italiano	---	68,45			
Paja de cebada	9,38	11,99			
Concentrado	15,29	19,56			
<b>Composición (%MS)</b>					
Materia Seca	34,39	29,66	87,46	87,75	19,42
Materia Orgánica	89,45	89,43	92,82	91,87	87,89
Proteína Bruta	12,03	12,20	19,71	18,37	19,66
Fibra Neutro Detergente	61,79	53,34	20,94	22,95	55,32
Energía Neta de lactación (Mcal/kgMS)	1,38	1,42	1,88	1,83	1,43

El consumo de materia seca (Tabla 2) de la mezcla *unifeed* RI durante el preparto fue mayor que la ingestión de HC ( $P<0,001$ ). Sin embargo, las vacas que consumían HC compensaron esta diferencia con una mayor ingestión de hierba ( $P<0,05$ ), por lo que el consumo total de MS se compensó en ambos tratamientos (Figura 1). Tras el parto, se observó un descenso en la ingestión de mezcla RI ( $P<0,05$ ), mientras que se mantuvo la ingestión de mezcla HC. Ahora bien, la ingestión de hierba en ambos tratamientos descendió (42% en HC y 50% en RI). Posteriormente, la ingestión fue recuperándose, si bien, los animales que consumían HC mostraron un menor ritmo de recuperación de la ingestión, por lo que tras 4 semanas postparto, la ingestión total en el tratamiento RI fue mayor que en tratamiento HC (18,9 vs. 15,5 kg MS/día respectivamente,  $P<0,01$ ; Figura 1).

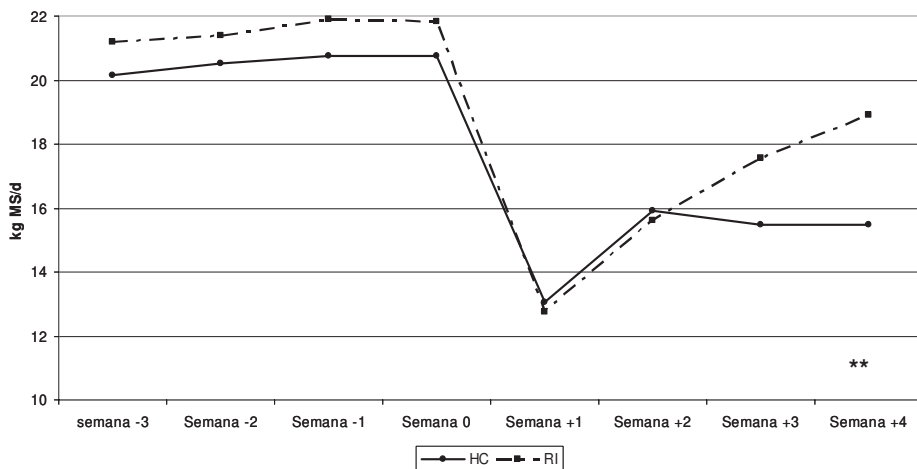
**Tabla 2.** Consumo diario de mezclas *unifeed*, de hierba y total y composición de la leche producida en cada uno de los tratamientos, antes y después del parto.

Dieta (D)	HC		RI		rsd	D	P	D*P
Periodo (P)	Pre	Post	Pre	Post				
Kg <i>unifeed</i>	6,78	6,91	10,69	8,40	0,278	***	0,06	*
Kg Hierba	12,02	5,00	9,49	4,72	0,346	*	***	NS
Kg Total <sup>1</sup>	20,59	14,99	21,59	16,21	0,278	*	***	NS
Kg Leche		28,42		28,04	0,365	NS		
% Grasa		3,97		4,30	0,086	0,08		
% Proteína		3,37		3,30	0,035	NS		

<sup>1</sup> Incluye el consumo de concentrados L y S adicionales



La producción y composición de leche no se vio afectada por la alimentación, aunque las vacas de la dieta RI mostraron tendencia a una mayor concentración de grasa (Tabla 2).



**Figura 1.** Consumo diario total de materia seca según tratamiento.

Los resultados del presente trabajo muestran que el ensilado la asociación forrajera HC puede ser una alternativa al ensilado del RI en la dieta de vacas en transición permitiendo reducir el aporte de concentrado en la ración. En las primeras semanas de lactación, la producción de leche no se ve afectada por el menor consumo diario de MS en el tratamiento HC. Ahora bien, es necesario realizar más estudios para determinar cómo afecta este hecho al desarrollo de la lactación y a función reproductiva.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bauman D. E., & Currie W. B. 1980. *J. Dairy Sci.* 63:1514–1529. • Macoon B., Sollenberger L. E., Moore J. E., Staples C. R., Fike J. H. & Portier K. M. 2003. *J Anim Sci.* 81: 2357-2366. • Martínez-Fernández A., Soldado A., Vicente F., Martínez A. & de la Roza Delgado B. 2010. *Agr. Food Sci.*, 19; 302-312. • NRC 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. National Academy Press. 381 pp. • Osborne V. R., Odongo N. E. Cant J. P., Swanson K. C. & McBride B. W. 2009. *J. Dairy Sci.* 92:698-707. • SAS 1999. *User's Guide. Release 8.2*. SAS Institute. • Vance C. P., Uhde-Stone C. & Allan D.L. 2003. *New Phytol.* 157: 423-447.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado mediante el proyecto INIA RTA2011-00112-00-00.

## EFFECT OF FAVA BEAN-RAPESEED ASSOCIATION AS AN ALTERNATIVE TO ITALIAN RYEGRASS IN TRANSITION DAIRY COWS

**ABSTRACT** The aim was to study the possibility of the use of the fava bean-rapeseed silage as an alternative to the Italian raygrass silage in dairy cows rations during the transition period. Nine dairy cows, divided in two groups, feeding diets based on fava bean-rapeseed silage or Italian raygrass silage under grazing conditions. The dry matter intake of unfieed of fava bean-rapeseed was a 28% lower than that of Italian ryegrass. However, this difference was compensated by a greater intake of pasture grass. The production and composition of milk was similar between treatments. The fava bean-rapeseed association could be an alternative to the Italian ryegrass for feeding transition dairy cows, allowing to reduce the supply of concentrate in the diet.

**Keywords:** *Italian raygrass silage, fava bean-rapeseed silage, transition dairy cow, milk*

## **EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON GRASA SOBREPASANTE SOBRE LA CONDICIÓN CORPORAL Y LA FERTILIDAD DE VACAS BRAHMAN**

Jiménez, F<sup>1</sup>., García, A<sup>1</sup>., Quintero, A<sup>1</sup>. y Rojas, N<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias, Núcleo Rural. Avenida Goajira. Maracaibo, Venezuela 4001. E-mail: florencio.jimenez@fcv.luz.edu.ve

### **INTRODUCCION**

El consumo insuficiente de energía es probablemente el principal factor nutricional que influye sobre la fertilidad y el comportamiento reproductivo, originando un retraso en la maduración sexual y menores tasas de concepción (Nebel y McGilliard, 2000). Como resultado se produce un efecto adverso sobre la fertilidad (Staples y Thatcher, 2007). Las vacas de la mayoría de los rebaños muestran un rango en tamaño y musculatura, de manera que la condición corporal (CC) es la mejor medida de la grasa corporal y más confiable indicador del estado nutricional cuando se compara con el peso vivo. Aún cuando las vacas con más alta CC tienden a ser más pesadas, el peso corporal sólo, no es un buen estimador de la CC, debido a que el peso vivo es afectado por el llenado del tracto digestivo el cual depende de la calidad del forraje, del estado de preñez y del tamaño del animal (García, 1998).

Por todo lo antes expuesto, el objetivo de la investigación fue determinar el efecto de la grasa sobrepasante sobre la CC y la fertilidad de vacas *Brahman* de primer parto en una unidad de producción en Santa Bárbara de Zulia, Venezuela.

### **MATERIAL Y METODOS**

Se utilizaron un número de 60 novillas *Brahman*, con una edad comprendida entre 25 y 30 meses y un peso promedio de 470±10,056 kg, numeradas, libres de brucelosis. Las novillas preñadas se agruparon en 3 tratamientos de 20 animales cada uno. La suplementación pre-parto se realizó por espacio de 30 días antes de la fecha de parto. La suplementación post-parto se suministró por 90 días iniciándose el día del parto. La grasa utilizada fue una mezcla de ácidos grasos de aceites vegetales para el consumo animal (VITALAC 100®). Al Tratamiento 1 (Control) y 3 no se le agregó grasa sobrepasante mientras que el Tratamiento 2 sí recibió 150 g por animal. En cuanto al suplemento constituido por afrecho de trigo (2 kg/día) solo les fue suministrado a los tratamientos 2 y 3. Durante el desarrollo de las etapas pre y post-parto se hicieron las siguientes prácticas: evaluación de la condición corporal (CC) y pesaje de las novillas en cada tratamiento. Se evaluaron de la aparición de los celos postparto, servicios por inseminación artificial (IA) y evaluaciones ginecológicas 45 días post-servicio para diagnóstico de gestación. Las evaluaciones ginecológicas se realizaron por palpación transrectal. Los datos obtenidos durante el ensayo fueron evaluados a través de un diseño completamente aleatorizado, utilizando un análisis de la varianza-covarianza del paquete estadístico del SAS (Statistical Analysis System, 2002).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 se observa que el peso y la CC están afectados por el Tratamiento, y no sólo el tratamiento sino también la etapa (pre-parto y post-parto) denotándose una alta significancia ( $P < 0,05$ ) entre la etapa fisiológica y las variables (peso y la CC). Así mismo, el tratamiento suplementación + grasa sobrepasante superó en peso y en CC a los animales de los tratamientos control y suplementación sin grasa sobrepasante tanto en el preparto como en el post-parto encontrándose diferencias significativas entre estos tratamientos ( $P < 0,05$ ) y otro hallazgo importante es que no hubo diferencias significativas entre el tratamiento control y el tratamiento suplementación sin grasa de sobrepaso en cuanto a las variables peso y CC en el pre y post-parto.

**Tabla 1.** Efecto de la interacción Tratamiento-Etapa Fisiológica sobre el Peso y la Condición Corporal de Vacas Brahman suplementadas y no suplementadas con grasas de sobrepeso.

Tratamientos			Etapa Fisiológica	Peso (Kgs)	Condición Corporal
Control			Pre-parto	462,5±1,90b	5,80±0,08b
			Postparto	439,5±0,99c	4,72±0,04c
Suplementación sobrepasante	+	Grasa	Pre-parto	474,3±1,90a	6,35±0,08a
			Postparto	473,6±0,99a	6,51±0,04a
Suplementación sobrepasante	sin	Grasa	Pre-parto	466,9±1,90ab	5,94±0,08b
			Postparto	444,2±0,99c	4,92±0,04c

(a-c): Letras diferentes entre valores de filas implican diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

Cuando evaluamos fertilidad, la Tabla 2, muestra el efecto que ejercen los tratamientos sobre la aparición de celos y la IA, es decir, vacas que manifestaron signos de celo fueron inseminadas según la metodología AM-PM, es de hacer notar que la suplementación con grasas de sobrepeso estimuló la aparición de estros en vacas primíparas Brahman, 19 vacas manifestaron signos de celo (95%) y fueron inseminadas en comparación con 12 vacas (60%) del tratamiento control y 13 vacas (65%) del tratamiento suplementación sin grasa sobrepasante. El efecto de la aparición de celos e IA fue altamente significativo ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 2.** Efecto del Tratamiento sobre la aparición de celos e IA de Vacas Brahman suplementadas y no suplementadas con grasas de sobrepeso.

Tratamientos	Vacas en celo (%)	Vacas sin exhibición de celos (%)	Total de Vacas (%)
Control	12 (60)	8 (40)	20 (100)
Suplementación grasa sobrepasante	19 (95)	1 (5)	20 (100)
Suplementación sin grasa sobrepasante	13 (65)	7 (35)	20 (100)

En la Tabla 3 las cifras presentadas demuestran que el tratamiento suplementación mas grasa sobrepasante tiene un efecto directo sobre el diagnóstico de gestación. El Tratamiento que adiciona grasas de sobrepeso en la ración tiene un 70% de gestantes, de 20 vacas que conforman el tratamiento, 14 quedaron preñadas al momento de la revisión ginecológica, a diferencia del grupo control que solo presenta 5 vacas preñadas al momento de la revisión lo que equivale a un 25% y 15 vacas vacías lo que equivale a un 75%, del mismo modo el tratamiento que recibió suplementación sin grasas de sobrepeso presenta valores similares. Los resultados arrojados en este renglón demuestran diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) del efecto del tratamiento sobre el diagnóstico de gestación post-servicio.

**Tabla 3.** Efecto del Tratamiento sobre el Diagnostico de gestación de Vacas Brahman suplementadas y no suplementadas con grasas de sobrepaso.

Tratamientos	Vacas Preñadas (%)	Vacas Vacías (%)	Total de Vacas (%)
Control	5 (25)	15 (75)	20 (100)
Suplementación + grasa sobrepasante	14 (70)	6 (30)	20 (100)
Suplementación sin grasa sobrepasante	5 (25)	15 (75)	20 (100)

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

García, A.N. 1998. Mejora de la ganadería mestiza de doble propósito. Cap XVI: 295-324.

Nebel, R.L.; McGilliard, M.L. 2000. J. Dairy Sci 76: 3257.

Staples, C.R.; Thatcher, W.W. 2007. Pr

oc Southeast Dairy Herd Management Conference. 56 pp.

### EFFECT OF THE BYPASS FATS SUPPLEMENTATION OVER THE CORPORAL CONDITION AND FERTILITY IN BRAHMAN COWS

**ABSTRACT:** Sixty pregnant Brahman heifers were selected randomly and distributed into three treatment groups, each receiving 20 repetitions: Treatment 1 (control); Treatment 2, with a ration of wheat bran plus 150 g of bypass fats; Treatment 3, a ration based on wheat bran but without the bypass fats. The design was completely randomized, utilizing variance-covariance analysis from the SAS. Results showed that the fats had a significant effect on the body condition (BC) and weight obtaining values on the condition (pre and postpartum) and weight ( $467.86 \pm 1.28$  vs.  $452.41 \pm 0.57$ ) significant ( $P < 0.05$ ), and BC also showed significant ( $P < 0.05$ ) results, with scores of  $6.03 \pm 0.05$  and  $5.38 \pm 0.25$ . In terms of fertility, the effect of the treatment was significant ( $P < 0.05$ ) on the appearance of estrus and IA in the cows, obtaining 19 inseminated cows (95%) and one that did not evidence estrus (5%) in treatment 2 vs. 12 (60%) and 13 (65%) inseminated cows in the control and supplementation without fat treatment groups. Finally, a significant difference ( $P < 0.05$ ) was obtained when the effect of treatment was determined on pregnancy diagnosis among the inseminated cows 14 impregnated cows (70%) in the treatment group and 5 pregnant cows (25%) for the control and treatment three groups, respectively.

**Keywords:** Fat, fertility, Brahman cows

## EFFECTO DEL ENSILADO DE MAÍZ CULTIVADO CON FERTILIZACIÓN ORGÁNICA EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE DE VACA

Próspero, F.<sup>1,2</sup>, Martínez-Fernández, A.<sup>1</sup>, Soldado, A.<sup>1</sup>, Arriaga-Jordán, C. M.<sup>2</sup>, Vicente, F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). 33300 Villaviciosa (Asturias). [fvicente@serida.org](mailto:fvicente@serida.org)

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales (UAEM-ICAR), 50000 Toluca, México.

### INTRODUCCIÓN

La producción intensiva de forrajes con variedades de alto rendimiento y vinculada al uso de fertilizantes químicos y pesticidas, tiene consecuencias negativas sobre los recursos naturales como la pérdida de fertilidad del suelo, la contaminación de recursos hídricos, eutrofización de aguas superficiales, impacto sobre la atmósfera, balances negativos de carbono y otros nutrientes. Así, en las explotaciones lecheras de la Cornisa Cantábrica, la rotación forrajera más habitual bajo manejo intensivo y que se repiten de forma continua en el tiempo es la de maíz forrajero como cultivo de verano y raigrás italiano como cultivo invernal. Ambos son muy exigentes en fertilización nitrogenada y ocasionan efectos negativos sobre el suelo. Para paliar estos efectos, es de vital importancia la integración de cultivos sostenibles en las explotaciones lecheras por el efecto positivo que ejercen sobre la fertilidad del suelo y los costos de producción de la leche. Por otra parte, el uso como abono de residuos agroganaderos como el estiércol y el purín es una oportunidad para disminuir el aporte fertilizantes químicos manteniendo la producción agrícola (Martínez-Fernández et al., 2003). Ahora bien, es necesario que los forrajes así producidos aseguren su eficacia tanto en valor nutritivo como su respuesta en cuanto a producción y calidad de la leche. El objetivo de este trabajo fue evaluar sobre vacas lecheras en condiciones de pastoreo y con mínimo aporte de concentrado, el uso en la ración de ensilado de maíz producido con fertilización química u orgánica sobre la producción y la calidad de la leche.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Dos parcelas adyacentes (QU y OR) de 1,7 ha cada una se utilizaron para cultivar maíz forrajero (*Zea mays* cv. "LG3377") para su aprovechamiento como ensilado. La parcela QU recibió un abonado convencional NPK en base a fertilizantes de síntesis mientras que la parcela OR fue fertilizada con purín y estiércol de vacuno con aportes de N equivalentes. A partir de los ensilados producidos, se formularon de acuerdo al NRC (2001) dos raciones *unifeed*, isoenergéticas e isoproteicas.

Dieciocho vacas frisonas con  $137 \pm 52$  días en leche,  $590 \pm 8.0$  kg de peso vivo, una condición corporal de  $2.56 \pm 0.055$  y una producción diaria de  $24,8 \pm 5.92$  L de leche fueron distribuidas en dos grupos de nueve vacas, asignados al azar a cada una de las dos raciones ofertadas *ad libitum* durante 74 días. Las raciones estaban compuestas por ensilado de maíz (QU u OR), ensilado de raigrás italiano, paja de cebada y concentrado. Dos concentrados adicionales, ajustados en función del nivel de producción, fueron aportados como suplementos energéticos durante el ordeño. Las vacas tuvieron acceso al pasto durante 6 horas al día en 7 parcelas de 1,5 ha cada una aprovechadas en un sistema de pastoreo rotacional. El consumo de *unifeed* fue medido mediante un sistema de registro automatizado, el de los concentrados adicionales mediante alimentadores automáticos del sistema de ordeño y la ingestión de hierba estimada mediante las ecuaciones propuestas por Macoon et al. (2003). Muestras de ambos tipos de raciones *unifeed* fueron tomadas semanalmente, de los dos concentrados mensualmente y de la hierba cada vez que cambiaban de parcela de pastoreo. Las vacas eran ordeñadas dos veces al día, registrándose su producción y tomando una muestra de leche.

El valor nutritivo de los alimentos se estimó por espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS). En leche, la composición química fue determinada por MilkoScan FT6000 y la cuantificación de AG por cromatografía de gases-masas (Varian 4000 GC-MS) previa extracción de grasa (Feng et al., 2004) y metilación de AG (Chouinard et al. (1999). Los datos de alimentos y

leche tomados durante todo el ensayo fueron analizados usando el procedimiento MIXED del SAS (1999), considerando el tipo de dieta como factor principal.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los dos tipos de ensilado de maíz (QU y OR) presentaron una composición química similar, excepto una mayor concentración de almidón en el ensilado OR que en el QU que le confirió un mayor aporte energético (Tabla 1). Esto permitió formular la ración *unifeed* con un 5,9% menos de concentrado cuando se utilizó ensilado OR que cuando se utilizó ensilado QU para que ambas raciones fueran isoenergéticas e isoproteicas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valor nutritivo de los ensilados de maíz según fertilización orgánica (OR) o química (QU), Composición de ingredientes y química de la mezcla *unifeed*.

	OR	QU
<b>Ensilado de maíz (%MS)</b>		
Materia Seca	36,90	36,50
Materia Orgánica	95,59	95,15
Proteína Bruta	8,59	8,89
Almidón	35,55	30,52
Energía Metabolizable (MJ/kgMS)	11,30	11,19
<b>Mezcla <i>Unifeed</i></b>		
<b>Ingredientes (%MS)</b>		
Ensilado de maíz	30,81	31,10
Ensilado de raigrás italiano	38,84	37,48
Paja de cebada	7,69	7,42
Concentrado	22,66	23,99
<b>Composición (%MS)</b>		
Materia Seca	47,22	45,30
Materia Orgánica	90,47	90,03
Proteína Bruta	12,43	13,07
Fibra Neutro Detergente	42,35	43,87
Energía Neta de lactación (Mcal/kgMS)	1,50	1,51

Los consumos diarios de materia seca de la mezcla *unifeed*, concentrados suplementarios y hierba se muestran en la Tabla 2. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos, si bien cuando la mezcla *unifeed* estaba elaborada con ensilado de maíz QU, el consumo total de materia seca fue un 10% superior que cuando estaba formulada con ensilado de maíz OR. Ello es debido a una mayor ingestión de hierba durante el pastoreo por los animales que consumían el tratamiento QU (5,4 vs. 4,3 kg/d para los tratamientos QU y OR respectivamente,  $P > 0,05$ ).

**Tabla 2.** Consumo de alimentos (kg MS/d) en cada uno de los tratamientos.

	OR	QU	eem	P
Mezcla <i>Unifeed</i>	12,24	12,89	1,085	NS
Concentrados Sup	0,94	0,96	0,249	NS
Hierba	4,31	5,40	0,982	NS
Total	17,49	19,25	0,932	NS

En la Tabla 3 se muestra la producción de leche diaria, así como el porcentaje de grasa, proteína y lactosa. No se observan diferencias significativas entre tratamientos ni en producción (25,2 y 25,7 L/d en los tratamientos OR y QU) ni en la composición de grasa (3,89% en ambos grupos), proteína (3,26%) ni lactosa (4,89%). El perfil de ácidos grasos fue similar también entre tratamientos excepto en las concentraciones de ácidos linoleico y linolénico. El tratamiento QU tuvo una menor ( $P < 0,05$ ) concentración de 18:2 n-6 y mayor

( $P < 0,01$ ) de 18:3 n-3 que el tratamiento OR, como reflejo de la mayor ingestión de hierba en este tratamiento. Estos resultados concuerdan con otros estudios (Morales-Almaráz et al. 2010) que estudiando diferentes niveles de pastoreo observaron mayores niveles de ácidos grasos insaturados en leche al aumentar la ingestión de pasto.

**Tabla 3.** Producción (kg/d), composición (g/kg) y ácidos grasos C18 (g/100g AG) de la leche.

	OR	QU	eem	P
Producción	25,17	25,72	2,068	NS
Grasa	3,89	3,88	0,148	NS
Proteína	3,26	3,26	0,127	NS
Lactosa	4,89	4,89	0,219	NS
18:0	13,12	12,57	0,299	NS
18:1 c9	21,16	20,64	0,456	NS
18:1 t11	1,66	1,54	0,087	NS
18:2 n-6	1,39	1,16	0,047	*
18:2 c9 t11	0,60	0,66	0,043	NS
18:3 n-3	0,36	0,49	0,018	**

El uso de fertilización orgánica en el cultivo de maíz para ensilar, permite reducir la proporción de concentrado en la ración de vacas lecheras y no incrementa la ingestión voluntaria de hierba en animales en pastoreo. La alimentación con raciones basadas en este tipo de ensilado no produce variaciones ni en la producción ni en la composición de la leche. Las diferencias observadas en la concentración de ácido linoleico y linoléico se atribuyen al mayor consumo de hierba en los animales que consumen mezcla *unifeed* basada en ensilado de maíz cultivado con fertilización química.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chouinard P. Y., Corneau L., Barbano D. M., Metzger L. E. & Bauman D. E. 1999. *J Nutr.* 129: 1579-1584. • Feng S., Lock A. L. & Garnsworthy P. C. 2004. *J Dairy Sci.* 87: 3785-3788. • Macoon B., Sollenberger L. E., Moore J. E., Staples C. R., Fike J. H. & Portier K. M. 2003. *J Anim Sci.* 81: 2357-2366. • Martínez-Fernández A., Pedrol N., Alperi J. 2003. *Siembra de Praderas* KRK Ed. 89 pp. • Morales-Almaráz E., Soldado A., González A., Martínez-Fernández A., Domínguez-Vara I., de la Roza Delgado B. & Vicente F. 2010. *J Dairy Res.* 77: 225-230. • NRC 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. National Academy Press. 381 pp. • SAS 1999. *User's Guide. Release 8.2*. SAS Institute.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado mediante el proyecto INIA RTA2011-00112-00-00. La estancia de F. Próspero ha sido financiada por CONACYT-México.

### EFFECT OF MAIZE SILAGE CULTIVATE WITH ORGANIC FERTILIZATION ON PRODUCTION AND QUALITY OF MILK

**ABSTRACT** The aim was evaluate the influence of type of fertilization on maize culture to ensile in dairy cows rations as a strategy to improve the profitability of milk production. The composition of the maize silages growing with conventional (QU) or organic (OR) fertilization were similar, except a higher concentration of starch and energy on OR silage than on the QU silage. The use of organic fertilizers in the culture of maize silage, reduces the proportion of concentrate in the ration of dairy cows and does not increase the voluntary intake of grass in grazing cows. Feeding dairy cows with rations based on this type of silage do not affect either the production nor the composition of milk. The differences observed in the concentration of linoleic and linolenic acids are attributed to increase of grass intake in cows feeding unifeed based on silage of maize cultivated with chemical fertilizers.

**Keywords:** Fertilization, maize silage, dairy cow; milk

## EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN TRIBUTIRINA EN EL LACTO-REEMPLAZANTE SOBRE EL METABOLISMO DE TERNEROS FRISONES

G. Araujo<sup>1\*</sup>, A. Bach<sup>1,2</sup>, A. Mereu<sup>3</sup> y I. Ipharraguerre<sup>3</sup>

<sup>1</sup>IRTA –Producció de Remugants, 08140 Barcelona. \*gemma.araujo@irta.cat

<sup>2</sup>ICREA (Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats), 08010 Barcelona.

<sup>3</sup>Lucta S.A., 08170 Barcelona.

### INTRODUCCIÓN

El ácido butírico es un ácido graso volátil naturalmente presente en la leche de vaca al que se le han otorgado efectos positivos sobre el desarrollo morfológico del rumen, el crecimiento, la digestibilidad y la eficiencia reportada al suplementar en lacto-reemplazantes de terneros lactantes (Guilleteau, 2004; Hill et al., 2007; Górka et al., 2011ab). La tributirina es un triglicérido análogo del butirato menos oloroso y más estable en plasma que el ácido o sus sales. El butirato tiene efectos sobre el metabolismo al influir en la secreción de glucagón e insulina (Manns and Boda, 1967; Jordan and Phillips, 1978) de forma que no está bien definido si sus efectos positivos son debidos a la acción de las hormonas secretadas o al efecto del ácido graso volátil como fuente de energía para las células.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Treinta y seis terneros Frisones de  $45,7 \pm 5,9$  kg de peso vivo y  $11,9 \pm 3,0$  días de edad fueron distribuidos aleatoriamente en dos tratamientos: el grupo control (CTR) y el grupo suplementado con tributirina (3 g/kg MS de lacto-reemplazante, LR) (TRB). Los animales se alojaron en casetas individuales (1,6 x 1,0 m) y encamados con serrín durante los 42 días que duró el estudio. Se alimentaron con 4 L/d del mismo LR (25% PB y 19,2% grasa) al 15% de dilución, repartidos en dos tomas, hasta el día 35 de estudio. La semana del día 35 al 42 de edad los terneros sólo recibieron 2 L de LR al 15% de dilución en una toma. En el día 42 de estudio los terneros fueron totalmente destetados. Los animales tenían acceso a pienso (20% PB y 3,8% grasa) y agua ad libitum en cubos individuales a excepción de 5 terneros por tratamiento al que se les limitó la ingesta de pienso a 100 g/d las primeras 2 semanas, 150 g/d las dos siguientes y 200 g/d las dos últimas semanas de estudio. El consumo de LR, concentrado y forraje se controló a diario, y los terneros fueron pesados semanalmente. Cada 14 días se sacaron muestras de sangre de todos los terneros para medir glucosa, insulina, GLP-1 y BHBA antes (h=0) y 60 minutos después de la toma de LR de la mañana (h=60). Se realizaron tests de tolerancia a la glucosa (TTG) a los 10 terneros con ingesta limitada de pienso los días 0 y 42 de estudio.

Los datos de los 10 terneros con ingesta limitada de pienso no se incluyeron en el análisis estadístico de los parámetros productivos. Los parámetros productivos y de los TTG se analizaron utilizando un análisis de la varianza con medidas repetidas. El modelo estadístico incluía el peso y la edad inicial del animal como covariables, el tratamiento, el día de estudio y su interacción como efectos fijos, y el animal como efecto aleatorio. Los parámetros relacionados con la sangre se analizaron de la misma forma incluyendo la hora de obtención de muestra (0 o 60 min) como medida repetida en el modelo.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ingesta de concentrado tendió ( $P=0,06$ ) a ser mayor para los terneros CTR pero el consumo total de MS fue mayor ( $P<0,01$ ) para el grupo CTR comparado con el grupo TRB ( $1042$  vs  $924 \pm 38,3$ g MS; respectivamente) debido a un consumo menor ( $P<0,01$ ) de LR en los terneros TRB por mayores rechazos durante los primeros días de estudio. Además, el peso vivo (PV), la GMD y la eficiencia alimentaria fueron también mayores ( $P<0,01$ ,  $P<0,05$ ) para los terneros CTR comparados con los del grupo TRB ( $68,2$  vs  $63,8 \pm 0,94$  kg;  $0,53$  vs  $0,42 \pm 0,024$  kg;  $0,57$  vs  $0,48 \pm 0,026$  kg; respectivamente) posiblemente debido a un crecimiento retardado de los terneros del



grupo TRB durante los primeros días de estudio. Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Guilloteau et al. (2004 y 2009); Hill et al. (2007) y Górká et al. (2011b). Los resultados de los parámetros metabólicos de este trabajo se presentan en la Tabla 1. No se encontraron diferencias en las concentraciones medias de GLP-1, BHBA y glucosa en plasma aunque, de forma parecida a lo que encontraron Górká et al. (2011), la evolución de las concentraciones de BHBA en plasma tendió ( $P=0,08$ ) a ser distinta entre los tratamientos. Esto se debió a que en el día 14 del estudio los niveles de BHBA antes y después de la toma de LR de la mañana tendieron a ser menores para el grupo CTR. Los terneros CTR presentaron una concentración de insulina mayor ( $P<0,05$ ) en plasma y los niveles de glucosa e insulina también evolucionaron distintamente ( $P<0,001$  y  $P<0,001$ , respectivamente) en el tiempo entre tratamientos. Estos resultados son similares a los que reportaron Górká et al. (2011), ya que el niveles de glucosa a los 60 minutos de la toma de LR para el grupo TRB aumentó hasta más tarde ( $P<0,05$ ) en el tiempo (d 28 vs d 14) que el grupo CTR y, por otro lado, la insulina del grupo CTR disminuyó ( $P<0,05$ ) entre el d 14 y el 28 mientras que en el grupo TRB se mantuvo igual. Esto podría indicar una variación en la capacidad de transición a fuentes de energía alternativas a la glucosa (Benschop y Cant, 2009). En la Tabla 2 se presentan los resultados de los test de tolerancia a la glucosa. Al final del estudio, los terneros del grupo TRB tuvieron un pico de glucosa mayor ( $P<0,05$ ) al grupo CTR ( $116,3$  vs  $64,3 \pm 11,35$  mg/dL; respectivamente) y una tasa de eliminación de la glucosa que tendió ( $P=0,1$ ) a ser mayor para el grupo CTR ( $7,1$  vs  $43,5 \pm 11,35$  mmol/L\*minuto; respectivamente). La insulina mínima y el tiempo al pico de glucosa tendieron ( $P=0,07$ ) a ser mayores para el grupo CTR ( $8,1$  vs  $3,3 \pm 1,28$   $\mu$ U/mL y  $8$  vs  $4 \pm 0,95$  min; respectivamente) lo cual indica una diferencia en la secreción de insulina entre grupos. En conclusión, no hay evidencias de que la adición de butirato en forma de tributirina al LR tenga efectos sobre las concentraciones de BHBA y GLP-1 en plasma de los terneros lactantes Frisones ni mejore los parámetros productivos. Sin embargo, tiene un efecto en la hemodinámica de la glucosa y la insulina.

#### **EFFECTS OF SUPPLEMENTING THE MILK REPLACER WITH TRIBUTYRIN ON THE METABOLISM OF HOLSTEIN CALVES**

**ABSTRACT:** Butyrate in the form of sodium butyrate (SB) is often used as an additive for milk replacers (MR) to improve calf and piglet performance. Tributyrin (TRB) is a triglyceride containing equivalent amounts of butyrate than SB but in a more stable form. Thirty-six Holstein calves ( $45.7 \pm 5.9$  kg of BW and  $11.9 \pm 3.0$  d of age) were fed 4 L/d of MR and water and starter feed ad libitum. Calves were randomly distributed in 2 groups. Milk replacer was either unsupplemented (CTR) or supplemented with 3 g of tributyrin per kg of DM (TRB). Five calves per group were restricted at 200 g/d of starter and these calves were subjected to glucose tolerance tests (GTT) to assess resistance on days 0 and 42 of study. Calves were blood-sampled every 14 d for glucose, insulin, GLP-1 and BHBA before and 60 min after the morning MR offer. Calves in the CTR group showed better performance parameters. No differences were found in plasma GLP-1, BHBA, insulin, and glucose between treatments. However, evolution of plasma BHBA along time tended to differ ( $P<0.08$ ) because on day 14, plasma BHBA concentration before and after MR feeding was similar for TRB calves while CTR calves tended ( $P=0.06$ ) to have a lesser concentration after MR. Evolution of plasma glucose and insulin across time also differed ( $P<0.001$  and  $P<0.001$ , respectively) between treatments. Plasma glucose after morning MR take increased later ( $P<0.05$ ) in time in TRB than in CTR calves; but CTR calves had greater ( $P<0.05$ ) insulin levels on day 14 than 28. Results from the GTT showed that glucose peak and GCR on day 42 were greater ( $P<0.05$ ) for TRB than for C calves ( $3.5$  vs  $5.8 \pm 0.69$  mmol/L and  $4.6$  vs  $17.3 \pm 3.09$  mmol/Lxmin; respectively) which indicates a different insulin secretion pattern between treatments. In conclusion, these results demonstrate that butyrate supplementation in the form of tributyrin at 3 g/kg of MR modulates

glucose and insulin hemodynamic but does not alter BHBA and GLP-1 plasma concentration nor increases performance.

**Keywords:** tributyrin, newborn calves, glucose metabolism

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Benschop, D.L., J.P. Cant. 2009. *Livestock Sc.* 122 177–185. • Górka, P., Z. M. Kowalski, P. Pietrzak, A. Kotunia, W. Jagusiak, J. J. Holst, P. Guilloteau and R. Zabielski. 2011b. *J. Dairy Sci.* 94:5578–5588. • Górka, P., Z. M. Kowalski, P. Pietrzak, A. Kotunia, W. Jagusiak, and R. Zabielski. 2011a. *J. Dairy Sci.* 94:3002–3013. • Guilloteau, P., V. Rome, L. Le Normand, G. Savary, and R. Zabielski. 2004. *Anim. Feed Sci.* 13 (Suppl. 1):393–396. • Hill, T. M., J. M. Aldrich, R. L. Schlotterbeck, and H. G. Bateman II. 2007. • Jordan, H. N. and Phillips, R. W. 1978. *Am. J. Physiol.* 234:162-167. • Manns, J. G. and Boda, J. M. 1967. *Am. J. Physiol.* 212:747-755.

**Tabla 1.** Efecto de la suplementación con tributirina (3 g/kg MS de lacto-reemplazante) sobre parámetros metabólicos medidos en sangre.

	Tratamiento <sup>1</sup>			P-valores <sup>2</sup>					
	CTR	TRB	SE	ttm	d	h	ttm*d	ttm*h	ttm*d*h
GLP-1, pg/mL	44,1	44,1	1,2	0,96	<,0001	<,0001	0,11	0,71	0,88
BHBA, mmol/L	0,09	0,09	0,006	0,84	<,0001	<,0001	0,82	0,11	0,08
Glucosa, mg/dL	109,7	106,8	2,67	0,45	<,0001	<,0001	0,32	0,64	<,0001
Insulina, µU/ml	2,68 <sup>a</sup>	2,42 <sup>b</sup>	0,079	0,03	<,0001	<,0001	0,78	0,28	0,0003

<sup>1</sup>CTR=grupo control, TRB=grupo suplementado con tributirina; <sup>2</sup>ttm=tratamiento, d=día de estudio, h=hora toma muestra (antes o 60 minutos después de la toma de LR de la mañana)

**Tabla 2.** Efecto de la suplementación con tributirina (3g/kg MS de lacto reemplazante) sobre la tolerancia a la glucosa de terneros lactantes Frisones.

Parámetros <sup>1</sup>	Medias <sup>2</sup>				SE	P-valores <sup>3</sup>			
	CTR		TRB			ttm	periodo		ttm*periodo
	periodo 1	periodo 2	periodo 1	periodo 2					
Glucosa, mmol/L	114,57	118,14	115,28	118,42	4,867	0,73	0,13	0,18	
Insulina, µU/ml	18,31	29,15	23,16	39,96	6,350	0,25	0,07	0,65	
AGBC, mmol/L	1294,78	1716,48	1358,65	1463,89	222,662	0,65	0,31	0,53	
AIBC, µU/ml	599,12	860,19	897,33	1471,75	369,261	0,24	0,31	0,69	
Pico glucosa, mmol/L	73,14	64,31	75,39	116,35	11,353	0,06	0,15	0,04	
Glucosa mínima, mmol/L	6,80	7,47	6,55	4,59	2,534	0,37	0,84	0,69	
Pico insulina, µU/ml	29,48	39,29	44,60	76,01	15,341	0,16	0,18	0,46	
Insulina mínima, µU/ml	1,78	8,13	2,02	3,27	1,281	0,13	0,02	0,07	
TPG, minutos	4	8	4	4	0,95	0,07	0,07	0,07	
TGM, minutos	35,40	50,00	34,00	24,20	7,333	0,10	0,75	0,14	
TPI, minutos	9,60	8,84	8,00	8,80	0,792	0,40	0,97	0,25	
TIM, minutos	42,40	29,09	47,00	38,00	7,212	0,32	0,21	0,80	
TEG, mmol/L*minuto	11,21	7,07	9,63	43,48	10,241	0,14	0,18	0,10	
TEI, µU/ml*minuto	13	10,3	8,7	11,7	3,14	0,40	0,94	0,42	
Tiempo glucosa basal, minutos	31,4	41,2	30,0	20,2	7,47	0,15	0,99	0,25	
Tiempo insulina basal, minutos	114,57	118,14	115,28	118,42	4,861	0,73	0,13	0,18	
Ratio insulina glucosa	18,31	29,15	23,16	39,96	6,352	0,25	0,07	0,65	

<sup>1</sup>AGBC=área glucosa bajo curva; AIBC=área insulina bajo curva, TPG=tiempo pico glucosa, TGM=tiempo glucosa mínima, TPI=tiempo pico insulina, TIM=tiempo insulina mínima, TEG=tasa de eliminación de glucosa, TEI=tasa de eliminación de insulina; <sup>2</sup>CTR=grupo control, TRB=grupo suplementado con tributirina; <sup>3</sup>ttm=tratamiento,

## EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE PARTE DE LA PROTEÍNA DE LA DIETA POR UREA, Y DE PARTE DE LA DIETA POR ORUJO DE OLIVA, SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE TERNEROS EN CEBO INTENSIVO

Estaún<sup>1</sup>, J., Dosiñ<sup>2</sup>, J., Sánchez<sup>1</sup>, W., Gimeno<sup>1</sup>, A. y de Vega<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. España. avega@unizar.es.

<sup>2</sup> Agropecuaria Santas Masas. Santas Masas, 3. 22587 Castigaleu (Huesca). España.

### INTRODUCCIÓN

La mayor parte de la carne de vacuno producida en España procede de animales alimentados con pienso distribuido *ad libitum* y paja de cereales, suponiendo el concentrado en torno al 90% del total de la materia seca consumida. El coste de este tipo de dietas es muy elevado, y la utilización de subproductos provenientes de la industria agroalimentaria supone a menudo una solución técnica adecuada para reducir el coste de las raciones. En España se producen entre 2,5 y 6 millones de toneladas anuales de subproductos de la oliva, habiéndose estudiado el efecto de la inclusión de algunos de ellos sobre los rendimientos productivos de ovejas y cabras (Martín et al., 2003), así como de vacas lecheras (Hadjipanayiotou, 1999). Sin embargo, no parecen existir datos de ensayos con ganado vacuno en crecimiento. Además, en la mayoría de los casos se ha trabajado con orujo de oliva de primera extracción, no existiendo referencias en la bibliografía sobre la utilización del residuo de la extracción de aceite de orujo.

Johnson (1976) estableció que en el caso de animales alimentados con cereales cuyo almidón presenta un alto ritmo de fermentación, la adición de urea debería de suponer una ventaja para la funcionalidad del rumen por su alta degradabilidad. Sin embargo, Reynolds y Kristensen (2008) argumentan que estos supuestos beneficios de la sincronización de la liberación de nitrógeno y energía no son observados con frecuencia en la realidad.

En el presente trabajo se planteó el objetivo de estudiar el efecto de la inclusión de orujo de oliva de segunda extracción, deshuesado y deshidratado, en proporciones del hasta el 20% de la materia seca total, y el efecto de la sustitución del 20% de la proteína de una dieta constituida por cebada como cereal mayoritario por urea, como fuente de nitrógeno degradable, sobre los rendimientos productivos de terneros en cebo intensivo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Ciento sesenta terneros (138±1,4 kg y 129±1,1 días), en su mayoría frisonas, fueron distribuidos en ocho lotes de veinte animales cada uno, correspondientes a cuatro tratamientos con dos réplicas por tratamiento. Los tratamientos consistieron en un control (C) constituido por cebada como cereal mayoritario, el mismo control sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea (U), el control sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado (92,5% de materia orgánica-MO, 12,3% de proteína bruta-PB, 2,25% de extracto etéreo-EE, 61,1% de fibra neutro detergente-FND, 49,1% de FAD y 26,0% de lignina ácido detergente-LAD) (O10), y el control sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva (O20). El ensayo se llevó a cabo en dos fases del crecimiento de los animales: de 100 a 250 kg (12 semanas de duración), y de 250 a 450 kg (18 semanas). Los piensos fueron ofrecidos *ad libitum*, y como forraje se administró paja de cebada a libre disposición. Los animales se pesaron cada tres semanas, estimándose la ganancia media diaria (GMD; kg/día) por regresión entre esta variable y los días tras la primera pesada (que representa el peso vivo inicial). Los piensos de la primera fase se formularon para que contuvieran un 16-17% de proteína, y aproximadamente a la mitad de esta primera fase se llevó a cabo un balance de digestibilidad de la MS, MO, PB y FND con cuatro animales por tratamiento. Durante la segunda fase, de dieciocho semanas de duración, los piensos se formularon para contener un 14,5-15% de proteína, y solamente se registró el peso de los animales.

Los efectos de los tratamientos sobre la GMD de los animales y sobre la digestibilidad de las dietas fueron analizados mediante un análisis de varianza de una vía, utilizando el paquete estadístico SAS (versión 9.2). Las diferencias entre tratamientos fueron analizadas mediante test de valores pareados. Tanto la GMD como el peso vivo final fueron corregidos por covarianza, utilizando el peso vivo inicial como covariable.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición de los piensos y de la paja fue muy similar en las dos fases (Tabla 1), estando los contenidos en proteína de los concentrados dentro de los rangos previstos durante su formulación. Los contenidos en FND, FAD y LAD de los piensos que incorporaban orujo fueron superiores a los de las dietas C y U, con mayores valores en el caso de la incorporación de un 20% de la MS que cuando se incorporaba sólo un 10%.

Aunque el análisis de varianza no mostró diferencias estadísticamente significativas debidas al pienso consumido ni en los pesos vivos finales ni en las ganancias medias diarias de los terneros (Tabla 2), los test de valores pareados indicaron menores pesos vivos finales y GMD en los animales que consumían el pienso O20 frente a los que ingerían el pienso O10 durante la primera fase de crecimiento ( $P < 0,05$ ).

Los valores de digestibilidad aparente (Tabla 3) no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos. Sin embargo, los test de valores pareados evidenciaron menores digestibilidades de la MS, MO y PB en los animales alimentados con la dieta O20 frente a los que lo eran con la dieta control ( $P < 0,05$ ).

Las principales conclusiones del trabajo son que la sustitución de un 20% de la proteína de la dieta por urea, y la sustitución de hasta un 20% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshidratado y deshidratado, no afectan a los rendimientos productivos de los animales, siendo su inclusión aconsejable en los piensos de vacuno de engorde en las cantidades utilizadas en el presente ensayo cuando su precio de mercado lo justifique.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hadjipanayiotou, M. 1999. *Livest. Prod. Sci.* 59: 61-66.
- Johnson, R. R. 1976. *J. Anim. Sci.* 43: 184-191.
- Martín, A. I., Moumen, A., Yáñez, D. R. & Molina, E. 2003. *Anim. Feed Sci. Technol.* 107: 61-74.
- Reynolds, C. K. & Kristensen, N. B. 2008. *J. Anim. Sci.* 86 (E. Suppl.).

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por Murilló Fresh Foods, S. L., con participación del Dpto. de Industria e Innovación del Gobierno de Aragón y el Fondo Social Europeo.

**Tabla 1.** Composición química de los piensos y la paja utilizados durante un ensayo de producción de terneros en crecimiento.

	C	U	O10	O20	Paja
<b>Animales de 100 a 250 kg</b>					
Materia seca (MS; g/kg)	87,9	86,2	87,4	88,1	94,1
Materia orgánica (g/kg MS)	92,0	91,2	91,6	91,9	94,8
Proteína bruta (g/kg MS)	17,0	16,7	17,1	16,0	3,53
Extracto etéreo (g/kg MS)	3,41	3,49	2,99	2,94	2,27
Fibra neutro detergente (g/kg MS)	18,6	17,9	22,7	26,4	78,0
Fibra ácido detergente (g/kg MS)	7,47	7,07	11,4	14,8	49,6
Lignina ácido detergente (g/kg MS)	1,05	0,79	3,21	5,15	6,12
<b>Animales de 250 a 450 kg</b>					
Materia seca (MS; g/kg)	91,4	91,3	91,6	91,3	92,7
Materia orgánica (g/kg MS)	93,1	93,1	92,7	92,6	96,4
Proteína bruta (g/kg MS)	14,8	14,8	14,9	14,6	3,27
Extracto etéreo (g/kg MS)	3,96	3,93	3,96	3,82	1,93
Fibra neutro detergente (g/kg MS)	18,4	17,2	22,7	27,0	80,6
Fibra ácido detergente (g/kg MS)	6,71	6,27	10,1	13,7	52,1
Lignina ácido detergente (g/kg MS)	0,55	0,41	2,09	4,13	5,82

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshidratado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

**Tabla 2.** Pesos vivos inicial (PVI) y final (PVF), y ganancia media diaria (GMD) de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.

	C	U	O10	O20	DRE	P
<u>Animales de 100 a 250 kg</u>						
PVI (kg)	139	137	138	138	17,6	0,9735
PVF (kg)	249 <sup>ab</sup>	252 <sup>ab</sup>	256 <sup>a</sup>	246 <sup>b</sup>	16,8	0,0771
GMD (kg/día)	1,32 <sup>ab</sup>	1,35 <sup>ab</sup>	1,40 <sup>a</sup>	1,29 <sup>b</sup>	0,205	0,1070
<u>Animales de 250 a 450 kg</u>						
PVF (kg)	387	388	389	393	25,0	0,7906
GMD (kg/día)	1,28	1,32	1,31	1,31	0,218	0,8619
<u>Animales de 100 a 450 kg</u>						
PVF (kg)	388	390	394	387	32,7	0,8231
GMD (kg/día)	1,35	1,36	1,38	1,34	0,174	0,7582

C, U, O10, O20: Para la descripción de las dietas, ver pie de la Tabla 1.

El peso vivo final de la Fase 1 coincide con el peso vivo inicial de la Fase 2; DRE: desviación residual estándar (datos faltantes); P: probabilidad de las diferencias.

<sup>a, b, c</sup> Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para  $P < 0,05$ .

**Tabla 3.** Digestibilidad aparente de la materia seca (DMS), materia orgánica (DMO), proteína bruta (DPB) y fibra neutro detergente (DFND) (%) de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.

	C	U	O10	O20	DRE	P
DMS	76,8 <sup>a</sup>	76,8 <sup>ab</sup>	75,0 <sup>ab</sup>	71,4 <sup>b</sup>	3,60	0,1723
DMO	78,2 <sup>a</sup>	78,5 <sup>a</sup>	76,1 <sup>ab</sup>	72,5 <sup>b</sup>	3,40	0,1072
DPB	75,0 <sup>a</sup>	74,7 <sup>a</sup>	75,1 <sup>ab</sup>	67,0 <sup>b</sup>	4,37	0,0772
DFND	57,1	63,2	52,9	52,2	7,35	0,2247

C, U, O10, O20: Para la descripción de las dietas, ver pie de la Tabla 1.

DRE: desviación residual estándar (dos datos faltantes); P: probabilidad de las diferencias.

<sup>a, b</sup> Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para  $P < 0,05$ .

### EFFECTS OF SUBSTITUTION OF PART OF THE DIET'S PROTEIN BY UREA, AND OF PART OF THE DIET BY OLIVE CAKE, ON PERFORMANCE OF INTENSIVELY REARED BEEF CATTLE

**ABSTRACT:** One hundred and sixty Friesian steers ( $138 \pm 1.4$  kg and  $129 \pm 1.1$  days old) were used in a randomized block design with four treatments: a control compound feed based on barley as majority cereal (C), the same control with 20% crude protein (on a dry matter (DM) basis) substituted by urea (U), control with 10% DM substituted by second-extraction pitted and dehydrated olive cake (O10), and control with 20% DM substituted by the same olive cake (O20). Compound feeds were formulated to contribute 16-17% (from 100 to 250 kg live weight-LW-) and 14.5-15% (from 250 to 450 kg LW) crude protein (CP), and were offered *ad libitum*. Barley straw was used as forage. Weight was recorded every three weeks and a digestibility trial was carried out at about 175 kg LW. Neither average daily gain (ADG) nor digestibility coefficients of DM, OM, CP and NDF were affected by diet, although there was a tendency ( $P < 0.10$ ) for CP digestibility to be lower in animals fed O20. In conclusion, substitution of 20% diet's (barley based) CP by urea, and substitution of up to 20% diet's DM by second extraction pitted and dehydrated olive cake, did not affect performance of intensively reared beef cattle.

**Keywords:** urea, olive cake, cattle, performance.

## **EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE PARTE DE LA PROTEÍNA DE LA DIETA POR UREA, Y DE PARTE DE LA DIETA POR ORUJO DE OLIVA, SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL DE TERNEROS EN CEBO INTENSIVO**

Estaún, J., Al Alami, A., Gimeno, A., Castrillo, C. y de Vega, A.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. España. avega@unizar.es.

### **INTRODUCCIÓN**

En el caso de animales alimentados con cereales cuyo almidón presenta un alto ritmo de fermentación, la adición de urea debería de suponer una ventaja para la funcionalidad del rumen por su alta degradabilidad (Johnson, 1976). Sin embargo, Reynolds y Kristensen (2008) indican que estos supuestos beneficios de la sincronización de la liberación de nitrógeno y energía no son observados con frecuencia en la práctica. El primer objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la sustitución del 20% de la proteína de una dieta constituida por cebada como cereal mayoritario por urea sobre la fermentación ruminal del ganado vacuno en crecimiento.

Por otra parte, la utilización de subproductos provenientes de la industria agroalimentaria puede reducir el coste de las raciones, a la vez que evita el coste de su almacenamiento o destrucción (Molina y Yáñez, 2008), alcanzándose un beneficio ambiental.

En España se producen entre 2,5 y 6 millones de toneladas anuales de subproductos de la oliva con un alto índice de toxicidad medioambiental (Fernández et al., 2006). Estudios previos sobre la inclusión de orujo de oliva en la alimentación del ganado han demostrado sus ventajas económicas (Hadjipanayiotou, 1999), y aunque se ha estudiado su efecto en ovejas y cabras (Martín et al., 2003), así como en vacas lecheras (Hadjipanayiotou, 1999), hasta la fecha no parece existir ninguna publicación en la que haya sido incluido en dietas para el ganado vacuno en crecimiento. Además, en la mayoría de los casos se ha trabajado con orujo de oliva de primera extracción, no existiendo datos en la bibliografía sobre la utilización del residuo de la extracción de aceite de orujo, cuyo contenido en grasa se reduce hasta el 2-3%. El segundo objetivo del presente trabajo consistió en el estudio de la fermentación ruminal del ganado vacuno en crecimiento alimentado con dietas que incluyan orujo de oliva de segunda extracción, deshuesado y deshidratado, en proporciones de hasta el 20% de la materia seca total.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Ocho terneros frisonos ( $480 \pm 9,3$  kg y  $324 \pm 8,5$  días de edad), canulados en el rumen, consumieron cuatro piensos en un diseño *cross-over* con dos periodos de 16 días de duración cada uno de ellos, y dos réplicas de cada tratamiento en cada periodo. Los tratamientos consistieron en un control (C) constituido por cebada como cereal mayoritario, el mismo control sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea (U), el control sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado (92,5% de materia orgánica-MO, 12,3% de proteína bruta-PB, 2,25% de extracto etéreo-EE, 61,1% de fibra neutro detergente-FND, 49,1% de FAD y 26,0% de lignina ácido detergente-LAD) (O10), y el control sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva (O20). Los piensos se formularon para que contuvieran un 14,5-15% de proteína, y fueron administrados *ad libitum*. Como forraje se distribuyó paja de cebada a libre disposición, en comederos independientes. Se registró la oferta y residuos diarios de concentrado y paja para determinar la ingestión de MS de cada uno de ellos, y en el último día de cada periodo experimental se tomaron muestras de líquido ruminal a las 0 (antes de la administración de los concentrados), 4 y 8 horas tras la oferta de la comida, midiéndose el pH inmediatamente, y preparándose muestras por duplicado para el análisis de la concentración de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y ácidos grasos volátiles (AGV).

Los efectos de los tratamientos sobre la ingestión, pH y concentraciones de  $\text{NH}_3$  y AGV en el líquido ruminal, fueron analizados dentro de cada hora mediante un análisis de varianza de una vía, utilizando el paquete estadístico SAS (versión 9.2). Las diferencias entre tratamientos fueron analizadas mediante test de valores pareados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los contenidos en PB de los concentrados estuvieron dentro de los rangos previstos durante su formulación (Tabla 1), y los contenidos en FND, FAD y LAD de los piensos que incorporaron orujo fueron superiores a los de las dietas C y U, lógicamente con mayores valores cuando se incorporó un 20% que cuando se incorporó un 10%.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $P>0,10$ ) en la ingestión de MS de pienso, paja o total (Tabla 2), y tampoco se observaron diferencias debidas a la dieta consumida ni en el pH, ni en las concentraciones de  $\text{NH}_3$  o AGV del líquido ruminal ( $P>0,10$ ) para ninguna de las horas de muestreo. Aunque no se realizó un análisis de varianza entre horas, cuantitativamente se observó una disminución del pH, coincidente con un incremento de las concentraciones medias de AGV, durante las primeras 8 horas tras la administración del alimento, mientras que la concentración de amoníaco aumentó a las 4 horas para disminuir posteriormente.

A las ocho horas de muestreo del líquido ruminal se observaron menores proporciones molares ( $P<0,05$ ) de los ácidos acético e isovalérico, y mayores proporciones de los ácidos propiónico y valérico en los animales alimentados con el pienso C con respecto a los alimentados con el que incorporaba urea (Tabla 3), mientras que no hubo diferencias entre aquél y los que incorporaban el orujo de oliva tanto al 10% como al 20%.

De los resultados del presente trabajo se puede concluir que ni la sustitución de un 20% de la proteína de la dieta por urea, ni la sustitución de hasta un 20% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado, afectan a la concentración ruminal de  $\text{NH}_3$  y AGV en los terneros en cebo intensivo. Además, las mayores proporciones de ácido acético, y las menores de propiónico, en el rumen de los animales alimentados con las dietas con urea a las ocho horas tras la administración del alimento, indican el posible efecto de este producto como modulador del síndrome de acidosis.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fernández, J., Rodríguez, G., Rodríguez, R., Guillén, R. & Jiménez, A. 2006. Grasas y Aceites 57: 95-106.
- Hadjipanayiotou, M. 1999. Livest. Prod. Sci. 59: 61-66.
- Johnson, R. R. 1976. J. Anim. Sci. 43: 184-191.
- Martín, A. I., Moumen, A., Yáñez, D. R. & Molina, E. 2003. Anim. Feed Sci. Technol. 107: 61-74.
- Molina, E. & Yáñez, D. R. 2008. Anim. Feed Sci. Technol. 147: 247-264.
- Reynolds, C. K. & Kristensen, N. B. 2008. J. Anim. Sci. 86 (E. Suppl.): E293-E305.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por Murilló Fresh Foods, S. L. (proyecto CDTI IDI-20110417), con participación del Dpto. de Industria e Innovación del Gobierno de Aragón y el Fondo Social Europeo.

**Tabla 1.** Composición química de los piensos y la paja utilizados durante un ensayo de estudio de la fermentación ruminal en terneros en crecimiento.

	C	U	O10	O20	Paja
Materia seca (MS; g/kg)	91,4	91,3	91,6	91,3	92,7
Materia orgánica (g/kg MS)	93,1	93,1	92,7	92,6	96,4
Proteína bruta (g/kg MS)	14,8	14,8	14,9	14,6	3,27
Extracto etéreo (g/kg MS)	3,96	3,93	3,96	3,82	1,93
Fibra neutro detergente (g/kg MS)	18,4	17,2	22,7	27,0	80,6
Fibra ácido detergente (g/kg MS)	6,71	6,27	10,1	13,7	52,1
Lignina ácido detergente (g/kg MS)	0,55	0,41	2,09	4,13	5,82

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

**Tabla 2.** Ingestión de materia seca (MS) total, de pienso y de paja, y pH y concentraciones medias de amoniaco (NH<sub>3</sub>; mg/l) y ácidos grasos volátiles (AGV; mmol/l) en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.

		C	U	O10	O20	EEM	P
MS (g/kg PV <sup>0,75</sup> )	Total	99,2	89,8	107,1	105,0	7,10	0,3546
	Pienso	84,8	73,3	93,1	91,6	6,93	0,2219
	Paja	14,3	16,4	14,0	13,4	2,72	0,8668
pH	H0	6,65	6,63	6,73	6,88	0,167	0,7088
	H4	6,06	6,27	6,04	6,40	0,172	0,4074
	H8	5,61	5,99	5,80	6,05	0,161	0,2641
NH <sub>3</sub>	H0	55,0	21,6	38,9	52,7	13,34	0,3099
	H4	65,1	83,4	60,2	65,4	18,55	0,8245
	H8	44,5	14,1	43,9	26,7	18,95	0,6291
AGV	H0	88,3	85,6	73,4	63,8	12,99	0,5339
	H4	107,1	104,3	112,5	112,5	13,74	0,9646
	H8	135,8	116,3	105,8	112,5	11,57	0,3386

C, U, O10, O20: Para la descripción de las dietas, ver pie de la Tabla 1.

H0: líquido ruminal tomado antes de la comida; H4: líquido ruminal tomado cuatro horas tras la comida; H8: líquido ruminal tomado ocho horas tras la comida.

EEM: error estándar de la media del análisis de varianza; P: probabilidad de las diferencias.

**Tabla 3.** Proporciones molares de los ácidos acético, propiónico, isovalérico y valérico a las 8 horas tras la administración del alimento en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas durante un ensayo de estudio de la fermentación ruminal.

	C	U	O10	O20	EEM	P
Acético	54,9 <sup>b</sup>	64,6 <sup>a</sup>	54,5 <sup>b</sup>	59,2 <sup>ab</sup>	2,14	0,0196
Propiónico	31,9 <sup>a</sup>	17,0 <sup>b</sup>	29,1 <sup>ab</sup>	23,9 <sup>ab</sup>	3,02	0,0211
Isovalérico	1,12 <sup>b</sup>	4,65 <sup>a</sup>	1,81 <sup>ab</sup>	1,80 <sup>ab</sup>	0,767	0,0299
Valérico	1,69 <sup>ab</sup>	1,15 <sup>c</sup>	1,96 <sup>a</sup>	1,50 <sup>bc</sup>	0,105	0,0012

C, U, O10, O20: Para la descripción de las dietas, ver pie de la Tabla 1.

EEM: error estándar de la media del análisis de varianza; P: probabilidad de las diferencias.

<sup>a, b, c</sup> Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para P<0,05.

### EFFECTS OF SUBSTITUTION OF PART OF THE DIET'S PROTEIN BY UREA, AND OF PART OF THE DIET BY OLIVE CAKE, ON RUMEN FERMENTATION OF INTENSIVELY REARED BEEF CATTLE

**ABSTRACT:** Eight rumen-fistulated Friesian steers (480±9.3 kg and 324±8.5 days old) were used in a cross-over design with four treatments: a control compound feed based on barley as majority cereal (C), the same control with 20% crude protein (on a dry matter (DM) basis) substituted by urea (U), control with 10% DM substituted by second-extraction pitted and dehydrated olive cake (O10), and control with 20% DM substituted by the same olive cake (O20). Compound feeds were formulated to contribute 14.5-15% crude protein (CP), and were offered *ad libitum*. Barley straw was used as forage. Samples of rumen liquid were taken, after 15 days of adaptation to the diets, at 0 (just before), 4 and 8 hours after feeding. The pH, and concentrations of ammonia (NH<sub>3</sub>) and volatile fatty acids (VFA) were determined. No significant differences (P>0.05) between treatments appeared at any time. However, diet C produced lower proportions of acetic and isovaleric acids, and higher proportions of propionic and valeric acids (P<0.05), at eight hours post feeding, than diet U. This suggests the possible role of urea as modulator of the acidosis syndrome.

**Keywords:** urea, olive cake, cattle, rumen fermentation.



## **EFFECTO DEL CRIBADO EN SECO O EN HÚMEDO SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DE PIENSOS CONCENTRADOS PARA TERNEROS EN CEBO INTENSIVO**

Al Alami, A., Gimeno, A., Castrillo, C., Fondevila, M. y de Vega, A.  
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza.  
Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. España. avega@unizar.es.

### **INTRODUCCIÓN**

Existe amplia información en la literatura acerca del efecto del tamaño de partícula de la ración sobre la ingestión de la misma y la fermentación ruminal, por lo que la determinación de aquél ha de ser lo más precisa posible. En el caso de los forrajes, la reducción del tamaño de partícula aumenta la ingestión, aunque de manera general disminuye la digestibilidad (de Vega et al., 2000), mientras que en el caso de los concentrados un cierto grado de molienda es necesario para romper las barreras que impiden la digestión del almidón (Cooper et al., 2002; Dehghan-Banadaky et al., 2007). En ambos casos, una molienda excesiva provocará una reducción muy acusada de la masticación y la rumia, con disminución importante de la producción de saliva, descensos que pueden ser acusados del pH ruminal, y posibles lesiones en la mucosa (Mertens, 2000). Los sistemas actuales de valoración energética y proteica definen con precisión las necesidades de los animales y la composición de los alimentos, pero no dan recomendaciones sobre la forma física de las raciones. El NRC (2001) sólo indica que las partículas de alfalfa han de tener una longitud mínima de 3 mm para mantener el pH ruminal, la actividad de masticación y la concentración de grasa en la leche de vaca, y que es necesario aumentar el contenido en fibra neutro detergente (FND) de la dieta si se administran forrajes excesivamente molidos o cantidades elevadas de almidones rápidamente fermentables. Debido a la importancia global de la producción lechera, en las dos últimas décadas se ha realizado un gran esfuerzo para definir cuándo se considera que un forraje está “excesivamente” molido, criterio que varía según el tipo de forraje y la relación forraje:concentrado (e.g. Lammers et al., 1996). Sin embargo, en el caso del vacuno de carne no existe ninguna información al respecto.

Antes de abordar el estudio del tamaño de partícula ideal que ha de tener una ración para terneros en crecimiento, un punto previo que es necesario resolver es el de su forma de determinación (Nørgaard, 2006). A este respecto, existe una gran controversia en la literatura acerca del uso del cribado en seco o el realizado por vía húmeda (Allen et al., 1984). El objetivo del presente trabajo fue la comparación de ambas técnicas aplicadas a una serie de piensos concentrados para el ganado vacuno de carne alimentado en condiciones intensivas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron ocho piensos concentrados, con un 15-17% de proteína, formulados con un 60% de cereales (con proporciones de cebada y maíz de 75:25 o 25:75), ofrecidos aplastados en seco o molidos a 3,5 mm. Los piensos fueron cribados en húmedo, por triplicado, siguiendo el procedimiento descrito por Poppi et al. (1980) con algunas modificaciones. Alrededor de 10 g de materia seca (MS) se mantuvieron durante 12-18 horas en una solución de 2 ml de Mucosal® en 100 ml de agua del grifo para prevenir el flotamiento de las partículas y asegurar su dispersión. Tras ese tiempo, las muestras fueron tamizadas a través de cinco cribas colocadas en un tanque de agua, en orden de tamaño decreciente (2,40, 1,20, 0,60, 0,30 y 0,15 mm) y una distancia de 6,5 cm entre ellas. El equipo se hizo oscilar en un plano vertical, a una frecuencia de 30 oscilaciones por minuto, durante 20 minutos. Tras el proceso de cribado, cada tamiz fue aclarado con agua del grifo, recogiendo el material retenido sobre papeles de filtro desecados a 60 °C durante 48 horas y tarados. Los papeles de filtro con el material residual fueron a su vez desecados a la misma temperatura y durante el mismo tiempo, para determinar la cantidad de MS retenida en cada criba.

El proceso de cribado se repitió por vía seca, también por triplicado, utilizando el mismo juego de tamices. Para ello, aproximadamente 300 g de MS se colocaron sobre las cribas colocadas en orden decreciente, agitando manualmente el conjunto en un plano horizontal

durante 40 minutos. Tras este tiempo, se pesaron las cribas, previamente taradas, para determinar la cantidad de MS retenida en cada una de ellas.

El tamaño medio de partícula fue estimado mediante el método exponencial propuesto por Pond et al. (1984), ajustando las proporciones acumuladas de partículas que van quedando retenidas por las diferentes cribas a la ecuación modificada de Rosin-Ramler:  $R = Ae^{-k(S-W)}$ , donde A es el porcentaje acumulativo de partículas mayores de W (A máximo = 100), S es el tamaño de criba, W es el menor tamaño estimable posible, y k es el ritmo constante al que las partículas se van acumulando conforme el tamaño de las cribas disminuye. El tamaño medio de partícula (TMP), o tamaño teórico de la criba que retendría el 50% de las partículas, se calculó como  $1/K + W$ . El ajuste se llevó a cabo utilizando el programa CurveExpert 1.3.

Los efectos del método de tamizado, cereal mayoritario en el pienso y forma de presentación de este último, y sus correspondientes interacciones, fueron analizados mediante el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS (versión 9.2). Las comparaciones entre medias fueron realizadas mediante el test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución de tamaños de partícula, así como los TMP obtenidos por cribado húmedo o seco de los diferentes piensos, se presentan en la Tabla 1.

Los piensos tamizados en seco presentaron mayores porcentajes de partículas >1,2 mm (aquellas que teóricamente necesitan reducir su tamaño para pasar al intestino; Faichney, 1995) (42,0 vs 37,5;  $P=0,024$ ), y de partículas entre 0,15 mm y 1,2 mm (56,1 vs 30,3;  $P<0,001$ ), que los piensos tamizados en húmedo, y menores porcentajes de partículas <0,15 mm (aquellas que se comportan como solutos; Faichney, 1995) (1,9 vs 32,1;  $P<0,001$ ), lo que se tradujo en TMP un 50% superiores (1,50 mm y 1,00 mm para los piensos tamizados en seco y en húmedo, respectivamente;  $P<0,001$ ). Esta diferencia entre métodos de cribado ya fue puesta de manifiesto por Allen et al. (1984) con forrajes. En el caso de los concentrados utilizados en el presente trabajo puede especularse con la idea de que las partículas de muy pequeño tamaño queden adheridas a otras mayores de manera débil, y que esta unión se rompa fácilmente en un entorno acuoso, pero no en uno seco. También es posible que el mayor porcentaje de partículas finas en los piensos tamizados en húmedo se deba a la solubilización parcial de partículas de mayor tamaño durante el procesado. Independientemente de las razones, el tracto digestivo puede catalogarse, sin duda, como entorno acuoso, por lo que parece recomendable utilizar el cribado húmedo en experimentos relacionados con fenómenos que tienen lugar en dicho lugar (Allen et al., 1984).

Como era de esperar, los piensos fabricados con cereales aplastados presentaron mayores porcentajes de partículas >1,2 mm que los fabricados con cereales molidos (42,4 vs 37,1;  $P<0,01$ ), y menores de partículas con un tamaño entre 0,15 mm y 1,2 mm (40,5 vs 46,0;  $P<0,001$ ), no habiéndose observado diferencias entre ambos métodos de procesado en el porcentaje de partículas <0,15 mm (17,2 vs 16,9;  $P=0,769$ ). Ello hizo que los piensos aplastados presentaran un TMP un 19% superior al de los molidos (1,36 mm vs 1,14 mm;  $P<0,001$ ). El cereal mayoritario en el pienso no tuvo ninguna influencia ni en la distribución de tamaños de partícula ni en el TMP, como tampoco la tuvieron las diferentes interacciones ( $P>0,10$ ).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen, M. S., Robertson, J. B. & Van Soest, P. 1984. En: Techniques in particles size analysis of feed and digesta in ruminants. Occasional Publication of the Canadian Society of Animal Science, num. 1. Ed. P. M. Kennedy. pp 39-56.
- Cooper, R. J., Milton, C. T., Klopfenstein, T. J., Scott, T. L., Wilson, C. B. & Mass, R. A. 2002. J. Anim. Sci. 80: 797-804.
- Dehghan-Banadaky, M., Corbett, R. & Oba, M. 2007. Anim. Feed Sci. Technol. 137: 1-24.
- de Vega, A., Gasa, J., Guada, J. A. & Castrillo, C. 2000. Aust. J. Agric. Res. 51: 801-809
- Faichney, G. J. 1995. En: Nutrition des ruminants domestiques. Institut National de la Recherche Agronomique. Eds. R. Jarrige, Y. M. Ruckebusch, H. Farce, C. Demarquilly & M. Journet. p 431-464.
- Lammers, B. P., Buckmaster, D. R. & Heinrichs, A. J. 1996. J. Dairy Sci. 79: 922-928.
- Mertens, D. R. 2000. Feedstuffs, April 10: 11-14.
- Nørgaard, P. 2006. En: Ruminant physiology. Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression,

immunology and stress. Wageningen Academic Publishers. Eds. K. Sejrsen, T. Hvelplund & M. O. Nielsen. pp. 579-585. • NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Revised Edition. National Academy Press. Washington DC. • Poppi, D. P., Norton, B. W., Minson, D. J. & Hendricksen, R. E. 1980. J. Agric. Sci. 94: 275-280. • Pond, K. R., Tolley, E. A., Ellis, W. C. & Matis, J. H. 1984. En: Techniques in particles size analysis of feed and digesta in ruminants. Occasional Publication of the Canadian Society of Animal Science, num. 1. Ed. P. M. Kennedy. pp 123-133.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2009-12026), con participación del Dpto. de Industria e Innovación del Gobierno de Aragón y el Fondo Social Europeo.

**Tabla 1.** Distribución de tamaños (% de la materia seca) y tamaño medio de partícula (TMP; mm) de los diferentes piensos utilizados (ver Material y métodos). A: cereales aplastados en seco; M: cereales molidos a 3,5 mm.

Cereal mayoritario	Tamizado en seco				Tamizado en húmedo				P	
	Cebada		Maíz		Cebada		Maíz		Tamizado	Procesado
Procesado	A	M	A	M	A	M	A	M		
> 1,2 mm	43,1	39,5	47,4	38,0	41,4	36,4	37,7	34,8	0,024	0,009
0,15-1,2 mm	54,6	58,8	50,9	60,1	27,1	31,6	29,2	33,4	<0,001	<0,001
< 0,15mm	2,33	1,71	1,68	1,93	31,5	32,0	33,1	31,9	<0,001	0,769
TMP	1,58	1,36	1,74	1,34	1,14	0,95	0,98	0,92	<0,001	0,001

P: Probabilidad de las diferencias.

#### EFFECT OF DRY VS WET SIEVING ON PARTICLE SIZE DISTRIBUTION OF COMPOUND FEEDS FOR INTENSIVELY REARED BEEF CATTLE

**ABSTRACT:** Dry and wet sieving were applied to different compound feeds for intensively reared beef cattle. The main difference between the two methods was the proportion of small particles (<0.15 mm, behaving like solutes) which was much higher when the wet method was applied. It is speculated that those particles may adhere to bigger particles and that they may detach in aqueous environments, those prevailing in the digestive tract of the animals. Solubilization of bigger particles is also possible when the wet sieving method is applied.

**Keywords:** particle size, compound feeds, sieving method, cattle.

## **EFFECTO DEL DISEÑO DE COMEDERO DE PIENSO SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS, LA CONDUCTA ANIMAL, EL BIENESTAR Y LA SALUD RUMINAL EN TERNEROS FRISONES CON DIETAS RICAS EN CONCENTRADO**

Verdú, M., Bach, A. y Devant, M.

Producció de Remugants, IRTA (Institut de Recerca i Tecnologies Agroalimentàries), Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España. [marsal.verdu@irta.cat](mailto:marsal.verdu@irta.cat)

### **INTRODUCCIÓN**

Uno de los principales costes de producción en el cebo intensivo de terneros es la alimentación (Gutiérrez, 2010), dentro de la cual el concentrado representa el 85% del coste. Esta coyuntura ha impulsado al sector a buscar sistemas de producción y alimentación alternativos para reducir los costes asociados a la nutrición sin perder eficiencia productiva ni competitividad. El presente estudio evaluó el diseño del comedero de pienso para tratar de reducir las pérdidas de alimento relacionadas con la conducta alimentaria y competencia animal evaluando un nuevo tipo de comedero individual de menor capacidad con protecciones laterales. El objetivo fue estudiar el efecto del tipo de comedero sobre los rendimientos productivos, la conducta animal y social, así como, sobre el bienestar y salud animal, especialmente, la salud ruminal, en terneros Frisones alimentados con dietas ricas en concentrado y alojados en condiciones comerciales.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Ciento trece machos enteros Frisones de  $109 \pm 10$  d de edad fueron alojados en 6 corrales y se sacrificaron a los 11 m de edad. Se evaluaron 3 tratamientos según el diseño de comedero de pienso: en dos corrales se instaló un comedero corrido tradicional (CT) de 4 bocas, en otros dos un comedero tradicional con menor capacidad (CTM) de 4 bocas y otros dos corrales disponían de un comedero tipo túnel de 1 boca con protecciones laterales (TU). Debajo de todos los comederos se instalaron unas células de carga que registraban cada 2 minutos su peso, pudiendo estimar por diferencia de pesos la evolución del consumo de pienso. Los comederos TU mediante tecnología por radiofrecuencia permitían registrar el consumo individual. Los terneros fueron distribuidos aleatoriamente en cada uno de los corrales según su PV inicial ( $128,9 \pm 13,89$  kg,  $128,1 \pm 15,20$  kg,  $128,7 \pm 15,82$  kg para TU, CTM, y CT, respectivamente). Las separaciones laterales de TU estuvieron ensanchadas durante los primeros 4 días para que los animales se habituaran al punto de comida, aunque se consideró como período de adaptación al comedero los primeros 14. Se utilizaron dos formulaciones de pienso, una de crecimiento (UFC: 1,03%, PB: 14,4% sobre MF) y otra de acabado (UFC: 1,07%, PB: 13,1% sobre MF). Los animales fueron pesados el día 0, 14, 19 y cada 14 días hasta su sacrificio. Se registró diariamente el consumo de pienso, individualmente en TU y colectivamente en CTM y CT. Se estimó el consumo de paja de cada corral. Al inicio (día 7), mitad (días 119 y 120) y final (días 215 y 216) del estudio se obtuvieron de cada animal: (1) registros de PV; (2) muestras de líquido ruminal mediante rumenocentesis, para determinar el pH y analizar los AGV; (3) muestras de sangre para determinar insulina, glucosa y haptoglobina. Además, la conducta animal definida por la actividad general (comiendo pienso o paja, bebiendo, rumiando, tumbado y de pie), las interacciones sociales (self-grooming, comportamiento social y oral, cabezazo, golpeo, desplazamiento, caza y persecución, desplazamiento en la cama, flehmen, intento de monta y monta) y la estereotipia tongue rolling, fueron registradas por la mañana mediante observación directa el día 1, 3, 5, 8, 14 y cada 28 días hasta el sacrificio. En matadero se realizó la inspección visual post mortem de rúmenes (úlceras, papilas fusionadas, color) y abscesos hepáticos. La unidad experimental fue el corral, aunque en los casos que se manejaban registros individuales (PV, pH ruminal...) se introdujo la variable animal anidada al corral como efecto aleatorio. Los datos se analizaron usando ANOVA de efectos mixtos con medidas repetidas (SAS Inst. Inc., Cary, NC, 2010). Los datos de perfiles séricos fueron transformados a logaritmo decimal y los registros de interacciones sociales a  $\sqrt{x + 1}$  para conseguir una distribución normal. El modelo estadístico incluyó el PV inicial como covariable, el tratamiento y tiempo y su interacción como efectos fijos, y el corral y animal anidado como efectos aleatorios. El tiempo se consideró como factor de repetición y para cada variable el animal anidado en el tratamiento (término de error) se sometió a una

estructura simétrica o autoregresiva de varianza-covarianza. En el caso de las variables discretas ordinales se analizaron con un test chi-cuadrado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se produjeron 3 bajas en CTM debido a ictericia, timpanismo y caquexia, y 1 en CT por muerte súbita. Además, se eliminaron 2 animales en TU y CT por neumonía crónica. En términos de resultados y rendimientos productivos no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ni en la interacción entre el tratamiento y el período, siendo el consumo medio de pienso en MF de  $6,6 \pm 0,54$  kg/d,  $6,8 \pm 0,54$  kg/d,  $6,9 \pm 0,54$  kg/d, el consumo medio de paja de  $0,8 \pm 0,06$  kg/d,  $0,7 \pm 0,06$  kg/d,  $0,7 \pm 0,06$  kg/d, y la GMD  $1,5 \pm 0,03$  kg/d,  $1,5 \pm 0,03$  kg/d,  $1,6 \pm 0,03$  kg/d, para TU, CTM, CT, respectivamente. Tampoco se observaron diferencias entre tratamientos en la eficiencia alimentaria ( $0,2 \pm 0,01$  kg/kg para TU, CTM y CT), en peso de canal ( $247,0 \pm 3,12$  kg,  $248,4 \pm 3,12$  kg,  $249,5 \pm 3,12$  kg para TU, CTM, CT, respectivamente), en rendimiento de canal ( $54,0 \pm 0,33\%$ ,  $53,8 \pm 0,33\%$ ,  $53,6 \pm 0,33\%$  para TU, CTM, CT, respectivamente), en engrasamiento "3" (25,7%, 31,4%, 42,9% para TU, CTM, CT, respectivamente) y conformación "O" de las canales (100% para TU, CTM y CT). Además, se constató que el comedero TU modifica el comportamiento animal, sobretodo durante período de adaptación. Los terneros TU tendieron ( $P = 0,06$ ) a expresar más self-grooming ( $4,9 \pm 0,28$  veces/5 min) durante la adaptación, y realizaron ( $P < 0,01$ ) más conductas orales ( $1,4 \pm 0,01$  veces/5 min), luchas ( $0,8 \pm 0,15$  veces/5 min) y montas ( $1,1 \pm 0,38$  veces/5 min) respecto a los terneros CTM ( $4,2 \pm 0,28$ ,  $0,8 \pm 0,01$ ,  $0,5 \pm 0,15$ ,  $1,5 \pm 0,23$  veces/5 min para self-grooming, orales, luchas, montas, respectivamente) y CT ( $3,5 \pm 0,28$ ,  $1,0 \pm 0,01$ ,  $0,5 \pm 0,15$ ,  $0,1 \pm 0,38$  veces/5min para self-grooming, orales, luchas, montas, respectivamente) a lo largo del engorde. Los animales de TU estuvieron ( $P < 0,01$ ) más de pie ( $67,9 \pm 5,12\%$ ) que los animales de CTM ( $61,6 \pm 5,12\%$ ) y de CT ( $56,2 \pm 5,12\%$ ) durante el período de adaptación. La proporción de animales en TU comiendo concentrado fue ( $P < 0,01$ ) menor ( $5,6 \pm 0,67\%$ ) que en CTM ( $9,5 \pm 0,67\%$ ) y en CT ( $9,3 \pm 0,67\%$ ) durante todo el engorde; este hecho se corresponde a que la ratio de boca comedero/terneros en TU fue de 1/19 o 1/18, y en el caso de CTM y CT la ratio esperada debida a las instalaciones era de 4/20 y resultó ser de 2/20. La proporción de terneros comiendo paja en TU fue ( $P = 0,03$ ) superior ( $16,6 \pm 2,82\%$ ) que en CTM ( $9,7 \pm 2,82\%$ ) y en CT ( $10,4 \pm 2,82\%$ ) durante el período de adaptación. Se observó ( $P < 0,01$ ) una interacción en el pH del líquido ruminal entre tratamiento y período. Al inicio (día 7) el pH en TU ( $6,1 \pm 0,18$ ) fue superior ( $P = 0,01$ ) al de CTM ( $5,6 \pm 0,17$ ) y tendió ( $P = 0,06$ ) a ser superior al de CT ( $5,7 \pm 0,14$ ), posiblemente porque los terneros de TU estaban en proceso de adaptación al comedero y tenían un consumo irregular sin patrón establecido. A la mitad (día 119 y 120) el pH en TU ( $5,8 \pm 0,13$ ) fue inferior numéricamente al de CTM ( $6,1 \pm 0,14$ ) y tendió ( $P = 0,05$ ) a ser inferior al de CT ( $6,2 \pm 0,15$ ), constatando la plena adaptación y el establecimiento de un patrón de consumo. Al final (días 215 y 216) el pH en TU ( $6,4 \pm 0,15$ ) fue ( $P = 0,02$ ) superior al de CTM ( $5,9 \pm 0,14$ ) y superior ( $P < 0,01$ ) al de CT ( $5,8 \pm 0,13$ ), debido probablemente a las diferencias numéricas de consumo medio de pienso entre tratamientos ( $8,3 \pm 0,60$  kg,  $9,3 \pm 0,60$  kg,  $9,1 \pm 0,60$  kg para TU, CTM y CT, respectivamente) de la semana anterior al muestreo. Se pudo concluir que los terneros no padecieron acidosis, ya que no se registraron valores de pH inferiores a 5,8 (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003). Se observó ( $P < 0,01$ ) una interacción entre tratamiento y período en la cantidad de AGV producida que guardaba coherencia con el patrón invertido de pH como señala Bevans et al. (2005). Referente a las proporciones ruminales de los distintos AGV, se observó una interacción entre tratamiento y período en el caso del último muestreo (días 215 y 216) y, en consecuencia, la ratio acético/propiónico de TU ( $1,7 \pm 0,07$ ) tendió ( $P = 0,08$ ) a ser superior que la de CTM ( $1,5 \pm 0,08$ ) y superior ( $P < 0,01$ ) que la de CT ( $1,4 \pm 0,07$ ). Estas diferencias entre tratamientos son debidas al nivel de ingesta (Rumsey et al., 1970), mayor para CTM y CT, haciéndose más evidentes en el último período. También se observó una interacción entre tratamiento y período en la proporción de iso-valérico en el último muestreo sin que exista una explicación clara para este resultado. La concentración de haptoglobina en CT ( $0,2 \pm 0,02$  mg/ml) fue superior ( $P = 0,01$ ) a la de TU ( $0,1 \pm 0,02$  mg/ml) y tendió ( $P = 0,09$ ) a ser superior a la de CTM ( $0,1 \pm 0,02$  mg/ml). A la mitad (día 119 y 120), la concentración de glucosa de TU ( $86,3 \pm 0,01$  mg/dl) fue ( $P = 0,04$ ) inferior a la de CTM ( $92,9 \pm 0,01$  mg/dl) y inferior ( $P = 0,01$ ) a la de CT ( $94,5 \pm 0,01$  mg/dl). No se hallaron

diferencias entre tratamientos en las lesiones ruminales ni abscesos hepáticos registrados post mortem. Se redujo el consumo de pienso con los comederos individuales con protecciones laterales en un 3,6% sin perjudicar los parámetros productivos, indicando que es posible reducir el desperdicio aunque es necesario seguir trabajando para lograr mejores resultados. Además, este tipo de comedero modifica el comportamiento animal, sobretodo durante período de adaptación, observándose un incremento de conductas beneficiosas (self-grooming), perjudiciales (luchas, montas), controvertidas (orales), y una proporción mayor de animales de pie, comiendo concentrado y paja respecto a los otros tipos de comederos. Al contrario de lo esperado, los animales que disponían de un comedero con protecciones laterales, el pH ruminal medio no fue inferior a 5,8 y en general fue superior a los pH ruminales observados en los animales que comían con los otros comederos. Así pues, se puede concluir que el nuevo diseño de comedero individual con protecciones laterales no tuvo un efecto negativo sobre los rendimientos productivos, comportamiento, bienestar animal y salud ruminal, sin embargo se observa que hay cambios en la conducta durante el período de adaptación.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bevans, D. et al. 2005. J. Anim. Sci. 83:1116-1132.
- Gutiérrez, J.M. 2010. Mundo Ganadero. 231:54-59.
- Rumsey, T. et al. 1970. J. Anim. Sci. 31:608-616.
- Schwartzkopf-Genswein, K. et al. 2003. J. Anim. Sci. 81:E149–E158.

#### EFFECT OF CONCENTRATE FEEDER DESIGN ON PERFORMANCE, ANIMAL BEHAVIOUR, WELFARE AND RUMINAL HEALTH IN HOLSTEIN BULLS FED HIGH-CONCENTRATE DIETS

**ABSTRACT:** The study aim was to evaluate the effect of concentrate feeder design on performance, behaviour, welfare and ruminal health in Holstein bulls fed high-concentrate diets, pretending to reduce feed wastage associated with the eating pattern and animal competence. 113 bulls were randomly distributed to 3 treatments (2 pens per treatment): conventional through feeder with 4 feeding spaces (CT), through feeder with less concentrate capacity and 4 feeding spaces (CTM), and a single space feeder with lateral protections with radiofrequency technology to register individual intake (TU). Concentrate intake was registered daily and BW every 14 days. On days 7, 119-120, 215-216 rumen fluid was collected for pH and VFA analysis and blood samples were collected for glucose, insulin and haptoglobin analysis. Animal behaviour was registered every 28 days, and lesions of rumen and liver were recorded at slaughterhouse. Concentrate consumption was reduced by 3.6% without detrimental effects on performance when animals were fed with TU, indicating that concentrate can be saved by the feeder design, but more research is needed to increase these savings. TU bulls showed some different behavioural traits, animals did not show rumen acidosis signs, and no negative impact of the feeder on performance was observed.

**Keywords:** concentrate feeder design, Holstein bulls, performance, behaviour

# *Reproducción*





## EVOLUCIÓN DEL PESO VIVO, EL ESPESOR DE GRASA PERIRRENAL Y LOS ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS DE LA CONEJA DURANTE SU VIDA REPRODUCTIVA

Peiró<sup>1</sup>, R., García<sup>2</sup>, M.L., Muelas<sup>2</sup>, R. y Argente<sup>2</sup>, M.J.

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnología. Universitat Politècnica de València. 46071 Valencia

<sup>2</sup> Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra. de Beniel Km 3,2, 03312 Orihuela

[mariluz.garcia@umh.es](mailto:mariluz.garcia@umh.es)

### INTRODUCCIÓN

El sistema reproductivo semi-intensivo, es decir la monta o inseminación artificial a los 11 días postparto, es el ritmo reproductivo más habitual en las granjas cunícolas comerciales (Rafel et al., 2012). Con este ritmo reproductivo, las hembras que se quedan gestantes en el primer servicio solapan la gestación y la lactación al menos 21 días si el destete de los gazapos se realiza a los 32 días. Existen momentos críticos en la vida reproductiva de la coneja en los que son necesarios una correcta movilización de sus reservas corporales y que determinan su productividad (Martínez-Gómez et al., 2004; Xiccato et al., 2005; Cardinalli et al., 2008), especialmente en las hembras primíparas (Castellini et al., 2003). Existe una relación entre la vida reproductiva de la coneja y su condición corporal y/o su movilización de reservas. La evaluación de la condición corporal se puede realizar utilizando diferentes metodologías *in vivo* como la palpación (Sánchez et al., 2012), la conductividad eléctrica corporal total (Fortun-Lamothe, 2006), la impedancia eléctrica (Rebollar et al., 2011), o el espesor de grasa perirrenal (Pascual et al., 2000). Además, los AGNE (ácidos grasos no esterificados) sanguíneos están relacionados con la movilización de las reservas corporales (Fortun-Lamothe, 2006).

El objetivo del presente trabajo es conocer la evolución del peso vivo, del espesor de grasa perirrenal y de la concentración de AGNE a lo largo de la vida reproductiva de conejas utilizando el sistema reproductivo semi-intensivo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales:** Un total de 46 conejas pertenecientes a una línea sintética (Argente et al., 2010) se han utilizado en el presente experimento. Las hembras se alojaron en la granja de la Universidad Miguel Hernández de Elche. Todas las conejas se alojaron en jaulas individuales y fueron alimentadas con pienso comercial (16,9% PB; 15,7% FB; 2,5% Grasa; 3900 Kcal ED/kg). Las hembras fueron montadas la primera vez a las 17-18 semanas de edad, y posteriormente siguieron un ritmo semi-intensivo hasta el cuarto parto. El destete se realizó a los 28 días de lactación. La receptividad de las hembras se evaluó observando la coloración de la vulva. Las hembras que presentaron una vulva roja y turgente fueron estimuladas a ovular con una inyección intramuscular de 1µg de acetato buserelina (Suprefact®, Hoechst Marion Roussel S.A., Madrid, Spain) en el momento de la monta. Se realizó una lactación controlada con una duración aproximada de 20 minutos por la mañana (09:00 h), y una hora después se extrajo una muestra de sangre.

**Diseño experimental:** El peso vivo y el espesor de grasa perirrenal, medido mediante ultrasonidos (Ultra Scan 900, Alliance Medical Inc.) y por duplicado a 3 cm de la columna vertebral, se midieron a las 12 semanas de edad, en las cuatro primeras montas y partos, y a los 12 días de gestación del segundo, tercer y cuarto parto. Se analizaron muestras de sangre recogidas de la vena central de la oreja en tubos que contenía EDTA, se centrifugaron a 3000 g durante 15 min a 4°C y se almacenaron a -20°C hasta el posterior análisis.

La concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE, mmol/L) fueron analizados por duplicado utilizando un kit enzimático colorimétrico (NEFA-C®, Wako Chemicals GmbH, Neuss, Germany).

**Análisis estadísticos:** El modelo utilizado para analizar el peso incluyó como efecto fijo el estado reproductivo (12 niveles) y como efecto aleatorio el de la hembra. El modelo utilizado para analizar la grasa perirrenal incluyó además el peso como covariable. El modelo utilizado para analizar la concentración de AGNE incluye los mismos efectos fijos y aleatorios que el peso, sin embargo el efecto fijo estado reproductivo no incluyó el momento

12 semanas de edad. Se realizó un análisis de la varianza utilizando un modelo de efectos aleatorios (PROC MIXED) con el programa SAS (2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución del peso vivo y del espesor de grasa perirrenal hasta el cuarto parto de hembras en un ritmo semi-intensivo se muestra en la figura 1. El peso se incrementa rápidamente desde las 12 semanas de edad (2,70 kg) hasta la primera monta (3,90 kg). Además, también se produce un incremento de peso desde el parto de la coneja hasta la siguiente monta (0,12 kg) y desde ésta hasta el día 12 de gestación (0,16 kg). El peso al cuarto parto es de aproximadamente 4 kg. Resultados similares fueron obtenidos por Xiccato et al. (2005).

El espesor de grasa perirrenal a las 12 semanas de vida es de 3,74 mm y no se modifica durante la primera gestación. Durante la segunda gestación, la grasa perirrenal se incrementa en los momentos evaluados; 0,84 mm entre la monta y los 12 días de gestación y 0,77 entre éste y el parto. A los 12 días de la tercera gestación la grasa perirrenal de las conejas es de 6,97 mm, aumentado hasta 8,12 mm en el parto. En la cuarta gestación no se producen cambios en la grasa perirrenal. Cuando se ha estudiado la evolución de la grasa perirrenal en conejas primíparas utilizando diferentes programas de alimentación se ha observado un mantenimiento del espesor de grasa perirrenal desde la primera inseminación hasta los 11 días de gestación pero una disminución de ésta al parto (Martínez-Paredes et al., 2012).

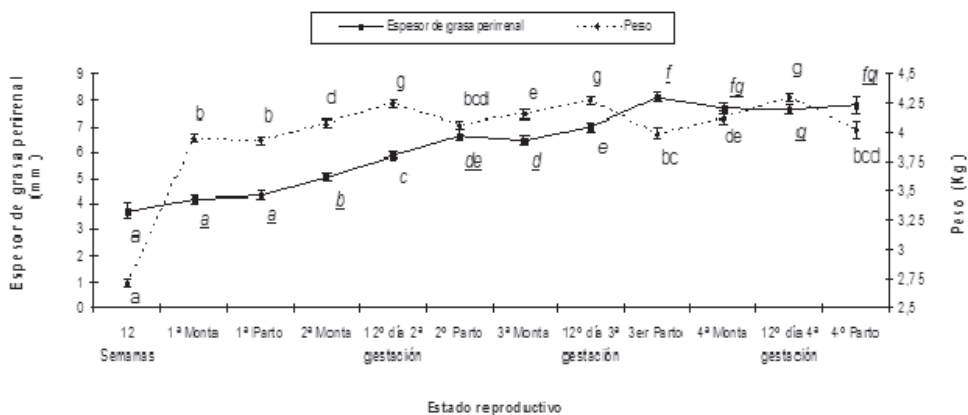
La concentración de AGNE sigue un perfil cíclico durante la vida reproductiva de la coneja, presentando los valores máximos al parto, siendo similar en la monta y a los 12 días de la gestación. La concentración de AGNE se reduce a lo largo de los ciclos reproductivos en el momento del parto (0,423, 0,406, 0,371 y 0,309 mmol/L. en el primer, segundo, tercer y cuarto parto, respectivamente), mientras que no existen diferencias entre los diferentes ciclos reproductivos cuando las concentraciones de AGNE son menores (monta y 12 días de gestación). El parto representa un momento de alta demanda energética, representado por los altos niveles plasmáticos de AGNE, como previamente demostraron Arias-Alvarez et al. (2009), Theilgaard et al. (2009) y Martínez-Paredes et al. (2012). Bell (1995) indicó que niveles elevados de AGNE después del parto podrían ser el resultado de la estimulación adrenérgica de la lipólisis producida por las catecolaminas.

Con un ritmo reproductivo semi-intensivo la coneja aumenta progresivamente su condición corporal, medida como el espesor de grasa perirrenal, y su peso hasta el segundo ciclo reproductivo, y a partir de este momento comienza a gestionar sus reservas corporales en función del momento reproductivo en el que se encuentre. Los niveles de AGNE en la coneja son elevados en el momento del parto independientemente de su ciclo reproductivo. Estudios posteriores serán necesarios para relacionar la evolución de estos caracteres con la producción de la coneja.

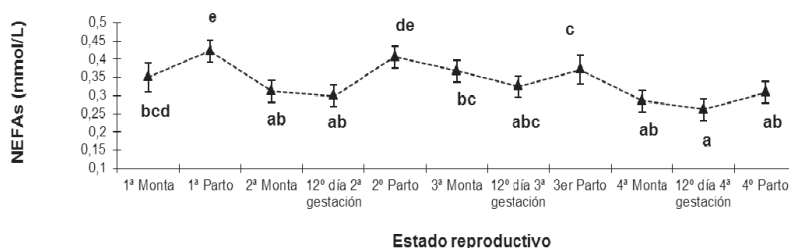
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente M.J., García M.L., Muelas R., Santacreu M.A., Blasco A. 2010. 9th World Congress on genetics Applied to Livestock Production. 526.
- Arias-Alvarez M., García-García R.M., Rebollar, P.G., Revuelta, L., Millán, P., Lorenzo, P.L. 2009. *Theriogenology* 72: 612-623.
- Bell A.W. 1995. *J. Anim. Sci.* 73: 2804-2819.
- Cardinali R., Dal Bosco A., Bonnano A., Di Grigoli A., Rebollar P.G., Lorenzo P.L., Castellini C. 2008. *Livest. Sci.* 116: 209-215.
- Castellini C., Dal Bosco A., Mughal C.. 2003. *Livest. Sci.* 83: 131-139.
- Fortun-Lamothe L. 2006. *Anim. Reprod. Sci.* 93:1-15.
- Martínez-Gómez M., Juárez M., Distel H., Hudson R. 2004. *Physiol. Behav.* 82: 629-636.
- Martínez-Paredes E., Ródenas L., Martínez-Vallespín B., Cervera C., Blas E., Brechia G., Boiti C., Pascual J.J. 2012. *Animal* 6:7: 1086-1095
- Pascual J.J., Castella F., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J. 2000. *Anim. Sci.* 70: 435-442.
- Rafel O., Piles M., Gil J.M., Freixa E., Ramon J. 2012. 37 Symposium de cunicultura 88-93.
- Rebollar P.G., Pereda N., Schwarz B.F., Millán P., Lorenzo P.L., Nicodemus N. 2011. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163: 67-76.
- Sánchez J.P., de la Fuente L.F., Rosell J.M. 2012. *J. Anim. Sci.* 90(7): 2353-2361.
- SAS, 2008. *Statistical analysis system user's guide: Version 9.2.*
- Theilgaard P., Baselga M., Blas E., Friggns N.C., Cervera C., Pascual J.J. 2009. *Animal* 3: 637-646
- Xiccato G., Trocino C., Boiti C., Brechia G. 2005. *Anim. Sci.* 81: 289-296.

**Agradecimientos:** Este experimento ha sido financiado con los proyectos GVPRE/2008/145, CICYT AGL2011-29831-03-02.



**Figura 1.** Evolución del espesor de grasa perirrenal y del peso vivo a lo largo de la vida reproductiva de la coneja. *a, b, c, d, e, f, g* Diferentes índices dentro de un mismo carácter indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).



**Figura 2.** Evolución de los NEFAs a lo largo de la vida reproductiva de la coneja. *a, b, c, d, e* Diferentes índices indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

### EVOLUTION OF BODY-WEIGHT, PERIRRENAL FAT THICKNESS AND NON-ESTERIFIED FATTY ACIDS DURING THE RABBIT REPRODUCTIVE LIFESPAN

**ABSTRACT:** A total of 46 rabbit females were used to evaluate the evolution of body-weight, perirenal fat thickness, as estimation of body condition, and NEFAs from 12 weeks of age to 4<sup>th</sup> delivery when a semi-intensive reproductive rhythm (mating 11 days after delivery) was applied. The body-weight of the female increased to 12<sup>th</sup> day of the second gestation thereafter remained stable at 4 kg. At the beginning of reproductive life, the rabbit females have around 4 mm of perirenal fat thickness. Then, from the second mating (5.05 mm) it progressively increased until the third parity (8.12 mm.). The NEFA concentration was maximum at delivery (around 0.40 mmol/L), and lower values were obtained at mating and during gestation, regardless of the reproductive cycle. In conclusion, the females under semi-intensive reproductive rhythm progressively increased perirenal fat thickness and body-weight to the 2<sup>nd</sup> reproductive cycle, and from that moment the rabbit females began to manage their body reserves depending on reproductive status.

**Keywords:** Body condition, NEFA, reproductive rhythm, rabbit female.

## EFECTO DE LA SUPEROVULACIÓN SOBRE LA SUPERVIVENCIA EMBRIONARIA Y FETAL EN CONEJAS MULTÍPARAS

Badawy<sup>1</sup>, A.Y., Peiró<sup>1,2</sup>, R. y Santacreu<sup>1</sup>, M.A.

<sup>1</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de Valencia.

<sup>2</sup> Dirección actual: Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana. Universitat Politècnica de Valencia. msantacr@dca.upv.es

### INTRODUCCIÓN

El aumento de la tasa de ovulación se ha propuesto como una vía para mejorar el tamaño de camada en conejo y porcino. En estas especies, la selección por tasa de ovulación ha aumentado este carácter pero no ha habido un incremento del tamaño de camada debido a un aumento de la mortalidad prenatal (Leymaster y Christenson, 2000; Rosendo et al., 2007; Laborda et al., 2012). En los experimentos de selección por tasa de ovulación en conejo y cerdo, la mayor parte de la mortalidad que se ha observado se presenta durante el período fetal (Freking et al., 2007, en porcino; Laborda et al., 2012, en conejo). Un momento crítico para la supervivencia fetal en conejos es el periodo comprendido entre el día 8 y 17 de la gestación, cuando tiene lugar el desarrollo de la placenta (Adams, 1959, 1960; Hafez y Tsutsumi, 1966). El objetivo de este trabajo es estudiar la supervivencia embrionaria y fetal a los 18 días de gestación en hembras superovuladas de una línea seleccionada por tasa de ovulación y tamaño de camada.

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Animales:* Se han utilizado un total de 51 conejas múltiparas de una línea seleccionada por tasa de ovulación y tamaño de camada (Badawy et al., 2013), 24 hembras en el grupo control y 27 en el grupo de hembras superovuladas. A las hembras de este último grupo se les inyectó 50 UI de eCG (Gonadotropina sérica de yegua gestante; Folligon®, Intervet Ireland Ltd, Dublin) para inducir la superovulación. Cuarenta y ocho horas después del tratamiento de superovulación, las hembras de ambos grupos se llevaron a la monta y aquellas que estaban gestantes se sacrificaron a los 18 días de gestación por exanguinación tras aturdimiento. Se retiró el tracto reproductivo junto con los ovarios y posteriormente, se realizó una incisión en el tracto para extraer los fetos y las placentas fetales.

*Caracteres:* Se ha estimado la tasa de ovulación (TO) como el número de cuerpos lúteos presentes en los ovarios. El número de embriones implantados a los 7 días de gestación (EI) se ha estimado como la suma de los fetos vivos (FV), de los fetos muertos, de las placentas fetales sin feto presente, de las placentas maternas y de las reacciones deciduales a los 18 días de gestación (Argente et al., 2003). La supervivencia embrionaria a los 7 días de gestación (SE) se ha estimado como el cociente entre EI y TO, la supervivencia fetal a los 18 días de gestación (SF) como el cociente entre FV y EI, y la supervivencia prenatal a los 18 días de gestación (SP) como el cociente entre FV y TO. Se pesaron los fetos vivos (PFV) así como sus placentas fetales (PPV).

*Análisis estadísticos:* Los datos fueron analizados utilizando técnicas bayesianas (revisión Blasco (2005)). Para analizar la TO se incluyó en el modelo el efecto del tratamiento (superovuladas vs control), el estado de lactación (lactante vs no lactante) y su interacción. Este mismo modelo se utilizó para analizar EI, SE, SF y SP. El análisis de PFV y PPV a los 18 días de gestación incluye además el efecto permanente no aditivo de la hembra. Para todos los efectos ambientales se utilizó un prior plano acotado y para el efecto permanente se asumió una distribución de media 0 y matriz de (co)varianza P. Las distribuciones marginales posteriores de los parámetros desconocidos se estimaron usando el muestreo de Gibbs. Se utilizó una cadena de 1,000,000 de iteraciones con un periodo de quemado de 200,000 iteraciones y se guardó una muestra de cada 100 iteraciones. La falta de convergencia de las cadenas se comprobó utilizando el criterio Z de Geweke.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los valores medios y la desviación estándar para los caracteres estudiados en el grupo control. El valor medio de la TO es superior al publicado en otras líneas de conejo (García y Baselga, 2002; Santacreu et al., 2005). Los valores medios obtenidos para IE, SE, SF y SP se encuentran dentro del rango de los valores publicados por otros autores (García y Baselga, 2002; Santacreu et al., 2005; Laborda et al., 2012). El

peso de los fetos vivos a los 18 días de gestación es similar que el obtenido por Argente et al. (2006) en dos líneas de conejo seleccionadas por capacidad uterina.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las conejas superovuladas y control, así como los valores relevantes considerados. El criterio utilizado para establecer el valor de relevancia para todos los caracteres es un tercio de la desviación del carácter. Todas las distribuciones son simétricas. El test de Geweke no detecta la posible falta de convergencia en ninguna de las variables y el error de Monte Carlo es pequeño.

El incremento en la tasa de ovulación mediante la utilización de eCG ha sido descrito por diferentes autores, obteniéndose diferentes resultados en función de la línea utilizada y de la concentración de eCG (Boudillon et al., 1992; Stradaoli et al., 1993; Boiti et al., 1995). El tratamiento de superovulación con 50 UI de eCG ha incrementado la TO, con una probabilidad del 100% las hembras superovuladas presenten una TO mayor que las hembras control. El incremento del tratamiento de superovulación es de aproximadamente 3 óvulos. Además, la probabilidad de que el tratamiento incremente al menos 1,5 óvulos (valor relevante) es del 92%. Este incremento de 3 óvulos es aproximadamente la respuesta obtenida después de 6 generaciones de selección por tasa de ovulación y 9 generaciones de selección por tasa de ovulación y tamaño de camada en conejo por Badawy et al. (2013); así, el estudio de cuando se produce la mortalidad en el grupo de hembras superovuladas puede ayudar a conocer el momento y las causas de la disminución de la supervivencia prenatal al aumentar la tasa de ovulación por selección.

Las hembras superovuladas presentan una menor SE respecto al grupo control y ambos grupos implantan el mismo número de embriones ( $P_s=80\%$ ). La probabilidad de que las hembras superovuladas presenten una menor SE que las hembras control es del 99%, y la probabilidad de que esa reducción sea al menos de un 5% es del 88%. Esta menor supervivencia también se observa en las hembras superovuladas desde la implantación hasta los 18 días de gestación; la probabilidad de que las hembras superovuladas presenten una menor SF que las hembras control es del 92%, siendo esta disminución del 7,2%, i.e. 0,5 fetos vivos. Por tanto, la SP a los 18 días de gestación se ha reducido en un 10,2% en las hembras superovuladas. La probabilidad de que las hembras superovuladas presenten una menor supervivencia prenatal es del 98%, y de que esta diferencia sea relevante es del 85%. Resultados similares han sido obtenidos en porcino en hembras superovuladas (van der Waaij et al., 2010), así como tras la selección de la tasa de ovulación en conejo y porcino (Laborda et al., 2012; Rosendo et al., 2007, respectivamente).

Los fetos de las hembras superovuladas pesan más que las hembras control, al igual que ocurre con el peso de las placentas; esto podría explicarse por el menor número de fetos vivos a los 18 días en el grupo de hembras superovuladas. Otros autores han descrito una relación negativa entre el peso del feto y el número de fetos presentes en el útero (Argente et al., 2003).

Se han propuesto diversas causas relacionadas con el aumento de la mortalidad prenatal debido a un aumento de la tasa de ovulación: el aumento del número de ovocitos inmaduros (Koenig et al., 1986), el aumento de la variabilidad en el desarrollo embrionario por un incremento del tiempo del proceso de la ovulación (Fujimoto et al., 1974) y una mayor competencia entre los embriones y/o fetos por el espacio y los nutrientes al aumentar el número de embriones (Geisert y Schmitt, 2002). La aplicación de 50 UI eCG incrementa la tasa de ovulación y disminuye la supervivencia antes de la implantación y después de la implantación hasta los 18 días de gestación.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams C.E. 1959. *J. Endocrinol.* 19: 325-344.
- Adams C.E. 1960. *J. Endocrinol.* 19: 325-344.
- Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 2003. *J. Anim. Sci.* 81: 1265-1273.
- Blasco A. 2005. *Meat Sci.* 69: 115-122.
- Badawy A.Y., Peiró R., Mocé L., Blasco A., Santacreu M.A. 2013. XV Jornadas de Producción Animal AIDA (en prensa).
- Boiti C., Castellini C., Canali C., Zampini D., Monaci M. *World Rabbit Sci.* 3: 51-56.
- Bourdillon A., Chmitelin F., Jarrin D., Parez V., Rouillere H., 1992. *J. Appl. Rabbit Res.* 15: 530-537.
- Freking B.A., Leymaster K.A., Vallet J.L., Christenson R. K. 2007. *J. Anim. Sci.* 85: 2093-2103.
- Fujimoto S., Rawson J.M.R., Dukelow W.R. 1974. *J. Reprod. Fertil.* 38: 97-103.
- García M.L., Baselga M. 2002. *Livest. Prod. Sci.* 74: 45-53.
- Geisert R.D., Schmitt R.A.M.

2002. J. Anim. Sci. 80: 54-65. • Hafez, E.S.E., Tsutsumi, Y. 1966. Amer. J. Anat. 118: 249-282. • Koenig J.L.F., Zimmerman D.R., Eldrige F.E., Koef J.D. 1986. J. Anim. Sci. 63: 202. • Laborda P., Mocé M.L., Blasco A., Santacreu M.A. 2012. J. Anim. Sci. 90: 439-446. • Leymaster K.A., Christenson R.K. 2000. J. Anim. Sci. 78:68. • Rosendo A., Druet T., Gogué J., Bidanel J.P. 2007. J. Anim. Sci. 85: 356-364. • Santacreu M.A., Mocé M., Climent A., Blasco, A. 2005. J. Anim. Sci. 83: 2303-2307 • Stradaoli G., Monaci M., Verini A., Canali C., Vacca C., Boiti C., 1993. 9th Sci. Meeting Eur. Embryo Tranfer Assoc. • van der Waaij E.H., Hazeleger W., Soede N.M., Laurensen B.F.A., Kemp B. 2010. J. Anim. Sci. 88: 2611–2619.

**Agradecimientos:** Este experimento ha sido financiado con los proyectos CICYT-AGL2008-05514-C02-01 y CICYT- AGL2011-29831-C03-01.

**Tabla 1.** Media bruta (M) y desviación estándar (SD) para la tasa de ovulación (TO), el número de embriones implantados (IE), la supervivencia embrionaria (SE, %), la supervivencia fetal (SF, %) y prenatal (SP, %) a los 18 días de gestación y el peso vivo de los fetos (PV, g) y de sus placentas (PPV, g) a los 18 días de gestación en el grupo control.

	TO	IE	SE	SF	SP	PFV	PPV
M	17,4	12,4	71,4	74,7	55,5	1,83	1,95
SD	3,5	3,4	13,1	15,9	14,3	0,45	0,76

**Tabla 2.** Resultados de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las hembras superovuladas y control para la tasa de ovulación (TO), el número de embriones implantados (IE), la supervivencia embrionaria (SE, %), la supervivencia fetal (SF, %) y prenatal (SP, %) a los 18 días de gestación y el peso vivo de los fetos (PFV, g) y de sus placentas (PPV, g) a los 18 días de gestación.

	D	HPD <sub>95%</sub>	P (%)	r	Ps (%)	Pr (%)	MCse	Z
TO	3,1	0,8 ; 5,4	100	1,5	8	92	0,01	1,24
IE	0,0	-2,0 ; 2,4	50	1,0	80	11	0,01	1,56
SE	-10,6	-19,3 ; -0,3	99	5,0	12	88	0,05	0,55
SF	-7,2	-16,9 ; 3,6	92	5,0	31	68	0,06	0,35
SP	-10,2	-18,6 ; 0,5	95	5,0	15	85	0,07	-0,01
PFV	0,12	-0,05 ; 0,35	88	10,0	36	62	0,02	-0,28
PPV	0,26	0,10 ; 0,48	99	10,0	12	88	0,03	-0,54

D: media posterior de la diferencia entre las conejas superovuladas y control; HPD<sub>95%</sub>: región de alta densidad posterior al 95%; P: probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero si la diferencia es positiva y probabilidad de que la diferencia sea menor que cero si la diferencia es negativa; r: valor relevante; Ps: probabilidad de similitud (probabilidad de que la D se encuentre en el intervalo de  $-r$  y  $r$ ); Pr: probabilidad de relevancia (probabilidad de que D sea mayor que  $r$  si la diferencia es mayor que cero y probabilidad de que D sea menor que  $-r$  si la diferencia es menor que cero); MCse: error estándar de Monte Carlo; Z: valor Z del test de Geweke.

## EFFECT OF SUPEROVULATION ON EMBRYO AND FOETAL SURVIVAL ON MULTIPAROUS DOES

**ABSTRACT:** Increased ovulation rate by selection did not result in a proportionally increased on number of born alive in rabbits. In this study, the effect of 50 IU eCG on ovulation rate, embryo and foetal survival at day 18 of pregnancy, and foetal and placental weights in multiparous rabbit females were investigated. The superovulated females had a higher ovulation rate (around 3 ova) than the control females. However, these females decreased the embryo survival until implantation (-7.2%), showing the same number of implanted embryos. Besides, foetal survival was also decreased (-10.2%) in superovulated females compared to control females, showing a lower number of live foetus at day 18 of pregnancy. Superovulated females presented heavier foetuses (0.12 g) and foetal placenta (0.26 g) than control females.

**Keywords:** Embryo survival, foetal survival, rabbit, superovulation.

## **LA PRODUCCIÓN DE INTERFERÓN GAMMA (IFN- $\gamma$ ) SE ASOCIA A UNA MENOR CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROTEÍNA ASOCIADA A LA GESTACIÓN-1 Y -2 (PAG-1 Y PAG-2) EN VACAS LECHERAS GESTANTES CRÓNICAMENTE INFECTADAS POR *NEOSPORA CANINUM***

Serrano-Pérez<sup>1</sup>, B., García-Ispierto<sup>1</sup>, I., Nogareda<sup>1</sup>, C., Almería<sup>2</sup>, S., y López-Gatius<sup>1</sup>, F.  
<sup>1</sup>Dpto. Producción Animal, Universidad de Lleida, Lleida, España. <sup>2</sup>Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), UAB-IRTA, Bellaterra, Barcelona, España. [bserrano@prodan.udl.cat](mailto:bserrano@prodan.udl.cat)

### **INTRODUCCIÓN**

*Neospora caninum* es un parásito coccidio intracelular que causa aborto en ganado vacuno lechero a nivel mundial (Dubey y Schares, 2011). En el noreste español, el riesgo de aborto en vacas seropositivas es 12-18 veces comparado con el resto de animales, con tasas de abortos de hasta 44% (López-Gatius et al., 2004). En trabajos previos, se ha demostrado que la inseminación de vacas frisonas seropositivas a *N. caninum* con semen de toros de razas cárnicas reduce el riesgo de aborto (López-Gatius, 2005), e incrementa los valores de las proteínas asociadas a la gestación (PAG) respecto al uso de semen frisón (Serrano et al., 2009). En rumiantes, las PAGs se han clasificado en dos grandes grupos: el grupo 1, el más abundante, que se expresa en las células binucleadas del trofotodermo, y el grupo 2 que se expresa de manera más uniforme por todo el trofotodermo (Green et al., 2000). Su función se desconoce, aunque en vacas seropositivas a *N. caninum* parecen ser un indicador de aborto (López-Gatius et al., 2007a, García-Ispierto et al., 2012). Por otra parte, la producción de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) confiere protección contra el aborto y se asocia con una menor respuesta humoral (López-Gatius et al., 2007b; Almería et al., 2009). El objetivo de este estudio fue investigar la interacción de IFN- $\gamma$  y las Proteínas Asociadas a la Gestación de grupo 1 (PAG-1), y grupo 2 (PAG-2) en vacas lecheras crónicamente infectadas por *N. caninum*.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Este estudio se realizó en una granja comercial de vacas de alta producción lechera situada en la franja Lleida-Huesca, con una historia conocida de abortos asociados a *N. caninum*. Se incluyeron 43 vacas gestantes crónicamente infectadas por *N. caninum* que no abortaron, en condiciones óptimas de manejo y alimentación. Las vacas se inseminaron artificialmente con dosis seminales de toros de aptitud cárnica de fertilidad probada. Los diagnósticos de gestación se realizaron el día 28-34 tras la inseminación mediante ecografía transrectal, y los días 90, 120, 150, 180 mediante palpación rectal. No se incluyeron gestaciones gemelares en el estudio. De cada animal se tomaron muestras de sangre de la vena coccígea en tubos con EDTA (10 ml) (BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company, Plymouth, GB) los días ( $\pm 4$  días) 40, 90, 120, 150, 180 y 210 de gestación. La sangre se centrifugó inmediatamente (1500 g, 10 min), y el plasma recogido se conservó a -80°C. La concentración plasmática de PAG-1 y PAG-2 se determinó mediante radioinmunoensayo (RIA) (García-Ispierto et al., 2012). La determinación de IFN- $\gamma$  se realizó mediante ELISA con un kit comercial (Bovine IFN- $\gamma$  EASIA, Biosource, Nivelles, Bélgica) (López-Gatius et al., 2007b). La seropositividad frente a *N. caninum* se determinó mediante análisis serológicos anuales con un kit ELISA comercial (CIVTEST® anti-*Neospora*; Hipra, Girona, España). De cada animal se tomaron datos de la concentración plasmática de IFN- $\gamma$ , PAG-1 y PAG-2 los días 40, 90, 120, 150, 180 y 210 de gestación. Las vacas se clasificaron como productoras (presencia de IFN- $\gamma$  en al menos una muestra durante el periodo de estudio) o no productoras de IFN- $\gamma$ . Los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis de medidas repetidas GLM ANOVA con el paquete estadístico SPSS v.17 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). Los valores medios se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar (SD).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

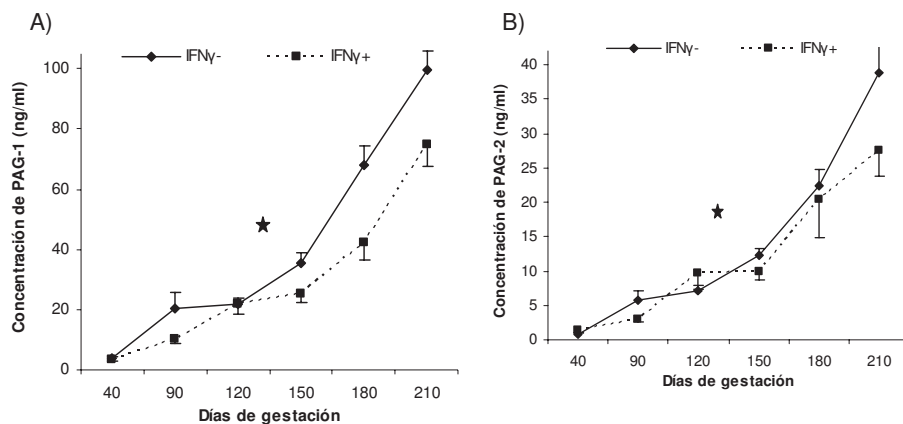
La lactación media de las vacas incluidas en el estudio fue de  $2,4 \pm 1,5$ , con una producción lechera a día 50 de lactación de  $43,0 \pm 8,4$  kg. El 21% de los animales presentaron al menos una muestra de plasma positiva a IFN- $\gamma$  durante el estudio. El día de gestación y la producción de IFN- $\gamma$  afectaron significativamente las concentraciones plasmáticas de PAG-1 y PAG-2. Los niveles de PAG-1 y PAG-2 incrementaron con el tiempo de gestación ( $P < 0,001$ ). Las vacas no productoras de IFN- $\gamma$  presentaron niveles significativamente superiores de PAG-1 durante el periodo de estudio ( $P = 0,025$ , Fig 1A; efecto intersujetos) y un mayor incremento de PAG-1 y PAG-2 ( $P = 0,007$ , Fig. 1A y  $P = 0,038$ , Fig. 1B, respectivamente; efecto intrasujetos) el día 120 de gestación, respecto a las vacas productoras de IFN- $\gamma$ . El IFN- $\gamma$  se asocia a la respuesta inmune celular (respuesta Th1), y ejerce función protectora ante infecciones por protozoos aunque su producción continuada puede ser potencialmente dañina en hembras gestantes (Almería et al., 2009). La función de las PAGs parece estar relacionada con el mantenimiento de la gestación mediante la inmunosupresión materna a nivel local (Klisch et al., 2008, Egen et al., 2009). La gestación implica el equilibrio de multitud de procesos fisiológicos. De este modo, la producción de IFN- $\gamma$  en vacas crónicamente infectadas por *N. caninum* no abortadas afectaría la secreción de PAGs, principalmente secretadas por las células binucleadas, posiblemente por procesos inflamatorios asociados a esta molécula (López-Gatius et al., 2009). En conclusión, los animales crónicamente infectados por *N. caninum* productores de IFN- $\gamma$  presentaron una menor concentración plasmática de PAG-1 durante la gestación y un menor incremento de PAG-1 y PAG-2 el día 120 de gestación respecto a las no productoras de IFN- $\gamma$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almería S, Nogareda C, Santolaria P, García-Ispuerto I, Yániz JL, López-Gatius F. 2009. Vet Immunol Immunopathol. 130:35-42.
- Dubey JP, Schares G. 2011. Vet Parasitol, 180:90-108.
- Egen TE, Ealy AD, Landon LA, Roberts RM, Green JA. 2009. Animal. 3:850-7.
- Ganguly B. and Prasad S. 2012. J Anim Sci Biotechnol. 3:13.
- García-Ispuerto I, Almería S, Serrano B, de Sousa N, Beckers J, López-Gatius F. 2012. Reprod Domest Anim. (en prensa).
- Green JA, Xie S, Quan X, Bao B, Gan X, Mathialagan N, Beckers JF, Roberts RM. 2000. Biol. Reprod. 62: 1624-1631.
- Klisch K, Jeanrond E, Pang PC, Pich A, Schuler G, Dantzer V, Kowalewski MP, Dell A. 2008. Glycobiology 18:42-52.
- López-Gatius F, Pabón M, Almería S, 2004. Theriogenology 62, 606–613.
- López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Garbayo JM, Almería S. 2005. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 52:88-92.
- Lopez-Gatius F, Garbayo JM, Santolaria P, Yániz JL, Almería S, Ayad A, de Sousa NM, Beckers JF. 2007a. Theriogenology 67:502-508.
- Lopez-Gatius F, Almería S, Donofrio G, Nogareda C, García-Ispuerto I, Bech-Sabat G, Santolaria P, Yániz JL, Pabon M, de Sousa NM, Beckers JF. 2007b. Theriogenology 68:1067-1073.
- López-Gatius F, Almería S, Yániz JL, Santolaria P, Nogareda C, Mezo M, Gonzalez-Warleta, M, Castro-Hermida, J. A, de Sousa NM, Beckers JF. 2009. Pregnancy Protein Research, Nova Science Publishers 123-134
- Serrano B, López-Gatius F, Santolaria P, Almería S, García-Ispuerto I, Bech-Sabat G, Sulon J, de Sousa NM, Beckers JF, Yániz JL. 2009. Reprod Domest Anim. 44:600 –5.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por los proyectos MICINN (AGL2012-39830-C02-01 y AGL2012-39830-C02-02).





**Figura 1.** Efecto de la producción de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) (IFN $\gamma$ -, n=34 vs. IFN $\gamma$ +, n=9) sobre la concentración plasmática de proteína asociada a la gestación -1 (PAG-1) (A) y -2 (PAG-2) (B) en vacas de leche

#### GAMMA INTERFERON PRODUCTION IS RELATED TO LOWER PREGNANCY ASSOCIATED GLYCOPROTEIN-1 AND -2 (PAG-1 AND PAG-2) CONCENTRATIONS IN NON-ABORTING CHRONICALLY *NEOSPORA CANINUM*-INFECTED DAIRY COWS

**ABSTRACT:** The objective of this work was to study the interaction between gamma interferon (IFN- $\gamma$ ) production and plasma pregnancy-associated glycoprotein-1 (PAG-1) and -2 (PAG-2) concentrations throughout pregnancy in non-aborting chronically *Neospora caninum*-infected cows. Gamma interferon was detected at some point along the pregnancy in 9 (21%) of the 43 *Neospora*-seropositive cows. General lineal models (GLM) repeated measures ANOVA revealed significant effect of IFN- $\gamma$  production on plasma PAG-1 and PAG-2. IFN- $\gamma$  production was related to lower PAG-1 concentrations throughout gestation ( $P < 0.05$ ), respect to cows not producing IFN- $\gamma$ . Moreover, cows not producing IFN- $\gamma$  showed significantly increased PAG-1 and PAG-2 concentrations at Day 120 of gestation ( $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ , respectively), respect to cows producing IFN- $\gamma$ . These results indicate that IFN- $\gamma$  production has an effect on placental PAG secretion in non aborting *Neospora*-infected cows.

**Keywords:** *Neospora caninum*, gamma interferon, pregnancy associated glycoproteins, dairy cows.

## **EFFECTO DE DIVERSOS FACTORES DE EXPLOTACIÓN SOBRE EL INTERVALO ENTRE PARTOS DE VACAS MORUCHAS Y MORUCHA x CHAROLÉS**

Álvarez, S. y Palacios, C.

Área de Producción Animal. Universidad de Salamanca.

Filiberto Villalobos 119, 37007 Salamanca. salvarez@usal.es

### **INTRODUCCIÓN**

La fertilidad es un factor fundamental en la rentabilidad de una explotación de vacuno de carne. Muy especialmente en el área de dehesa, donde con frecuencia las explotaciones albergan exclusivamente la fase de reproducción y cría, y los animales se venden al destete, con edades en torno a los 6 o 7 meses. Hay diversos factores que influyen en la fertilidad (Osoro, 1986; Daza y González, 1997), tanto inherentes a la madre (edad, tipo genético...) como externos, sobre todo la alimentación (que puede variar de un año a otro, a pesar de ser animales que reciben alimentación suplementaria). En este trabajo, se analiza la fertilidad medida a través del intervalo entre partos, y se busca la influencia que puede tener la edad de la vaca y el año, así como del tipo genético, comparando vacas Moruchas con vacas cruzadas procedentes de madre Morucha y padre Charolés.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se han analizado 456 intervalos entre partos de 189 vacas, 150 Moruchas y 39 Moruchas x Charolés, pertenecientes a dos ganaderías situadas en la provincia de Salamanca, a lo largo de 3 años. En ambas ganaderías se utilizan sementales finalizadores Charolés o Limusín, y la paridera se concentra entre los meses de septiembre y abril, puesto que los toros se retiran desde agosto a noviembre. En ambos casos, además del pasto natural (con una carga ganadera de 0,4 UGM/ha), los animales reciben alimentación suplementaria en épocas de escasez, especialmente entre los meses de agosto y marzo, basada en heno de leguminosas y cereal (aproximadamente 5 kg por vaca y día) o pienso comercial (entre 1 y 2 kg por vaca y día). La primera cubrición es tardía, con una edad entre 20 y 28 meses, de manera que el primer parto se da en torno a los 3 años.

Se han analizado los intervalos entre partos mediante análisis de varianza dentro de un modelo que incluye como efectos fijos la ganadería, el año, el tipo genético de la vaca y la edad (considerando tres grupos: 4 años, que corresponde al intervalo que sigue al primer parto; de 5 a 11 años; y 12 años o más, con objeto de determinar si las primíparas tenían un intervalo entre partos superior a las vacas adultas, así como si en vacas que se consideran ya en la vejez se observaba un mayor intervalo). Ninguna de las interacciones entre estos factores resultó significativa. El análisis se ha realizado con el procedimiento GLM del programa estadístico Statgraphics.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El intervalo medio ( $\pm$ S.E.) obtenido es de 393,55 ( $\pm$ 5,99) días. Respecto a otras razas que se explotan en condiciones similares, es inferior aunque muy similar al que recogen Daza y González (1997) para Retinta, y también inferior al que mencionan López de Torre *et al.* (1989) y Muñoz *et al.* (1995) para esa misma raza. También es inferior al que estudian Caballero y Buxadé (1995) para vacas de lidia, así como al que mencionan Porras y Ojeda (2000) para Berrendo en Colorado. El intervalo obtenido para Morucha es, por otra parte, superior al que aporta Legide (1996) para Rubia gallega de montaña, así como al que obtienen Ormazábal y Osoro (1995) para Asturiana de los Valles; y sin embargo es inferior al que Vieira *et al.* (2007) recogen para la raza portuguesa Barrosã.

Como se detalla en la tabla 1, no se han encontrado diferencias significativas entre el intervalo de las vacas primíparas y los siguientes, a diferencia de otros autores para razas españolas y francesas de carne (López de Torre *et al.*, 1989; Agabriel, 1992; Caballero y Buxadé, 1995; Liénard *et al.*, 2002); aunque también hay trabajos que no encuentran diferencias entre primíparas y múltiparas, como en nuestro caso (Ormazábal y Osoro, 1995; Legide, 1996). Consideramos que en nuestro caso puede deberse tanto a la edad tardía a la primera cubrición como sobre todo a un adecuado manejo de la alimentación suplementaria, que podría evitar las deficiencias que pueden padecer las primíparas debido a sus necesidades de crecimiento. Por otra parte, la facilidad de parto de la raza puede también evitar los problemas al parto que son frecuentes en novillas según recogen diversos autores, y a los que se considera también causa de un primer intervalo entre partos mayor que los siguientes (Osoro, 1986).

Sin embargo, sí se ha observado un aumento significativo en los intervalos entre partos de vacas de 12 años o más, al igual que recogen Daza y González (1997) en Retinta y Legide (1996) en Rubia gallega.

En los tres años estudiados se han encontrado diferencias significativas, de forma que en el primero de los estudiados, 2009-2010, los resultados son claramente inferiores (mayor intervalo entre partos) (tabla 1); son resultados coherentes con otros trabajos (Caballero y Buxadé, 1995; Ormazábal y Osoro, 1995; Daza y González, 1997), y que pueden reflejar el carácter extensivo de la producción, dependiente en gran medida de las condiciones meteorológicas, puesto que en la época de cubrición la primavera fue especialmente seca. Sin embargo, otros factores pueden también tener influencia, por ejemplo la aplicación obligatoria de determinadas vacunas que estableció la Administración.

No se han encontrado diferencias significativas entre las ganaderías analizadas, a diferencia de otros trabajos análogos (Caballero y Buxadé, 1995; Muñoz *et al.*, 1995; Daza y González, 1997), ni tampoco analizando los intervalos de vacas Moruchas de raza pura y vacas resultantes del primer cruce con Charolés, como ocurre a Daza y González (1997), que comparan Retinta y Charolés x Retinta, si bien al igual que en este trabajo el número de vacas cruzadas es muy inferior al de vacas puras y es posible que una muestra más equilibrada diera lugar a diferencias.

Así pues, al analizar el intervalo entre partos no se ha encontrado un efecto de la edad en vacas primíparas, pero al estudiar vacas de más de 12 años para valorar el efecto en los animales de más edad, sí se han encontrado diferencias significativas, de forma que este grupo muestra un intervalo mayor. Así mismo, existen diferencias entre los años estudiados, pero no entre las dos ganaderías analizadas. Tampoco la comparación entre vacas de raza pura o las que resultan del cruce con Charolés, si bien este efecto debería estudiarse con más animales cruzados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agabriel, J., Grenet, N., Petit, M. 1992. "État corporel et intervalle entre vêlages chez la vache allaitante. Bilan de deux années d'enquêtes en exploitation", INRA Prod. Anim. 5 (5): 355-369.
- Caballero, J.R., Buxadé, C. 1995. "Efecto de algunos factores ambientales sobre el intervalo entre partos en vacas de lidia", ITEA vol. extra 16 (I): 401-403.
- Daza, A., González, M. 1997. "Variación del intervalo entre partos de vacas Retintas y Charolais x Retinta sometidas a paridera continua", Arch. Zootec. 46: 347-355.
- Legide, M., 1996. "El intervalo entre partos en la Rubia gallega de montaña", Arch. Zootec. 44: 75-78.
- López de Torre, G., García-Barreto, L.J., Jiménez-Carmona, J.M. 1989. "Influencia del número de gestación y época de parto sobre el intervalo entre partos en vacuno Retinto", Investig.

agrar., Prod. Sanid. anim., 4 (1): 45-51. • Liénard, G., Lherm, M., Pizaine, M.C., Le Maréchal, J.Y., Boussange, B., Barlet, D., Esteve, P., Bouchy, R. 2002. "Productivité de trois races bovines françaises, Limousine, Charolaise et Salers. Bilan de 10 ans d'observations en exploitations", INRA Prod. Anim. 15 (4): 293-312. • Ormazábal, J.J., Osoro, K. 1995. "Factores que afectan al rendimiento reproductivo de vacas de raza Asturiana de Valles", ITEA vol. extra 16 (I): 407-409. • Osoro, K. 1986. "Efecto de las principales variables de manejo sobre los parámetros reproductivos en las vacas de cría", Investig. agrar. Prod. Sanid. anim., 1(1-2): 89-111. • Porras, C.J., Ojeda, J. 2000. "Algunos datos reproductivos del vacuno berrendo en colorado en extensivo", Arch. Zootec. 49: 59-62. • Vieira, A.N., Antunes, V., Costa, M.C., Vieira, J., Cerqueira, E., Costa, M.L., Martínez, M.G., Oliveira, J.C. 2007. "Parámetros reproductivos en la población bovina autóctona portuguesa Barrosã: efectos significativos para el intervalo entre partos de la raza", ITEA vol. extra 28 (I): 87-89.

**Tabla 1.** Efecto de los factores estudiados sobre el intervalo entre partos

	N	Media $\pm$ error estándar	Nivel de significación
Media general	456	393,55 $\pm$ 5,99	
<u>Año</u>			
2009-2010	151	405,81 $\pm$ 7,89 <sup>a</sup>	P<0,1
2010-2011	154	388,45 $\pm$ 7,83 <sup>b</sup>	
2011-2012	151	386,38 $\pm$ 7,87 <sup>b</sup>	
<u>Edad</u>			
4 años	62	382,78 $\pm$ 9,94 <sup>a</sup>	P<0,05
De 5 a 11 años	348	376,52 $\pm$ 4,90 <sup>a</sup>	
12 o más años	46	421,35 $\pm$ 12,18 <sup>b</sup>	
<u>Ganadería</u>			
1	244	397,07 $\pm$ 7,24	NS
2	212	390,03 $\pm$ 6,80	
<u>Genética</u>			
Morucha	365	389,66 $\pm$ 5,41	NS
Morucha x Charolés	91	397,43 $\pm$ 9,29	

<sup>a, b</sup>: Superíndices diferentes dentro de cada factor indican diferencias significativas al nivel indicado en la última columna. NS: No significativo.

### EFFECT OF SEVERAL FACTORS ON CALVING INTERVAL IN MORUCHA AND MORUCHA x CHAROLAIS COWS

**ABSTRACT:** 456 calving intervals of 189 cows have been analyzed in order to know the effect of age, genetics (Morucha vs. Morucha x Charolais), year and farm on fertility. Mean interval is 393.55 ( $\pm$  5.99) days, similar to other Spanish breeds which are also kept in extensive systems. No effect of genetics or farm has been found. Age causes longer calving interval when cows are 12 or more year-old (421.35  $\pm$  12.18), but there was no effect on first calving interval (382.78  $\pm$  9.94) days vs. 376.52  $\pm$  4.90 in cows aged 5-11 years), perhaps because first service is very late (at the age of 20-28 months) or supplementary feeding is correct. First year has shown significant differences, whereas the other two years have not differences.

**Keywords:** Morucha, calving interval, fertility, extensive cattle.

## **EFFECTOS DEL NIVEL DE ALIMENTACIÓN DURANTE LA LACTACIÓN Y LA RECRÍA SOBRE EL CRECIMIENTO DE NOVILLAS DE RAZA PARDA DE MONTAÑA**

Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A. y Casasús, I.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón.  
Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. jarodriguezs@ext.aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

Los sistemas de producción de vacuno de carne basan su eficiencia en la productividad del rebaño de vacas madres, considerando su rendimiento reproductivo, vida útil y capacidad de criar terneros, aspectos que pueden estar influidos por el manejo que las novillas reciben durante la fase de lactación y recría. Por tanto, las novillas deberían seguir un programa de recría específico que les permita alcanzar un primer parto a edad temprana con desarrollo suficiente para no presentar complicaciones al parto y que garantice una larga y eficiente vida productiva (Patterson *et al.*, 1992). Sin embargo, debido, en parte, a la extensificación de los sistemas productivos (García-Martínez *et al.*, 2009), en algunas ocasiones, no se lleva a cabo este manejo diferenciado de las novillas.

En este contexto, el objetivo de este ensayo fue analizar las repercusiones del nivel de alimentación durante la lactación (0-6 meses (m)) y la recría (6-15 m) sobre el crecimiento de novillas de raza Parda de Montaña nacidas en otoño, desde su nacimiento hasta el destete de su primer ternero.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 29 terneras de raza Parda de Montaña nacidas en otoño de 2009 a partir de un núcleo de 62 vacas gestantes. El ensayo comprendió desde el nacimiento de las terneras hasta el destete de sus primeras crías (aproximadamente 30 meses de vida), y se desarrolló en las instalaciones del CITA en Montañana (Zaragoza) (6-20 m) y en la Finca Experimental "La Garcipollera" (Pirineo oscense) (0-6 y 20-30 m). Estas terneras se dividieron en cuatro lotes homogéneos, en peso y fecha de nacimiento, para aplicar un diseño factorial de dos objetivos de crecimiento en lactación (LACT 0-6 m: 1000 vs. 700 g/d, alto (A) y bajo (B), respectivamente) y dos en recría (RECR 6-15 m: 1000 vs. 700 g/d, alto (A) y bajo (B), respectivamente) (Lotes: AA, AB, BA y BB).

Durante la fase de lactación las madres se alimentaron con 12 kg de una ración completa comercial (FND: 58%; PB: 9,9%) que cubría sus necesidades teóricas de mantenimiento y producción. Los lotes LACT alto (AA y AB) dispusieron a voluntad de un preparado comercial de arranque (FND: 24%; PB: 18,6%) suministrado en tolva (consumo registrado diariamente por lote), mientras que los lotes LACT bajo (BA y BB) recibieron únicamente la leche de las madres.

En la fase de recría las novillas de los cuatro lotes recibieron heno de alfalfa a voluntad (FND: 53,2%; PB: 11,9%). Además, los lotes RECR alto (AA y BA) fueron suplementados con 12 g de pienso de crecimiento/kg de peso vivo (PV) (FND: 27,2%; PB: 15,7%) y los lotes RECR bajo (AB y BB) con 6 g de pienso de crecimiento/kg PV. La ingestión en este periodo se registró por lote en dos réplicas por cada uno de los cuatro tratamientos.

A los 15 meses se realizó una sincronización de celos para posteriormente inseminar a todas las novillas (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013a). A partir de este momento los cuatro lotes dispusieron de la misma dieta, basada en forraje, en establo o pastoreo de praderas de montaña.

Después del parto, los cuatro lotes recibieron 11 kg de una ración completa comercial (FND: 58%; PB: 9,9%) formulada para cubrir las necesidades teóricas de mantenimiento, desarrollo y lactación. Los terneros recibieron sólo leche durante toda la lactación.

Las novillas se pesaron semanalmente durante los 30 meses de ensayo y la GMD en cada periodo se estimó por regresión lineal del peso sobre la fecha. En la fase de recría se tomaron muestras semanales de sangre para determinar la concentración de progesterona circulante como indicadora del inicio de pubertad (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013a) y en su primera lactación dos muestras semanales de sangre para determinar la duración del anestro postparto (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013b). En su primera lactación se tomó la condición corporal al parto y al destete, y se llevaron a cabo ordeños mensuales para determinar la producción y calidad de leche, y los terneros fueron pesados semanalmente para controlar su crecimiento (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013b). Como resultados

preliminares se presenta en esta comunicación la evolución de los pesos de las novillas a lo largo de los 30 meses de ensayo.

Se realizaron análisis de varianza (PROC GLM) con los niveles establecidos durante las fases de lactación y recría y su interacción como efectos fijos. Se presentan los valores medios de cada tratamiento, el error estándar de la media (e.e.m.) y las diferencias entre medias establecidas mediante el test de LSD Fisher ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la fase de lactación, con un consumo de leche similar (7,2 kg/d), la provisión de pienso a voluntad (consumo medio: 1,37 kg/d) permitió a los lotes LACT alto una mayor ganancia de peso (1,063 vs. 0,671 kg/d para alto y bajo, respectivamente,  $P < 0,001$ ) tanto en los tres primeros meses como, de manera más acusada, en la segunda mitad de esta fase (Tabla 1). Esto fue debido a que en los primeros meses de vida el consumo fue menor, pasando de 0,2 kg/d en los dos primeros meses hasta una media de 3,45 kg/d durante el último mes de lactación. De esta forma se confirma lo descrito por Casasús *et al.* (2001 a y b) y Blanco *et al.* (2008) con terneros para cebo de la misma raza y en las mismas condiciones.

En la fase de recría, las ganancias se vieron influidas por el nivel de alimentación aplicado en este periodo, con mayor ganancia en las novillas RECR alto frente a las de RECR bajo (0,961 vs. 0,667 kg/d, respectivamente,  $P < 0,001$ ). Esta diferencia probablemente fue debida, en parte, a un menor consumo de pienso (4,2 vs. 1,7 kg/d para RECR alto y bajo, respectivamente) que los lotes RECR bajo compensaron parcialmente con un mayor consumo del heno de alfalfa (5,2 vs. 6,8 kg/d, respectivamente). De igual modo, las ganancias en la fase de recría, estuvieron influidas por los rendimientos de la fase previa, de manera que los lotes LACT bajo tuvieron crecimientos superiores durante la recría (0,758 vs. 0,870 kg/d para LACT alto y bajo, respectivamente,  $P < 0,001$ ) compensando parcialmente la menor ganancia observada en la fase previa. Sin embargo, este crecimiento compensador fue más intenso los dos primeros trimestres de la recría y no observándose diferencias en el último. El consumo de pienso y heno fue similar entre ambos tratamientos (2,9 y 6,1 kg/d de pienso y forraje, respectivamente). A la vista de los resultados preliminares obtenidos y a falta de concluir los análisis, cabría pensar en una mayor eficiencia de conversión en los animales en crecimiento compensador (Hoch *et al.*, 2005). A pesar de este mayor crecimiento, debido a la acusada diferencia de peso al destete (226 vs. 162 kg para LACT alto y bajo, respectivamente,  $P < 0,001$ ) (Figura 1), la compensación no fue completa, y a los 15 meses de edad persistían diferencias de peso entre lotes (456 vs. 415 kg LACT alto y bajo, respectivamente,  $P < 0,01$ ).

**Tabla 1.** Rendimientos de las novillas a lo largo del ciclo productivo

LACT (0-6 m)	Bajo		Alto		e.e.m	LACT	RECR	LxR
	Bajo (BB)	Alto (BA)	Bajo (AB)	Alto (AA)				
RECR (6-15 m)								
GMD 0-3 m	0,652 c	0,769 bc	0,875 ab	0,909 a	0,07	***	NS	NS
GMD 3-6 m	0,649 b	0,653 b	1,228 a	1,239 a	0,07	***	NS	NS
GMD 6-9 m	0,589 c	1,022 a	0,456 d	0,871 b	0,07	***	***	NS
GMD 9-12 m	0,868 b	1,070 a	0,689 c	1,082 a	0,07	*	***	**
GMD 12-15 m	0,835 bc	0,947 a	0,761 c	0,937 ab	0,07	NS	***	NS
GMD lactación (0-6 m)	0,643 b	0,699 b	1,046 a	1,079 a	0,07	***	NS	NS
GMD recría (6-15 m)	0,742 c	0,997 a	0,592 d	0,924 b	0,05	***	***	NS
GMD gestación (15 m-parto)	0,330 a	0,244 a	0,327 a	0,066 b	0,07	**	***	*
GMD lactación (120 d)	-0,063	-0,110	0,012	-0,120	0,18	NS	NS	NS

NS:  $P > 0,05$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ ;

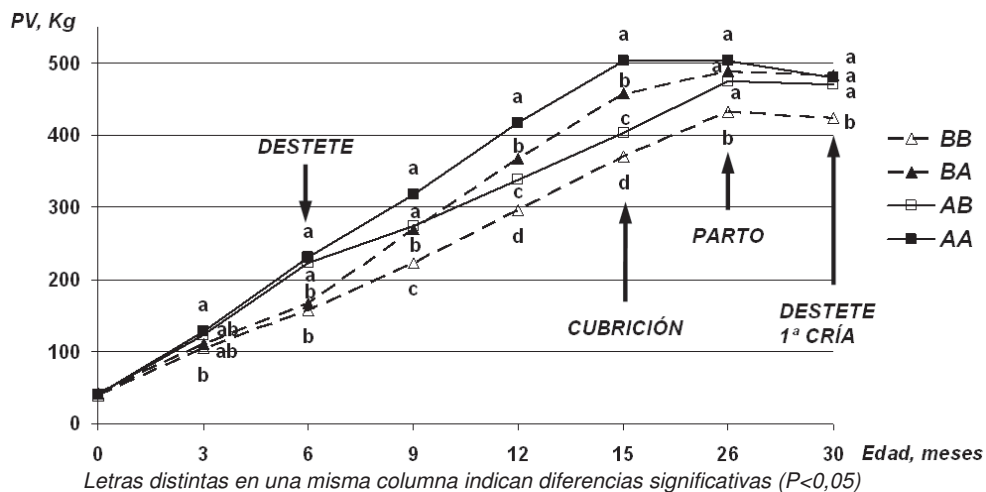
GMD: Ganancia Media Diaria

Letras distintas en una misma línea indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

Durante la gestación, a pesar de que todas las novillas dispusieron de la misma dieta, el lote AA presentó una GMD inferior al resto de lotes ( $P < 0,05$ ). El mayor crecimiento presentado

por el resto de lotes llegó a compensar las diferencias de peso registradas a los 15 meses, igualando el peso al parto de todas las novillas excepto las del lote BB. La GMD en este periodo estuvo influida en menor medida por la fase de lactación ( $P < 0,01$ ) que por la fase de recría ( $P < 0,001$ ). Todas las novillas mantuvieron su peso a lo largo de la lactación de su primera cría, independientemente de la alimentación recibida en LACT o RECR.

A la vista de estos resultados preliminares se podría concluir que en función de la disponibilidad alimenticia, las novillas son capaces de compensar crecimientos bajos ocurridos en fases previas. En sistemas extensivos, si se pretende adelantar la primera inseminación de los 21 a los 15 meses de edad, los resultados apuntarían a la necesidad de garantizar crecimientos cercanos a 1 kg/d en lactación o en recría, siendo la primera opción, *a priori*, más económica.



Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

**Figura 1.** Evolución del peso de las novillas a lo largo del ensayo

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Blanco *et al.*, 2008. *Livest. Sci.* 115, 226–234. • Casasús *et al.*, 2001a. IX Jornadas Prod. Anim. AIDA. pp. 433-435. • Casasús *et al.*, 2001b. IX Jornadas Prod. Anim. AIDA. pp. 436-438. • García-Martínez *et al.*, 2009. *Animal* 3, 152-165. • Hoch *et al.*, 2005. *Anim. Res.* 54: 241–257. • Patterson *et al.*, 1992. *J. Anim. Sci.* 70, 4018-4035. • Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013 (a y b). XV Jornadas Prod. Anim. AIDA.

**Agradecimientos:** Financiado por INIA (RTA 2010-57, RZP 2009-05 y RZP 2010-02). Los autores expresan su agradecimiento al personal del CITA (J. Ferrer, J.M. Acín, J. Casaus, M.A. Pueyo, N. Mladenov, E. León, E. Morago y P. Enfedaque).

### EFFECTS OF NUTRITION LEVEL DURING LACTATION AND REARING PERIODS ON GROWTH PATTERNS OF PARDA DE MONTAÑA HEIFERS

**ABSTRACT:** This study analysed the effects of different nutrition levels from heifers' birth to first Timed Artificial Insemination (TAI) at 15 months, on their growth patterns. Twenty-nine Parda de Montaña heifers, born in autumn, were assigned to two nutrition levels during lactation (0-6 months: High vs. Low) and rearing (6-15 months: High vs. Low). Productive and reproductive parameters were controlled from heifers' birth until weaning of their first calves (30 months). It can be concluded that, depending on the food availability, heifers would be able to compensate lower growth rates in previous phases. In extensive systems, using TAI at 15 months, it will be necessary to guarantee growth rates close to 1 kg/d during lactation or/and rearing, the first option consuming less amount of concentrate.

**Keywords:** beef cattle, growth, replacement, management.

## REPERCUSIÓN DEL RITMO DE CRECIMIENTO EN LACTACIÓN Y RECRÍA DE NOVILLAS SOBRE LA ENTRADA EN PUBERTAD Y LA FERTILIDAD

Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A. y Casasús, I.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón.  
Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. jarodriguezs@ext.aragon.es

### INTRODUCCIÓN

La recría es el tiempo que transcurre desde el destete de una ternera hasta su primera cubrición. Este periodo es fundamental en la vida productiva del animal debido a que el manejo recibido en esta fase puede influir en factores tan importantes como la edad a la que alcanza la pubertad y la edad y fertilidad a la primera cubrición, el desarrollo que alcance la vaca, el número total de terneros producidos en la vida útil, etc. El manejo proporcionado en esta fase puede repercutir en la productividad del rebaño, por lo que este aspecto es uno de los que determina la eficiencia en los sistemas de producción de vacuno de carne a pesar de que en ocasiones no es considerado como tal.

En el proceso de recría de las novillas, el inicio de la pubertad representa una primera etapa fundamental (Revilla *et al.*, 1992) y puede verse afectada por factores genéticos, como la raza (siendo las razas cárnicas menos precoces que las lecheras), y ambientales, como la estación de nacimiento y el estado nutricional. Según Olleta *et al.* (1991), la pubertad se alcanzaría a un determinado "*peso crítico*", constante para cada raza.

El programa de manejo seguido en la recría debería permitir que la mayoría de las novillas lleguen púberes al inicio de la época de cubrición.

El objetivo de este ensayo fue analizar el efecto de distintas pautas de crecimiento, durante las fases de lactación y recría, en novillas Parda de Montaña sobre su entrada en pubertad y sobre la fertilidad obtenida con inseminación artificial a tiempo fijo a los 15 meses (m) de edad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para ello, se utilizaron 29 terneras de raza Parda de Montaña nacidas en otoño de 2009, que se dividieron en cuatro lotes homogéneos, en peso y fecha de nacimiento, para aplicar un diseño factorial de dos objetivos de crecimiento en lactación (LACT 0-6 m: 1000 vs. 700 g/d, alto (A) y bajo (B), respectivamente) y dos en recría (RECR 6-15 m: 1000 vs. 700 g/d, alto (A) y bajo (B), respectivamente) (Lotes: AA, AB, BA y BB). El manejo recibido por las novillas en este ensayo ha sido descrito en Rodríguez-Sánchez *et al.* (2013a).

A lo largo de todo el ensayo las novillas se pesaron semanalmente. Para estimar el inicio de pubertad se tomaron muestras semanales de sangre durante toda la recría, para determinar la concentración plasmática de progesterona mediante ensayo inmunoenzimático (Ridgeway Science, Reino Unido). Se consideró que una novilla entraba en pubertad cuando su nivel de progesterona en plasma era superior a 1 ng/ml en dos muestras consecutivas. Cuando finalizó la recría tres novillas no habían entrado en pubertad y se consideró como inicio de pubertad el día de inicio de la sincronización de celos.

A los 15 meses se inició una sincronización de celos mediante una combinación de progestágenos (espiral intravaginal: PRID; CEVA, España), GnRH (Busol; INVESA, España), prostaglandina F<sub>2α</sub> (Enzaprost, CEVA, España) y PMSG (Foligón, Intervet, España), para proceder 14 días más tarde a la inseminación artificial a tiempo fijo. Durante tres meses se mantuvo una observación visual de las novillas dos veces al día para detectar el celo en las no fecundadas y proceder a su inseminación 12 horas después del inicio del celo. A los 31 días de la primera inseminación y al final de los tres meses se realizaron diagnósticos de gestación (ecógrafo Aloka SSD-500V (Aloka, Japón), sonda transrectal de 7,5 MHz de frecuencia).

Se realizaron análisis de varianza (PROC GLM) con los niveles establecidos durante las fases de lactación y recría y su interacción como efectos fijos. Se presentan los valores medios de cada tratamiento, el error estándar de la media (e.e.m.) y las diferencias entre medias establecidas mediante el test de LSD Fisher (P<0,05). La fertilidad se analizó mediante una prueba  $\chi^2$  (PROC FREQ).



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias en el peso al inicio de la pubertad entre lotes (Tabla 1), confirmando estudios previos que indican que ésta se alcanza a un peso crítico para cada raza (Olleta *et al.*, 1991). En el caso de la Parda de Montaña, Olleta *et al.* (1991) consideraron que el inicio de la pubertad se alcanzaría con una media de 328 kg de peso vivo (PV). De igual modo, Freetly *et al.* (2011) han sugerido que las novillas de un amplio rango de razas llegan a la pubertad cuando alcanzan el 56% del peso adulto. Teniendo en cuenta que Casasús *et al.* (2002) describieron un peso adulto de 586 kg en esta raza, el peso al que se alcanzaría la pubertad según Freetly *et al.* (2011) coincide con el descrito por Olleta *et al.* (1991) y también con los resultados obtenidos en el presente estudio, puesto que la pubertad se alcanzó con una media de 327 kg de PV.

En este ensayo se observó una marcada relación entre la edad a la pubertad y el ritmo de crecimiento previo, de forma que un incremento en el ritmo de crecimiento de las novillas desde el nacimiento hasta el inicio de pubertad se relacionó una reducción en la edad a la pubertad ( $r = -0,77$ ,  $P < 0,001$ ). Las diferencias encontradas en este ensayo en la edad de inicio de pubertad fueron debidas al manejo aplicado en la fase de lactación (10,3 vs. 12,0 m de edad a la pubertad en los lotes LACT alto y bajo, respectivamente,  $P < 0,01$ ) y en mayor medida al ritmo de crecimiento registrado en la fase de recría (9,8 vs. 12,5 m de edad a la pubertad en los lotes RECR alto y bajo, respectivamente,  $P < 0,001$ ). Esto contrasta con lo expuesto por otros autores que consideran más influyente el ritmo de crecimiento en la fase de lactación que el de la fase de recría (Wiltbank *et al.*, 1966), y con lo descrito por Revilla *et al.* (1989), que no encontraron diferencias en la edad a la pubertad de novillas de esta misma raza, debido probablemente a que en aquella ocasión el rango de los ritmos de crecimiento entre el destete y la pubertad fue menor.

**Tabla 1.** Efecto de las pautas de crecimiento en lactación y recría sobre la entrada en pubertad y la fertilidad de novillas con inseminación artificial a tiempo fijo a 15 meses

LACT (0-6 m)	Bajo		Alto		e.e.m	LACT	RECR	LxR
	Bajo (BB)	Alto (BA)	Bajo (AB)	Alto (AA)				
RECR (6-15 m)								
Edad destete, m	5,8	5,6	5,7	5,8	0,33	NS	NS	NS
Peso destete, kg	157,7 b	166,3 b	222,9 a	230,2 a	17,63	***	NS	NS
Edad a la pubertad, m	13,6 a	10,4 bc	11,3 b	9,3 c	1,00	**	***	NS
Peso a la pubertad, kg	333,5	319,7	326,2	328,7	26,23	NS	NS	NS
GMD nac_dest, kg/d	0,643 b	0,699 b	1,046 a	1,079 a	0,07	***	NS	NS
GMD dest_puber, kg/d	0,716 c	1,006 a	0,521 d	0,852 b	0,06	***	***	NS
GMD nac_puber, kg/d	0,683 c	0,871 b	0,834 b	1,079 a	0,04	***	***	NS
PV IA fecundante, kg	380,0 d	485,6 b	435,6 c	531,7 a	22,94	***	***	NS
Edad IA fecundante, m	15,9	16,7	16,6	16,4	1,00	NS	NS	NS
n° IA necesarias	1,20	2,25	2,00	1,67	0,96	NS	NS	NS
Fertilidad	6/7	8/8	7/7	5/7		NS	NS	

NS:  $P > 0,05$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ ;

GMD: Ganancia Media Diaria; IA: Inseminación Artificial; nac\_dest: nacimiento-destete; dest\_puber: destete-pubertad; nac\_puber: nacimiento-pubertad

Letras distintas en una misma línea indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

Como muestra la Tabla 1, no se encontraron diferencias en la edad al inicio de pubertad entre los lotes RECR alto (AA y BA), a pesar de la gran diferencia de peso al destete, debido probablemente al efecto compensador que presentó el lote BA, que le llevó a alcanzar el mayor rendimiento desde el destete hasta el inicio de la pubertad (1,006 kg/d). Por el contrario, el lote AB presentó el menor rendimiento en este periodo (0,521 kg/d) lo que le llevó a no presentar diferencias en la edad de inicio de pubertad con el lote BA, a pesar de la diferencia de peso con la que comenzaron la recría. Además, esta baja ganancia del lote AB produjo diferencias entre la edad de inicio de pubertad del lote AB y el AA, a pesar de haber comenzado la recría con pesos similares, tras un crecimiento alto en LACT.

El 90% de las novillas del ensayo estaban púberes 60 días antes del inicio del protocolo de sincronización. De este modo, se cumplió uno de los objetivos principales de la recría descritos por Gasser (2013), que las novillas estén púberes 30-45 días antes del inicio de la cubrición puesto que la fertilidad aumenta hasta un 21% del primer al tercer celo de las novillas (Perry, 2012). Sin embargo, hubo tres novillas del lote BB que, a pesar de contar con peso y edad aparentemente adecuados (482, 463 y 454 días de edad y 410, 335 y 353 kg de PV respectivamente), no estaban púberes al inicio de la cubrición. La inclusión de un progestágeno en el protocolo de sincronización de este ensayo hizo que estas tres novillas ovularan y quedaran gestantes en la primera inseminación, confirmando los resultados descritos por Perry (2012).

Una recomendación común en recría de novillas es que deben llegar a la cubrición con un peso cercano al 65% del peso adulto (Gasser, 2013). Teniendo en cuenta los 586 kg de PV adulto descritos por Casasús *et al.* (2002) en esta raza, la primera cubrición debería producirse con un peso cercano a los 381 kg de PV. Según describe Rodríguez-Sánchez *et al.* (2013a), todos los lotes del ensayo cumplían esta premisa aunque se encontraron diferencias entre los pesos de todos los lotes. Estas diferencias fueron debidas tanto al ritmo de crecimiento de LACT como al de RECR. Sin embargo, los diferentes manejos en LACT y RECR no influyeron en la edad a la que se consiguió la inseminación fecundante por haberse llevado a cabo el protocolo de sincronización en todos los lotes a la vez y no encontrar diferencias en el número de inseminaciones necesarias para llegar a ella. Tampoco se encontraron diferencias en la fertilidad presentada por los lotes, quedando únicamente tres novillas vacías al final de la cubrición (2 del lote AA y 1 del lote BB).

De estos resultados preliminares se puede concluir que distintos ritmos de crecimiento en la lactación y la recría proporcionan diferentes edades de inicio de pubertad y pesos a la cubrición. Sin embargo, estas diferencias no influirían ni en la edad a la cubrición ni en la fertilidad de las novillas, lo que confirmaría la viabilidad de adelantar la primera cubrición de los 21 a los 15 meses de edad en vacuno de carne. Esto favorecería aumentar el número de terneros por vaca a lo largo de su vida productiva, a falta de conocer las repercusiones de este manejo en el tamaño adulto que alcancen las novillas y los posibles problemas de distocias, tanto en el primer parto como en los posteriores.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Casasús *et al.*, 2002. J. Anim. Sci. 80: 1638-1651. • Freedly *et al.*, 2011. J. Anim. Sci. 89: 2373-2379. • Gasser, 2013. J. Anim. Sci. *jas.2012-6008*. • Olleta *et al.*, 1991. ITEA Vol. Extra 11: 97-99. • Perry, 2012. J. Anim. Sci. 90: 1172-1182. • Revilla *et al.*, 1989. ITEA Vol. Extra 9: 274-276. • Revilla *et al.*, 1992. Bovis 46: 45-65. • Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013a. XV Jornadas Prod. Anim. AIDA. • Wiltbank *et al.*, 1966. J. Anim. Sci. 25: 744-751.

**Agradecimientos:** Financiado por INIA (RTA 2010-57, RZP 2009-05 y RZP 2010-02). Los autores expresan su agradecimiento al personal del CITA (J. Ferrer, J.M. Acín, J. Casaus, M.A. Pueyo, N. Mladenov, E. León, E. Morago, P. Enfedaque, J. Pérez y P. Eseverri).

#### CONSEQUENCES OF GROWTH PATTERNS DURING LACTATION AND REARING PERIODS ON ONSET OF PUBERTY AND FERTILITY IN BEEF HEIFERS

**ABSTRACT:** This study analysed the effect of different growth patterns from heifers' birth to first mating, on their subsequent puberty onset and fertility at Timed Artificial Insemination at 15 months. Twenty-nine Parda de Montaña heifers, born in autumn, were assigned to two nutrition levels during lactation (0-6 months: High vs. Low) and rearing (6-15 months: High vs. Low). The age at puberty onset was affected by the nutrition level offered during lactation (10.3 vs. 12.0 months, in High and Low,  $P < 0.01$ ) and rearing period (9.8 vs. 12.5 months in High and Low,  $P < 0.001$ ). However, no differences were found in the age at conception (16.4 months) or fertility (89%). These preliminary results would confirm the feasibility of advancing the first service from 21 to 15 months of age in beef cattle, if no impact on adult size and dystocia frequency are registered at first and subsequent calvings.

**Keywords:** beef cattle, nutrition, replacement, reproductive performance.

## RENDIMIENTOS DE VACAS PRIMÍPARAS CON PARTO A DOS AÑOS EN FUNCIÓN DE SU RITMO DE CRECIMIENTO EN LACTACIÓN Y RECRÍA

Rodríguez-Sánchez, J.A., Sanz, A. y Casasús, I.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón.  
Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. jarodriguezs@ext.aragon.es

### INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de vacuno de carne deberían seguir un programa de recría específico que permitiera a las novillas alcanzar el primer parto a edad temprana con desarrollo suficiente para reducir el periodo improductivo del animal y no presentar complicaciones al parto, minimizar su periodo anéstrico tras el parto y criar a sus terneros con un adecuado peso al destete, además de para garantizar una larga y eficiente vida productiva (Patterson *et al.*, 1992). Esto se podría conseguir a través de la intervención en el ritmo de crecimiento de las novillas, puesto que al aumentar el ritmo de crecimiento se ha reducido la edad de inicio de pubertad (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013a) y ha sido posible adelantar la edad al primer parto. Sin embargo, un crecimiento acelerado puede ser perjudicial para el desarrollo mamario y por tanto para la futura producción de leche (Zanton y Heinrichs, 2005), que podría afectar al crecimiento del ternero, al menos en la primera lactación. De igual modo, el ritmo de crecimiento puede influir en la condición corporal (CC) de la vaca al parto, asociándose un engrasamiento excesivo al parto con distocias y retrasos en la reactivación ovárica postparto (Le Cozler *et al.*, 2008).

En este contexto, el objetivo de este ensayo fue analizar las repercusiones del ritmo de crecimiento durante la lactación y la recría sobre los rendimientos productivos y reproductivos de las vacas primíparas, con parto en torno a dos años, y sus crías.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 25 novillas preñadas de raza Parda de Montaña nacidas en otoño de 2009. Estas novillas habían sido divididas en cuatro lotes homogéneos, en peso y fecha de nacimiento, para aplicar un diseño factorial de dos objetivos de crecimiento en lactación (LACT 0-6 meses: 1000 vs. 700 g/d, alto (A) y bajo (B), respectivamente) y dos en recría (RECR 6-15 meses: 1000 vs. 700 g/d, alto (A) y bajo (B), respectivamente) (Lotes: AA, AB, BA y BB). El manejo recibido por las novillas en este ensayo ha sido descrito en Rodríguez-Sánchez *et al.* (2013b).

A lo largo de toda la lactación, vaca y ternero fueron pesados semanalmente. Se tomó la condición corporal de la vaca al parto y al destete utilizando el método de Lowman *et al.* (1976). Se hizo un ordeño mensual para estimar la producción de leche mediante la técnica descrita por Le Du *et al.* (1979) y determinar su calidad (Milkoscan 4000; Foss Electric, Dinamarca) durante los cuatro meses que duró la lactación. La producción de leche corregida por energía (ECM) se calculó mediante la ecuación de Østergaard (1996).

Para estimar la duración del anestro postparto (APP) se tomaron dos muestras semanales de sangre durante toda la lactación, para determinar la concentración plasmática de progesterona mediante enzimoimmunoensayo (Ridgeway Science, Reino Unido). Se consideró que una vaca estaba cíclica cuando su nivel de progesterona en sangre era superior a 1 ng/ml en dos muestras consecutivas. En vacas que no estuvieron cíclicas antes del final de la lactación se consideró como duración del anestro postparto los días de duración de la lactación.

Se realizaron análisis de varianza (PROC GLM) con los niveles establecidos durante las fases de lactación y recría y su interacción como efectos fijos. Se presentan los valores medios de cada tratamiento, el error estándar de la media (e.e.m.) y las diferencias entre medias establecidas mediante el test de LSD Fisher ( $P < 0,05$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A pesar de que el parto se produjo en torno a los dos años de edad, el peso en este momento (475 kg de peso vivo (PV)) fue similar al descrito por Revilla *et al.* (1989) para novillas de esta misma raza con parto a los 2,5 años (483 kg PV). El peso de las novillas fue similar en todos los lotes excepto en el tratamiento BB, que presentó un peso inferior al resto (Tabla 1). Estas diferencias estuvieron influidas tanto por el manejo en lactación (489,1 vs. 461,0 kg PV en los lotes LACT alto y bajo, respectivamente,  $P < 0,05$ ) como, en mayor

medida, por el manejo de la recría (495,8 vs. 454,4 kg PV en los lotes RECR alto y bajo, respectivamente,  $P<0,01$ ). A lo largo de la lactación de las vacas primíparas, independientemente de la alimentación recibida en LACT o RECR, todas ellas mantuvieron su peso. Debido a esto, las diferencias de peso encontradas al parto se reflejaron en el peso de las vacas al destete, aunque el efecto residual del manejo en lactación se expresó únicamente como tendencia. Independientemente del manejo recibido, todas las vacas llegaron al parto, y posteriormente al destete, con una condición corporal superior al 2,5.

**Tabla 1. Parámetros productivos y reproductivos de vacas primíparas**

LACT (0-6 meses)	Bajo		Alto		e.e.m	LACT	RECR	LxR
RECR (6-15 meses)	Bajo (BB)	Alto (BA)	Bajo (AB)	Alto (AA)				
<b>Vacas</b>								
Edad al parto, meses	25,6	26,6	26,4	26,2	1,03	NS	NS	NS
Peso al parto, kg	433,2 b	488,7 a	475,5 a	502,8 a	21,87	*	**	NS
Peso al destete, kg	423,8 b	483,6 a	470,5 a	479,3 a	21,05	0,06	**	*
GMD Parto-Destete, kg/d	-0,063	-0,110	0,012	-0,120	0,18	NS	NS	NS
CC al parto	2,56	2,59	2,60	2,56	0,08	NS	NS	NS
CC al destete	2,55	2,50	2,60	2,56	0,14	NS	NS	NS
APP, d	112,6	78,6	100,3	76,8	25,75	NS	*	NS
<b>Terneros</b>								
PV al nacimiento, kg	36,6 b	41,4 a	35,5 b	36,3 b	3,03	0,05	0,07	NS
PV al destete, kg	130,5	127,5	125,3	148,5	17,30	NS	NS	NS
GMD en lactación, kg/d	0,779	0,718	0,737	0,910	0,14	NS	NS	NS
<b>Producción y calidad de leche</b>								
Producción bruta, kg/d	6,59	7,27	6,74	7,83	0,88	NS	NS	NS
ECM, kg/d	5,73	6,60	5,95	6,58	0,71	NS	NS	NS
Proteína, g/kg	65,9	72,7	67,4	78,3	1,70	NS	NS	NS
Grasa, g/kg	57,3	66,0	59,5	65,8	2,68	NS	NS	NS
Lactosa, g/kg	31,5	32,5	33,0	30,7	1,44	NS	NS	NS
Extracto seco magro, g/kg	30,8	33,6	31,2	29,4	1,94	NS	NS	NS
Caseína, g/kg	47,2	49,4	47,0	48,5	1,41	NS	NS	NS

NS:  $P>0,05$ ; \*:  $P<0,05$ ; \*\*:  $P<0,01$ ; ECM: Producción corregida por energía

Letras distintas en una misma línea indican diferencias significativas ( $P<0,05$ )

La producción de leche no se vio afectada por el adelanto de la edad al parto puesto que Blasco (1991) describió una producción lechera, para novillas de esta misma raza y con parto a 2,5 años, similar a la obtenida en este ensayo (7,2 vs. 7,1 kg, respectivamente). Ni la producción ni la calidad de leche se vieron afectados por los distintos manejos recibidos a lo largo del ciclo productivo. Esto contrasta con lo descrito por Zanton y Heinrichs (2005) que apuntaban a una ganancia media diaria (GMD) prepuberal de 800 g/d como la óptima para maximizar la producción de leche en la primera lactación, indicando que si este ritmo se superaba (como sucedió en el lote AA; 1,079 g/d (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013a)) se podría perjudicar el desarrollo de la ubre por un engrasamiento excesivo. De igual modo, otros autores apuntan a la gran influencia que tiene el peso al parto y la GMD tras la pubertad sobre la producción lechera en la primera lactación (Macdonald *et al.*, 2005). En el presente ensayo el lote BB presentó un peso al parto inferior al resto y la GMD postpuberal fue diferente entre lotes (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013b) y esto no se tradujo en diferencias en la producción de leche.

En cuanto a los terneros, su peso al nacimiento tendió a verse influido tanto por el manejo que recibió la madre como ternera lactante (35,9 vs. 39,0 kg PV para los lotes LACT alto y bajo, respectivamente,  $P=0,05$ ) como por el que recibió en la recría (38,9 vs. 36,1 kg PV para los lotes RECR alto y bajo, respectivamente,  $P=0,07$ ). El lote BA presentó unos pesos superiores al resto derivados quizá del crecimiento compensador expresado por este lote (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013b). Ni la GMD ni el peso al destete de los terneros se vieron

influidos por el manejo recibido por sus madres. La edad al parto no influyó en la GMD de los terneros, que fue similar a la presentada por sus madres como terneras lactantes, siendo éstas hijas de vacas múltiparas (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013b).

No se encontraron diferencias significativas en la duración del APP entre lotes LACT, ni en la interacción LACT-REC, debido probablemente a la gran variabilidad encontrada en este parámetro. Además, la reactivación ovárica podría estar influida por otros factores que en este ensayo no mostraron diferencias entre lotes, como son una condición corporal óptima al parto (condiciones corporales muy altas o muy bajas podrían aumentar la duración del APP (Le Cozler *et al.*, 2008)), la producción de leche (a mayor producción mayor podría ser la duración del APP), el método de crianza del ternero (la permanencia continua del ternero con su madre aumentaría la duración del APP (Sanz *et al.*, 2003)) o la edad al parto. La duración del APP sí estuvo influida por el ritmo de crecimiento de las novillas en recría encontrándose cíclicos los lotes RECR alto 29 días antes que los lotes RECR bajo (77,7 vs. 106,5 d, respectivamente,  $P < 0,05$ ). El APP de los lotes RECR alto (77 d) es similar al descrito por Álvarez-Rodríguez *et al.* (2010) (79 d) en vacas primíparas de la misma raza, con el mismo manejo del ternero y similar condición corporal al parto, a pesar de que el parto de dichas novillas se produjo en torno a los tres años frente al parto a los dos años del presente ensayo. De todos modos, estos datos son superiores a los descritos por Sanz *et al.* (2004), que obtuvieron un APP de 54 días en vacas primíparas de la misma raza. Esta diferencia podría ser debida a que en el ensayo de Sanz *et al.* (2004) los terneros tuvieron un acceso restringido a la madre.

En este ensayo los distintos ritmos de crecimiento en lactación y recría, y el adelanto del parto en torno a los dos años, no afectaron en gran medida a los rendimientos productivos de las primíparas. La duración del APP se vio alargada en los lotes con un ritmo de crecimiento bajo en la recría. A la vista de estos resultados preliminares se podría concluir que con un crecimiento cercano a 1 kg/d en la recría sería factible adelantar el parto a los dos años sin perjudicar los rendimientos productivos ni alargar la duración del APP.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Rodríguez *et al.*, 2010. *Livest. Sci.* 129: 111-121.
- Blasco, 1991. Tesis Doctoral.
- Le Cozler *et al.*, 2008. *Animal* 2: 1393-1404.
- Le Du *et al.*, 1979 *Livest. Prod. Sci.* 6: 277-281.
- Lowman *et al.*, 1976. *East of Scotland College of Agriculture Bulletin* 6: 1-31.
- Macdonald *et al.*, 2005. *J. Dairy Sci.* 88: 3363-3375.
- Østergaard *et al.*, 1996. *Livest. Prod. Sci.* 45: 23-33.
- Patterson *et al.*, 1992. *J. Anim. Sci.* 70, 4018-4035.
- Revilla *et al.*, 1989. *ITEA Vol. Extra 9: 274-276.*
- Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013 (a y b). *XV Jornadas Prod. Anim. AIDA.*
- Sanz *et al.*, 2003. *Anim. Repr. Sci.* 79: 57-69.
- Sanz *et al.*, 2004. *Livest. Prod. Sci.* 86: 179-191.
- Zanton y Heinrichs, 2005. *J. Dairy Sci.* 88: 3860-3867.

**Agradecimientos:** Financiado por INIA (RTA 2010-57, RZP 2009-05 y RZP 2010-02). Los autores expresan su agradecimiento al personal del CITA (J. Ferrer, J.M. Acín, J. Casaus, M.A. Pueyo, N. Mladenov, E. León, E. Morago, P. Enfedaque, J. Pérez y P. Eseverri).

#### PERFORMANCE OF TWO YEAR OLD CALVING PRIMIPAROUS COWS AS AFFECTED BY THEIR GROWTH PATTERNS DURING LACTATION AND REARING PERIODS

**ABSTRACT:** An experiment was conducted to analyse the performance in primiparous cows calving at two years, depending on their growth patterns from birth to first mating (Timed Artificial Insemination at 15 months). Twenty-five Parda de Montaña heifers, born in autumn, were assigned to two nutrition levels during lactation (0-6 months: High vs. Low) and rearing periods (6-15 months: High vs. Low). Primiparous cows' performances were not significantly affected by the earlier first service at 15 months or the different growth patterns registered. Only the postpartum anoestrous interval was markedly longer in the animals with low nutrition level during the rearing period (77.7 vs. 106.5 days, for in High and Low,  $P < 0.05$ ). It would be feasible to advance the first calving at two years guaranteeing growth rates close to 1 kg/d during rearing period without impairing productive and reproductive parameters.

**Keywords:** cattle, anoestrous, replacement nutrition, efficiency.

## EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE CUBRICIÓN DE LOS MORUECOS

Mozo, R., Rivas, E., Alabart, J.L., Folch, J.

Unidad de Tecnología en Producción Animal. CITA. Avda. Montañana 930. 50059. Zaragoza. rmozo@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

La capacidad de los moruecos para cubrir al mayor número de hembras posible es una de las características más importantes dentro de la aptitud reproductiva de los machos empleados en monta natural. Se trata de una característica que presenta una heredabilidad moderada en ovinos ( $h^2=0,33 \pm 0,62$ ; Kilgour, 1985;  $h^2=0,22 \pm 0,04$  Snowden et al., 2002), por lo que podría mejorarse mediante selección. Sin embargo, se trata de un carácter muy poco atendido en los rebaños ovinos. Debido a la dificultad que presenta la valoración de este carácter, se han utilizado pruebas de comportamiento, como los tests de capacidad de cubrición (SCT; Serving Capacity Test), cuyos resultados se han relacionado con los observados en monta libre (Mattner et al., 1971; Kilgour and Whale, 1980; Perkins et al., 1992; Stellflug, 2002). Los SCT consisten en la observación del número de cubriciones por unidad de tiempo que realiza un macho. Estos SCT se han considerado como la medida predictiva más importante de su capacidad de cubrición. Por otro lado, el tamaño testicular es un carácter cuya selección podría ir ligada a la capacidad de cubrición. De hecho, se ha observado que las posibilidades de que una oveja quede gestante están relacionadas con la capacidad de cubrición y el tamaño testicular de los moruecos (Fowler, 1984). De hecho, la capacidad de cubrición ya se emplea en el vacuno como parte del índice de selección de los sementales (García-Paloma, 2011).

El presente trabajo pretende poner a punto un test que relacione la capacidad de cubrición en monta libre en pastoreo permanente con la capacidad de cubrición en el aprisco.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 9 moruecos Rasa Aragonesa, con experiencia sexual previa. Se realizó un test de comportamiento en monta libre (TML) cuando los machos tenían  $347,7 \pm 1,4$  días de edad. Los moruecos se introdujeron en el mes de febrero en un rebaño de 170 ovejas en condiciones de ciclo no inducido alojadas en una pradera (de 0,6 ha). El comportamiento de cubrición fue observado de 8:00 AM a 10:00 AM durante tres días. Para cada morueco se registró: el número de montas (incorporaciones sobre la grupa de la oveja) y el número de cubriciones (montas con golpe de riñón). Un mes después de finalizar la cubrición, se midió el diámetro testicular (DT) con un calibre y se estimó el peso testicular con un orquímetro (conjunto de bolas de silicona calibradas con testículos de moruecos; Oldham et al., 1978). El DT medio se calculó haciendo la media entre el DT anteroposterior máximo derecho e izquierdo, y restándole el grosor de un pliegue de la piel del escroto de la misma zona (Folch, 1984; Vijil et al., 1986). Se pesó a los moruecos y se calculó el DT corregido por el peso vivo (DTc). El DTc se calculó mediante la fórmula:  $Y_{cj} = Y_j + b * (X_m - X_j)$ , donde:  $Y_{cj}$  es el DTc del macho "j";  $Y_j$  es el DT medio del macho "j";  $b$  es la pendiente de la ecuación de regresión [DT x Peso Vivo (PV)];  $X_m$  es el PV medio del conjunto de machos (PVm) y  $X_j$  es el PV del macho "j".

En el aprisco, se realizaron dos SCT durante dos semanas consecutivas (uno por semana) manteniendo a cada macho durante 60 minutos en un apartado de  $3 \times 3$  m con 3 ovejas adultas sincronizadas (30 mg de acetato de fluorogestona 14 días + 480 UI de gonadotropina coriónica equina) y con libertad de movimiento. Se registró el número de acercamientos laterales, de montas y de cubriciones realizados durante los primeros 10, 30 y 60 minutos. Para el estudio estadístico se utilizó el software SPSS 15.0 para Windows. Las correlaciones entre las diferentes variables se determinaron mediante los coeficientes de correlación de *Pearson* o de rangos de *Spearman* según el tipo de variable. Con el fin de clasificar los moruecos en función de una sola variable, se realizó un estudio de componentes principales con las variables número de montas y número de cubriciones en el TML y número de cubriciones y número de acercamientos laterales en los SCT de 30 minutos. Finalmente, la primera componente principal se correlacionó con el DTc.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron correlaciones positivas significativas cuando se compararon entre sí los resultados para las diferentes variables analizadas en los SCT a los 10, 30 y 60 minutos (10 vs. 30,  $r=0,916$ ; 10 vs. 60,  $r=0,880$ ; 30 vs. 60,  $r=0,983$ ; cada uno,  $P<0,001$ ). Además, se observó una correlación positiva significativa entre el número total de cubriciones durante los 3 días del TML y el número de cubriciones obtenidas en los SCT durante 10, 30 y 60 minutos (Tabla 1). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores (Perkins et al., 1992; Kilgour, 1993; Stellflug et al., 2006, 2008). El parámetro de los SCT que mejor se correlacionó con el número de cubriciones en monta libre fue el número de cubriciones a los 30 minutos.

El DT fue  $4,7 \pm 0,2$  cm (media  $\pm$  ES; rango: 4,2 - 5,7 cm) que correspondió a un peso testicular estimado de  $216,7 \pm 26,4$  g (150 - 400 g) y el peso corporal fue de  $57,3 \pm 1,9$  kg (70 - 70,8 kg). El DT presentó una correlación significativa con el peso vivo, y con el peso testicular estimado ( $r=0,84$  y  $r=0,89$  respectivamente;  $P<0,01$ ). La primera componente principal extraída del análisis explicó el 68,4% de la varianza y presentó una mayor correlación positiva con las características más importantes en los moruecos (Cubriciones en TML: 0,596; Acercamientos laterales en SCT 30 minutos: 0,855; Cubriciones en SCT 30 minutos: 0,982). También estuvo correlacionada con el DTc ( $r=0,690$ ;  $P<0,05$ ; gráfico 1), indicando la existencia de una relación entre el tamaño testicular corregido en función del peso vivo de los machos y su capacidad de cubrición.

En conclusión, la capacidad de cubrición de los moruecos en pastoreo libre estuvo correlacionada con el comportamiento observado en los SCT de 30 minutos, y la variable obtenida de ambas pruebas (SCT y TML) con el tamaño testicular corregido por el peso vivo. La relación entre las observaciones en el test de monta libre y los test realizados en el aprisco sugiere que estos test pueden ser indicativos de la capacidad de cubrición del morueco.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

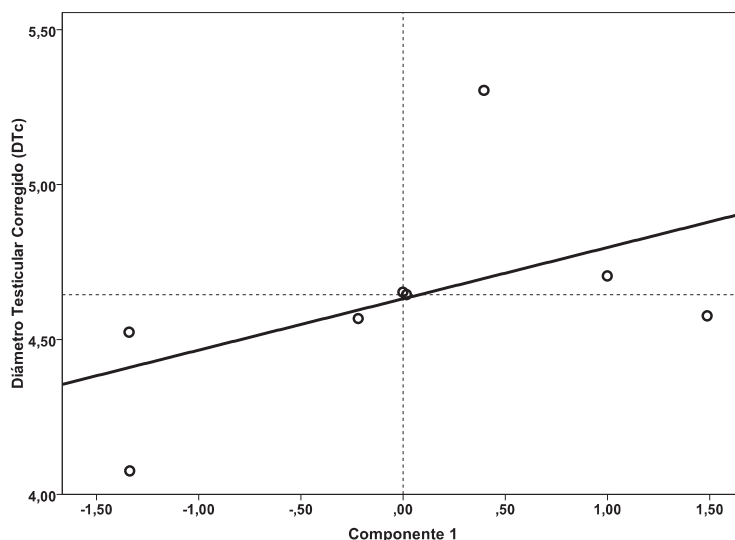
Folch, J., 1984. In: *The Male in Farm Animal Reproduction*. M. Courot, Ed., Nouzilly, pp. 141-160. • Fowler, D., 1984. In: *Reproduction in Sheep*. Lindsay, D.P. Ed., Aust. Acad. Sci., Camberra, pp. 39-46. • García-Paloma, J. A., Noval, G. & Rodríguez, A., 2011. AIDA XIV Jornadas sobre Producción Animal: 350-352 • Kilgour, R., 1985. *Aust J Exp Agr* 25: 298-305. • Kilgour, R., Whale, R., 1980. *Aust J Exp Agr* 20: 5-8. • Kilgour, R.J., 1993. *Theriogenology* 40: 277-285. • Mattner, P., Braden, A., George, J., 1971. *Anim Prod Sci* 11: 473-477. • Oldham, C., Gherardi, P., Lindsay, D., Mackintosh, J., & Adams, N., 1978. *Aust J Agr Res* 29:173-179. • Perkins, A., Fitzgerald, J.A. & Price, E.O., 1992. *J Anim Sci* 70: 2722-2725. • Snowden, G.D., Stellflug, J.N. & Van Vleck, L.D., 2002. *JAS* 80, 1508-1511. • Stellflug, J.N., 2002. *Anim Rep Sci* 70: 203-214. • Stellflug, J.N., Cockett, N.E. & Lewis, G.S., 2006. *JAS* 84, 463-468. • Stellflug, J.N., Cockett, N.E. & Lewis, G.S., 2008. *Anim Rep Sci* 104: 248-256. • Vijil, E., Gonzalo, C. & Ruiz-Poveda, J., 1986. XI Jornadas de la SEOC: 132 – 149.

**Agradecimientos:** A Miguel Ángel Navarro y Elías Echegoyen por su inestimable ayuda para el desarrollo de este experimento. Convenio de colaboración entre OVIARAGÓN – GRUPO PASTORES y CITA.

**Tabla 1.** Coeficientes de correlación entre resultados observados en el TML (Número de cubriciones y de montas) y el SCT (Número de cubriciones y de acercamientos laterales en diferentes momentos).

SCT	TML	
	Cubriciones	Montas
Número de cubriciones en 10 min	0,416*	0,531*
Acercamientos laterales en 10 min	0,065	0,293
Número de cubriciones en 30 min	0,558**	0,668**
Acercamientos laterales en 30 min	0,209	0,349
Número de cubriciones en 60 min	0,468*	0,623**
Acercamientos laterales en 60 min	0,281	0,442*

(\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ )



**Figura 1.** Relación entre el DTc de los moruecos y la primera componente principal.

### SERVING CAPACITY ASSESSMENT OF RAMS

**ABSTRACT:** The ability of rams to serve as many ewes as possible is a very important feature of reproductive capacity of rams. In order to implement a suitable test for its on-farm assessment, we studied the relationship of an in-pen Serving Capacity Test (SCT) with the serving capacity of rams in field conditions. A significant positive correlation was found between the number of services in field and number of services in pen at 10, 30 and 60 minutes ( $r = 0.416$ ,  $r = 0.558$  and  $r = 0.468$  respectively,  $P < 0.05$ ). Moreover, there was a positive correlation between testis size adjusted for body weight with behavior of males in SCT as well as in field conditions ( $r = 0.738$ ,  $P < 0.05$ ). In conclusion, sexual behavior of rams observed in a 30 minutes SCT is related to rams' behavior under field conditions and testicular size adjusted for body weight.

**Keywords:** Serving Capacity, Ram Sexual Behaviour, Sheep Reproduction, Testicular Weight.



## **EFFECTO DE LA DIETA Y DE LA MELATONINA EXOGENA SOBRE LA RESPUESTA HIPOFISARIA A LA GnRH DURANTE EL ANESTRO Y LA ESTACION REPRODUCTIVA EN OVEJAS RASA ARAGONESA**

Abecia, J.A., Forcada, F., Vázquez, M.I. y Palacín I.

Depto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. [alf@unizar.es](mailto:alf@unizar.es)

### **INTRODUCCIÓN**

La estacionalidad reproductiva de la oveja viene determinada por los cambios anuales del fotoperiodo, hecho que a su vez es regulado por la secreción nocturna de melatonina, cuya duración fluctúa a lo largo del año y que actúa a nivel de hipotálamo modulando la secreción pulsátil de GnRH (Karsch et al., 1984). Por otra parte, se ha demostrado que una subnutrición y/o una baja condición corporal producen cambios en la duración del anestro estacional en ovejas Rasa Aragonesa (Forcada et al., 1992). Además, el efecto de la melatonina sobre la tasa de ovulación es más pronunciado en ovejas subnutridas de la misma raza (Forcada et al., 1995). Nuestro grupo ha demostrado también que los mecanismos que relacionan el tratamiento con melatonina y la subnutrición en relación al desarrollo embrionario están regulados por la época del año (Vázquez et al., 2009), y que esta hormona mejora la competencia y el desarrollo oocitario particularmente en ovejas subnutridas (Vázquez et al., 2010). El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la interacción entre la melatonina exógena y la subnutrición sobre la respuesta hipofisaria a la GnRH, tanto en anestro como en la época de actividad sexual.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

La experiencia se desarrolló en el Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza, con procedimientos aprobados por la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal. Se utilizaron 19 ovejas de raza Rasa Aragonesa ovariectomizadas cuatro meses antes del inicio del experimento, que recibieron un implante subcutáneo de 1,5 cm de silastic relleno de estradiol dos meses antes del inicio del experimento. Éste se planteó como un diseño factorial 2x2x2, con la dieta (control vs. subnutrición), el tratamiento o no con melatonina y la época del año (anestro vs. estación reproductiva) como factores del modelo. Al inicio del anestro estacional (A) (2 de marzo), 10 ovejas (grupo +Mel) recibieron un implante subcutáneo de melatonina (Melovine, CEVA Salud Animal, Barcelona), permaneciendo otras 9 ovejas como lote control (grupo -Mel), no tratado. El 25 de marzo, las ovejas fueron trasladadas a boxes individuales (1,30 m x 1,30 m) con el fin de iniciar un periodo de adaptación al nuevo alojamiento, siendo alimentadas en base a sus necesidades de mantenimiento. El 1 de abril las ovejas fueron divididas en dos lotes en función de la dieta recibida (1,5x (control, C) ó 0,5x (bajo, B) veces las necesidades de mantenimiento), de tal modo que los lotes experimentales, en función la dieta y del tratamiento o no con melatonina fueron: grupo C+Mel (n=6), grupo B+Mel (n=4), grupo C-Mel (n=4) y grupo B-Mel (n=5). En todo momento las ovejas permanecieron en total aislamiento de machos. Con el fin de determinar la respuesta hipofisaria a la GnRH, basándose en la secreción de LH, el 21 de abril se tomaron muestras de sangre a través de catéteres colocados en la vena yugular, a intervalos de 10 min durante 3 h, comenzando a las 9:00 am. La concentración basal de LH se estimó como la media de las primeras 6 muestras, correspondientes a la primera hora de muestreo. Inmediatamente tras la extracción de la sexta muestra, se administró una única dosis de GnRH (20 ng/kg PV) por vena yugular, continuándose con la obtención de sangre durante las 2 horas posteriores (muestras 7-18). Al día siguiente todas las ovejas fueron trasladadas a un box común, recibiendo la dieta de mantenimiento. El mismo diseño experimental fue repetido durante la época reproductiva (ER), de modo que el 30 de septiembre la mitad de las ovejas fueron implantadas con melatonina, el 21 de octubre todas ellas fueron trasladadas a los boxes individuales, el 28 de octubre se iniciaron las dietas experimentales y el 18 de noviembre se procedió a la extracción de sangre. La respuesta hipofisaria a la GnRH se estimó como la diferencia entre la concentración plasmática de LH antes de la inyección de GnRH y la concentración más

elevada de LH observada después de la inyección (delta LH ó DLH). Se aplicó la fórmula trapezoidal para calcular el área bajo la curva de LH durante la primera hora tras la inyección (AUC1) y durante las 2 horas posteriores o área total (AUCT) (Rowland, 1989). Los niveles plasmáticos de LH fueron determinados por ELISA (Valares et al., 2007).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó un efecto significativo de la dieta (C:  $0,93 \pm 0,21$  ng/ml; B:  $1,46 \pm 0,29$  ng/ml;  $p < 0,05$ ) y de la estación (A:  $0,96 \pm 0,19$  ng/ml; ER:  $1,44 \pm 0,20$  ng/ml;  $p < 0,05$ ) sobre las concentraciones basales medias de LH antes de la administración de GnRH sin efecto del tratamiento con melatonina (Tabla 1). La administración de GnRH, tanto en abril como en octubre, aumentó de manera brusca las concentraciones plasmáticas de LH en todos los grupos (Figura 1). La primera muestra de sangre tras la GnRH, fue significativamente más elevada ( $p < 0,05$ ) en la época reproductiva ( $3,51 \pm 0,32$  ng/ml) que en anestro ( $2,57 \pm 0,25$  ng/ml), y en las ovejas no tratadas con melatonina ( $3,39 \pm 0,34$  ng/ml) frente a las tratadas ( $2,73 \pm 0,27$  ng/ml) ( $p = 0,097$ ). En ambas épocas del año, el análisis de varianza factorial mostró una ausencia de efecto del tratamiento con melatonina o de la dieta recibida por el animal, para el valor de DLH. Sin embargo, se detectó un efecto de la estación para el valor de AUC1 (A:  $13,82 \pm 1,34$ ; ER:  $18,28 \pm 6,35$ ;  $p < 0,05$ ) y AUCT (A:  $35,68 \pm 3,00$ ; ER:  $44,90 \pm 2,86$ ;  $p < 0,05$ ), siendo el efecto de la dieta cercano a la significación para AUCT (B:  $43,54 \pm 3,83$ ; C:  $37,03 \pm 1,93$ ;  $p < 0,1$ ).

**Tabla 1.** Concentraciones basales medias ( $\pm$  E.E.) de LH (ng/ml) antes de la administración de GnRH en ovejas OVX + E2 tratadas (+Mel) o no (-Mel) con melatonina y alimentadas para cubrir 1,5 (C) o 0,5 (B) veces las necesidades de mantenimiento, durante el anestro estacionario y la época reproductiva.

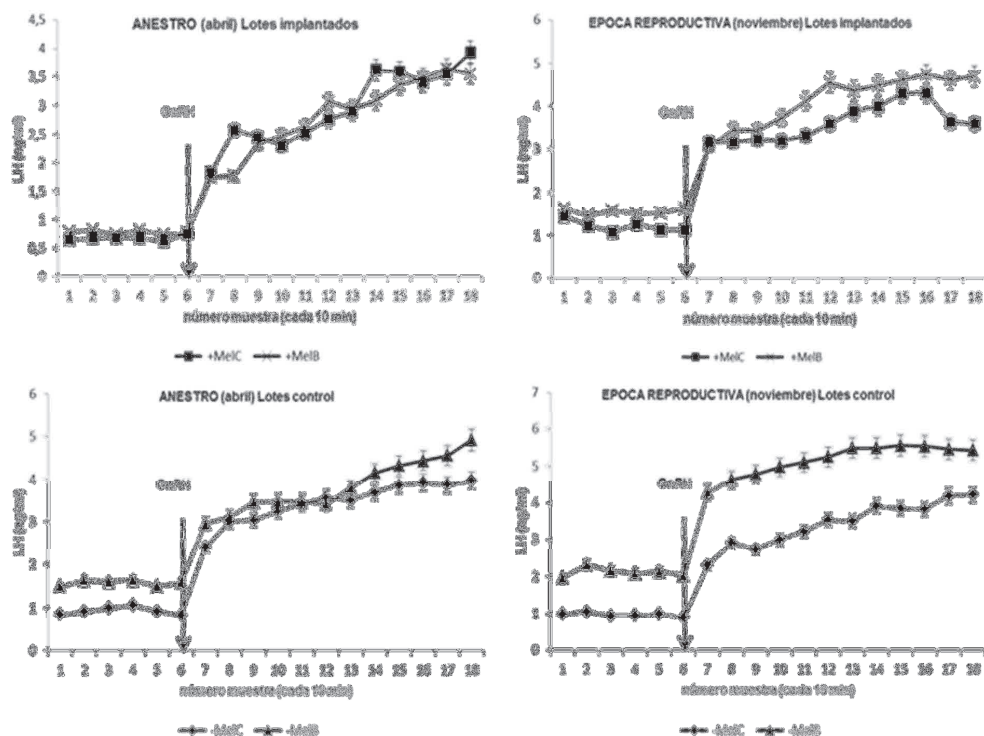
	Anestro		Época Reproductiva	
	+Mel	-Mel	+Mel	-Mel
C	$0,67 \pm 0,26$	$0,93 \pm 0,13$	$1,20 \pm 0,32$	$0,97 \pm 0,22$
B	$0,76 \pm 0,44$	$1,58 \pm 0,50$	$1,55 \pm 0,45$	$2,12 \pm 0,46$

En conclusión, se confirman las diferencias estacionales en la respuesta hipofisaria a la GnRH, provocadas por diferencias estacionales al feedback negativo del estradiol (Robinson et al., 1985). El tratamiento con melatonina no incrementó los niveles basales de LH, como ya hemos observado previamente (Forcada et al., 2003, 2007) ni ejerció ninguna influencia en la respuesta a la GnRH en ninguna de las dos dietas ofrecidas, quizás debido al aislamiento completo de los machos a lo largo de la experiencia (Zúñiga et al., 2002). Los mayores niveles basales de LH en los animales subnutridos, especialmente durante el anestro, coinciden con trabajos donde la subnutrición provocó una reducción de la frecuencia de pulsos pero un aumento de los niveles circulantes de LH, debido a una mayor amplitud de dichos pulsos, tanto en ovinos (Adam et al., 1997) como en roedores (Dong et al., 1993).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adam, C.L., Findlay P.A., Kyle, C.E. et al. 1997. J Endocrinol. 152: 329-337
- Dong, Q., Li, B., Rintala, H., et al. 1993. AJP - Endo. 265:304-313
- Forcada, F., Abecia, J.A. & Sierra, I. 1992. Small Rumin. Res. 8: 313-324
- Forcada, F., Zarazaga, L. & Abecia, J.A. 1995. Theriogenology 43: 1179-1193
- Forcada F., Abecia, J.A. & Zúñiga, O. 2003. Can. J. Anim. Sci. 83: 311-313
- Forcada, F., Abecia, J.A., Casao, A. et al. 2007. Theriogenology 67: 855-862
- Karsch, F.J., Bittman, E.L., Foster, D.L., et al. 1984. Recent Prog. Horm. Res. 40: 185-232
- Rowland, T. 1989. Clinical pharmacokinetics. •Valares, J.A., Abecia, J.A., Forcada, F., et al. 2007. Vet. Res. Comm. 31: 427-436
- Vázquez, M.I., Forcada, F., Casao, A., et al. 2009. Anim. Reprod. Sci. 112: 83-94
- Vázquez, M.I., Forcada, F., Casao, A., et al. 2010. Reprod. Dom. Anim. 45: 677-684
- Zúñiga, O., Forcada, F. & Abecia, J.A., 2002. Anim. Reprod. Sci. 72: 165-174.

**Agradecimientos:** DGA. Grupo A-26.



**Figura 1.** Niveles plasmáticos de LH (media  $\pm$  E.S.) a lo largo de un muestreo seriado de sangre, durante 3 h a intervalos de 10 min, antes y después de la administración de GnRH (20 ng/kg) (flechas) en ovejas Rasa Aragonesa OVX + E2 tratadas (+Mel) o no (-Mel) con melatonina y alimentadas para cubrir 1,5 (C) o 0,5 (B) veces las necesidades de mantenimiento, durante el anestro estacionario y la época reproductiva.

#### EFFECT OF LEVEL OF ENERGY AND EXOGENOUS MELATONIN ON PITUITARY RESPONSIVENESS TO GnRH IN RASA ARAGONESA EWES DURING ANESTRUS AND THE REPRODUCTIVE SEASON

**ABSTRACT:** In order to determine the effect of level of feed intake and exogenous melatonin on pituitary responsiveness to GnRH, both during anestrus (A) and breeding season (BS), 19 OVX+E2 ewes were used. Animals were divided in 4 groups, treated (+Mel) or not (-Mel) with melatonin and fed to provide 1.5 (Control, C) or 0.5 (low, B) times maintenance requirements. Both in April and November, a GnRH challenge was performed, consisting on collecting blood samples every 10 min for 3 h. After the first hour, GnRH was injected and LH analyzed. The highest LH single (DLH) and the area under the curve of the first h (AUC1) and the total period (AUCT) were calculated. There was a significant effect of diet (C:  $0.93 \pm 0.21$ ; B:  $1.46 \pm 0.29$ ;  $p < 0.05$ ) and (BS:  $1.44 \pm 0.20$ ; A:  $0.96 \pm 0.19$  ng/ml;  $p < 0.05$ ) on basal LH concentrations before GnRH challenge with no effect of melatonin. GnRH increased dramatically LH both in A and BS. DLH was not affected by melatonin, diet or season, although AUC1 and AUCT were significantly affected by season ( $p < 0.05$ ). The highest basal LH levels showed by undernourished ewes could be due to an increment of LH pulse amplitude described in the literature.

**Keywords:** sheep, melatonin, undernutrition, season

## **EFFECTO DE LA SUBNUTRICIÓN MATERNA PERICONCEPCIONAL SOBRE LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE OVEJAS Y LA CALIDAD OOCITARIA DE SUS CORDERAS**

Abecia, J.A., Forcada, F., Contreras, I., Meikle, A., Sosa, C. y Casao, A.

Depto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. [alf@unizar.es](mailto:alf@unizar.es)

### **INTRODUCCIÓN**

La subnutrición periconcepcional en la especie ovina provoca tasas de fertilidad reducidas, debido, entre otras causas, a una disminución de la calidad de los ovocitos y de la supervivencia embrionaria (Abecia et al. 2006). Además, se ha demostrado que dicha subnutrición provoca cambios en la vida adulta de las crías, tanto a nivel metabólico (McMillen y Robinson, 2005) como reproductivo (Rhind et al., 1989). Los objetivos de este trabajo han sido i) estudiar el efecto de una subnutrición severa en los días previos y posteriores a la concepción sobre los parámetros reproductivos de las ovejas y ii) conocer el posible efecto de esta subnutrición sobre los rendimientos productivos y la calidad ovocitaria de los corderos nacidos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

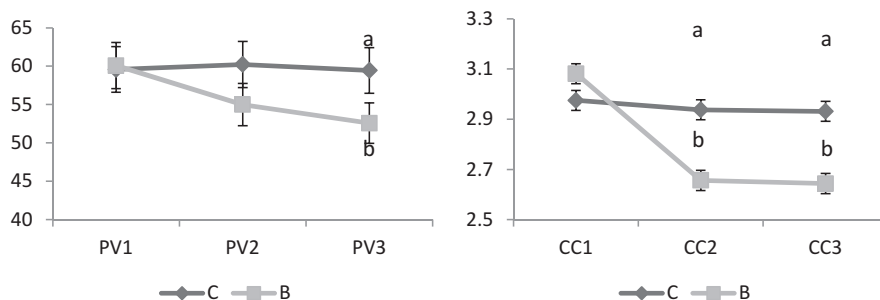
La experiencia se desarrolló en el Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza, con procedimientos aprobados por la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal. Durante el mes de noviembre, 80 ovejas de raza Rasa Aragonesa con un peso vivo (PV) medio ( $\pm$ SE) de  $58,0 \pm 0,6$  kg y una condición corporal (CC) de  $3,00 \pm 0,02$  fueron sincronizadas en celo mediante esponjas vaginales (+300 UI eCG, Sincropart, CEVA) durante 14 días y cubiertas por 8 moruecos a partir de las 36 h de la retirada de las esponjas (día 0). Desde el momento de la colocación de las esponjas y hasta 7 días después de los celos, las ovejas fueron alimentadas en grupo para cubrir 1,5 (grupo Control, C, n=40) o 0,5 (grupo Bajo, B, n=40) veces sus necesidades de mantenimiento. A partir del día 7 las ovejas se reagruparon y fueron sometidas a la dieta 1,5 hasta el parto. Se determinó el PV y la condición corporal (CC) de las ovejas en la colocación de la esponja, en el momento del celo y 7 días después de la aparición del celo. Los machos fueron intercambiados entre grupos cada 12 horas hasta el fin de las cubriciones. En ese momento se registró el PV al nacimiento de los corderos y éstos fueron pesados semanalmente hasta el momento del destete, con 40 días de edad.

Seis corderas, hijas de ovejas pertenecientes a los dos grupos nutricionales (3 por grupo) fueron sacrificadas mediante un eutanásico (T-61, MSD) a los 2 meses de vida, sus ovarios extraídos y los ovocitos fueron recuperados, madurados y fertilizados, según técnicas descritas por Forcada et al. (2011). Su calidad fue determinada siguiendo los criterios de Wani et al. (2000). De cada animal se recogió la siguiente información: número de ovocitos recuperados, aptos para maduración y no aptos. Las tasas de maduración y división se calcularon en función del número de ovocitos aptos y la tasa de fertilización se basó en el número de ovocitos madurados, utilizándose la prueba de Chi cuadrado para la comparación de porcentajes y el ANOVA para variables continuas.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las ovejas del lote control mantuvieron su PV y CC durante la aplicación de las dietas experimentales, mientras que las subnutridas experimentaron una pérdida significativa ( $p < 0,05$ ) tanto de PV como CC (Fig. 1). La subnutrición periconcepcional dio lugar a unos resultados reproductivos inferiores al lote control (Tabla 1), con diferencias significativas para la prolificidad y fecundidad. Estos datos son similares a otros reflejados en la bibliografía (revisión Abecia et al., 2006). La duración media de la gestación fue similar en ambos lotes, así como la tasa machos/hembras nacidos. El PV medio de los corderos nacidos de las ovejas del lote B fue significativamente ( $p < 0,05$ ) superior que los corderos del

lote C (Tabla 1), rozándose la significación al comparar los corderos del mismo sexo. Estos resultados coinciden con los observados por Jaquierey et al. (2012), que muestran un mayor PV al nacimiento especialmente en machos procedentes de ovejas subnutridas en el momento de la concepción, explicándose por diferencias significativas en el porcentaje de grasa corporal encontrado en estos animales, quizás debido a cambios epigenéticos tras una subnutrición periconcepcional en los genes hipotalámicos involucrados en la regulación de la ingesta. Por el contrario, no hubo diferencias en el PV al destete ni en el crecimiento medio diario hasta ese momento, hecho también coincidente con lo relatado por Jaquierey et al. (2012).



**Figura 1.** Evolución del PV y CC de ovejas alimentadas para cubrir 1,5 (C) o 0,5 veces (B) el mantenimiento, desde la colocación de la esponja (PV1, CC1), en el momento del celo (PV2, CC2) y 7 días después de la aparición del celo (PV3, CC3). a, b:  $p < 0,05$

En cuanto a la población oocitaria, las corderas hijas del lote B presentaron un mayor número de ovocitos a los dos meses de vida (Tabla 2), aunque no hubo diferencias en cuanto a los porcentajes según su calidad. Una vez madurados y fertilizados in vitro, los ovocitos procedentes de corderas hijas de madres subnutridas mostraron un mayor porcentaje de maduración ( $p < 0,10$ ) (Tabla 3), con resultados similares de fecundación, división a las 48 h y porcentaje de blastocistos.

En conclusión, un nivel de subnutrición del 50% alrededor de la concepción se refleja en diferencias en el número de corderos nacidos por oveja. Además, estos corderos presentan un mayor PV al nacimiento y una alteración en la cantidad, pero no en la calidad, de los ovocitos presentes en los ovarios a los 2 meses de vida. Estas diferencias podrían reflejarse en alteraciones metabólicas y reproductivas en la vida adulta de estas corderas.

**Tabla 1.** Resultados reproductivos y productivos (media $\pm$ E.S.) de ovejas alimentadas para cubrir 1,5 (C) o 0,5 veces (B) las necesidades de mantenimiento 16 días antes de la cubrición y hasta 7 días después de la aparición del celo.

	C	B	Sig.
Fertilidad (% ovejas paridas)	77,5%	67,5%	NS
Prolificidad (corderos/parto)	2,06 $\pm$ 0,16	1,59 $\pm$ 0,12	$p < 0,05$
Fecundidad (corderos/oveja)	1,60 $\pm$ 0,18	1,07 $\pm$ 0,14	$p < 0,05$
Duración gestación (días)	148,9 $\pm$ 0,4	149,2 $\pm$ 0,4	NS
Relación machos/hembra	53/47	45/55	NS
Peso medio corderos (kg)	3,80 $\pm$ 0,11	4,24 $\pm$ 0,15	$p < 0,05$
Peso machos nacimiento (kg)	3,90 $\pm$ 0,16	4,35 $\pm$ 0,22	$p = 0,10$
Peso hembras nacimiento (kg)	3,69 $\pm$ 0,14	4,15 $\pm$ 0,20	$p = 0,06$
Peso destete (kg)	13,29 $\pm$ 0,38	13,61 $\pm$ 0,50	NS
Crecimiento hasta destete (g/d)	0,23 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,02	NS

**Tabla 2.** Número (media±E.S.) (%) y calidad de los ovocitos de corderas de 2 meses de edad, provenientes de madres que fueron alimentadas para cubrir 1,5 (C) o 0,5 (B) veces las necesidades de mantenimiento 16 días antes de la cubrición y hasta 7 días después de la aparición del celo correspondiente a la gestación de las corderas.

Grupo	Buenos	Normales	Malos	Total	Para madurar (buenos+normales)
Control	19,0±5,9 <sup>a</sup> 31,7%	9,7±2,3 16,1%	31,3±10,58 <sup>c</sup> 52,2%	60,0±7,8 <sup>a</sup>	28,7 ± 3,8 <sup>a</sup> 47,8%
Bajo	49,3 ± 4,3 <sup>b</sup> 35,1%	16,3 ± 5,8 11,7%	74,3±14,3 <sup>d</sup> 53,2%	140,0±18,5 <sup>b</sup>	65,7 ± 9,2 <sup>b</sup> 46,9%

a, b: p<0,05; c,d: p<0,1

**Tabla 3.** Resultados de maduración, FIV y cultivo de embriones procedentes de ovocitos de corderas hijas de madres alimentadas para cubrir 1,5 (C) o 0,5 (B) veces el mantenimiento.

Grupo	Maduración	Fecundación	División 48 h	Blastocistos (sobre embriones)	Blastocistos (sobre ovocitos)
Alto	21/84 (25%) <sup>a</sup>	15/21 (71,4%)	13/84 (15,5%)	3/13 (23,1%)	3/84 (3,6%)
Bajo	70/197 (35,5%) <sup>b</sup>	60/70 (85,7%)	38/197 (19,3%)	3/38 (7,9%)	3/197 (1,5%)

a, b: p<0,1

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abecia, J.A., Sosa, C., Forcada, F., Meikle, A. 2006. Repod. Nutr. Dev. 46: 367-378
- Forcada, F., Buffoni, A., Abecia, J.A., et al. 2011. J. Appl. Anim. Res., 39: 412-417
- Jaquierey, A.L., Oliver, M.H., Honeyfield-Ross, M., et al. 2012. J. Nutr. Metab. Article ID 123610
- McMillen, C. & Robinson, J.S. 2005. Physiol Rev 85: 571–633
- Rhind, S.M., McKelvey, W.A.C., McMillen, S.R., et al. 1989. Anim. Prod. 48: 149–155
- Wani, N.A., Wani, G.M., Khan, M.Z., et al. 2000. Small Rumin Res. 36:63-67

**Agradecimientos:** Proyecto AGL2010-15004

## EFFECT OF MATERNAL PERICONCEPTIONAL UNDERNUTRITION ON REPRODUCTIVE PERFORMANCES OF EWES AND OOCYTE QUALITY OF THEIR EWE LAMBS

**ABSTRACT:** Eighty ewes were fed to provide 1.5 (control group, C, n=40) or 0.5 (low group, L, n=40) times their maintenance requirements, from pessary insertion until 7 days after oestrus (day 0). Diets provoked a significant reduction (p<0.05) of live weight (LW) and body condition in the L group. Undernourished ewes presented a significant lower litter size (C: 2.06±0.16; L: 1.59±0.12 lambs per lambing; p<0.05) and fecundity (C: 1.60±0.18; L: 1.07±0.14 lambs per ewe; p<0.05). Lambs from the L group had a significant higher LW at lambing (p<0.05), although no differences in LW at weaning or mean dairy LW gain were observed. Six ewe lambs were euthanized at 2 months of age and their oocyte quality studied. Animals born from L ewes presented more oocytes than from C ewes (140.0±18.5 vs. 60.0±7.8, resp.; p<0.05), although percentages of healthy oocytes were similar. Ewe lambs from L ewes also presented a higher maturation rate (p<0.10) with similar fecundity, cleavage and blastocyst rates. In conclusion, periconceptual maternal undernutrition produced a significant reduction of lamb production. Moreover, lambs from these ewes presented a significant higher LW at lambing and ewe lambs an alteration of oocyte quantity but no quality. These differences could have consequences in the adult life.

**Keywords:** sheep, undernutrition, periconceptual, oocyte

## ANTICIPACIÓN DE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA EN CABRAS SERRANAS

Correia<sup>1</sup>, T., Cortez<sup>2</sup>, F., Azevedo<sup>3</sup>, J. y Valentim<sup>2</sup>, R.

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - Instituto Politécnico de Bragança, Apartado 1172, 5301-855 Bragança – Portugal; <sup>2</sup>Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária, Apartado 1172, 5301-855 Bragança – Portugal; <sup>3</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro – Departamento de Zootecnia, Apartado 1013, 5001-911 Vila Real – Portugal  
tcorreia@ipb.pt

### INTRODUCCIÓN

Para satisfacer la demanda navideña de carne de cabrito (10-12 kg de peso vivo, con 45-60 días de edad) hay que cubrir las cabras Serranas a primeros de mayo. La anticipación de la estación reproductiva se puede conseguir a través de diferentes tratamientos. En este trabajo fue testado el uso de un tratamiento progestativo corto y eCG (PGF<sub>2α</sub> + FGA + eCG) asociado o no, a un tratamiento previo con melatonina.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue realizado en la ciudad de Bragança (latitud 41° 49' N, longitud 6°40' W y altitud 720 metros), entre 22 de febrero y 13 de junio de 2011. Un grupo de 35 cabras adultas (3-9 años) de la raza Serrana, ecotipo Transmontano, del rebaño experimental da Escuela Superior Agraria de Braganza fue utilizado en su realización. Estas cabras fueron alimentadas en pastoreo en prados naturales y se les dio un suplemento, en grupo, de heno de prados naturales y una media de 350-400 g/animal de alimento concentrado comercial. Al comenzar este trabajo, todas las cabras fueron pesadas en una balanza con jaula (sensibilidad mínima de 100 g).

Para evaluar el estadio fisiológico inicial de las cabras, dos veces por semana (lunes y jueves), durante dos semanas (22 de febrero y 4 de marzo), se tomaron muestras de sangre, para posterior determinación de los niveles plasmáticos de progesterona, según la técnica de RIA (Coat-A-Count, Siemens, Alemania). Se consideró que las cabras estaban en anestro estacional siempre que, en las 4 muestras de sangre, los niveles plasmáticos de progesterona fueran inferiores a 0,5 ng/ml (Azevedo *et al.*, 2002).

El día 10 de marzo, las cabras se repartieron, al azar, en dos grupos: Control (n = 18) y Melatonina (n = 17). Las cabras Melatonina fueron tratadas con un implante subcutáneo de melatonina (18 mg) (CEVA Santé Animale, Libourne, Francia).

El estadio fisiológico pre-tratamiento progestativo corto fue apreciado en todas las cabras a través de los niveles plasmáticos de progesterona (18 y el 28 de abril). De nuevo, se consideró que las cabras estaban en anestro estacional siempre que, en las 4 tomas de sangre, los niveles plasmáticos de progesterona fueran inferiores a 0,5 ng/ml.

El día 28 de abril (50 días después de la inserción de los implantes de melatonina), todas las cabras recibieron una inyección (i.m.) de 100 µg de cloprostenol/cabra (Essex Animal Health, Friesoythe, Alemania) y una esponja vaginal impregnada con 20 mg de acetato de fluorogestona (FGA) (Intervet International, Unterschleissheim, Alemania). El tratamiento progestativo tuvo una duración de 5 días. Cuando se retiraron las esponjas vaginales se administraron 300 UI de eCG (Gonadotrofina coriónica equina) (Intervet International, Unterschleissheim, Alemania). De seguida, 3 machos adultos fueron introducidos en el rebaño.

La respuesta ovárica tras la inyección de eCG fue valorada vía niveles plasmáticos de progesterona. Las muestras de sangre fueron recogidas 24 horas después de la administración de eCG y cada 24 horas en los 5 días siguientes. Se consideró que las cabras habían producido por lo menos un cuerpo lúteo siempre que los niveles plasmáticos de progesterona fueran superiores a 0,5 ng/ml.

Para identificación de los celos, los 3 machos fueron equipados con arneses marcadores. El registro de las marcas se hizo dos veces al día (9.00 y 18.00 horas). Los machos permanecieron con las cabras durante 7 días.

Cuarenta y un días después de terminados los tratamientos, todas las cabras fueron sometidas a diagnóstico de gestación por ecografía en tiempo real con un ecógrafo ALOKA SSD-500 y una sonda abdominal de 5,0 MHz.

Con el objetivo de identificar diferencias estadísticamente significativas entre algunos parámetros se efectuaron análisis de varianza, según la prueba de Bonferroni/Dunn. Para comparar frecuencias se utilizó la prueba de  $\chi^2$ . Los datos fueron expresados como Media  $\pm$  Desviación Típica (SPSS Statistics 20).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se inició este trabajo, las cabras tenían una edad media de  $4,9 \pm 1,6$  años y un peso corporal medio de  $46,7 \pm 5,4$  kg. Las diferencias de edad y de peso corporal observadas entre grupos de cabras fueron estadísticamente no significativas ( $P > 0,05$ ). Ni la edad, ni el peso corporal afectaron significativamente a los diferentes parámetros reproductivos evaluados ( $P > 0,05$ ).

En las dos semanas anteriores al tratamiento con melatonina, el 48,6% ( $n = 17$ ) de las cabras presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml (Tabla 1). Las restantes 51,4% estaban en anestro estacional. Aparentemente la estación de anestro ya había empezado, pues más del 50% de las cabras estudiadas presentaban niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. Sin embargo, un importante porcentaje de cabras seguía mostrando niveles plasmáticos de progesterona elevados. Puede que, este año, las condiciones climáticas y de pastoreo hayan sido particularmente ventajosas.

En las dos semanas previas al tratamiento progestativo corto, el 5,9% ( $n = 1$ ) de las cabras Control presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. Resultados idénticos fueron observados por Correia *et al.* (2007, 2009). El porcentaje de cabras Serranas en anestro estacional (94,4%;  $n = 17$ ) era ahora mismo claramente superior al registrado en el inicio del estudio ( $\chi^2 = 55,0$ ;  $P \leq 0,001$ ). El tratamiento con melatonina determinó un mayor porcentaje de cabras con niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml - 76,5% ( $n = 13$ ) ( $\chi^2 = 101,3$ ;  $P \leq 0,001$ ) (Tabla 1). Respuesta similar fue observada por Azevedo *et al.* (2003) con chivas de la misma raza.

Tras la aplicación de los tratamientos, el 80,0% ( $n = 28$ ) de las cabras estudiadas presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. La diferencia observada entre cabras Control (83,3%;  $n = 15$ ) y Melatonina (76,5%;  $n = 13$ ) fue estadísticamente no significativa ( $\chi^2 = 1,5$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabla 2). En los trabajos de Azevedo *et al.* (2002) y Azevedo *et al.* (2003), el tratamiento previo con melatonina aumentó respectivamente el porcentaje de cabras y de chivas Serranas que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml.

Alrededor del 88,6% ( $n = 31$ ) de todas las cabras presentaron comportamiento sexual. La melatonina elevó el porcentaje de cabras que exhibieron celo - Control: 83,3% ( $n = 15$ ) vs. Melatonina: 94,1% ( $n = 16$ ) ( $\chi^2 = 5,9$ ;  $P \leq 0,05$ ). Azevedo *et al.* (2002) lograron un resultado idéntico.

Cuarenta y un días después de la aplicación de los tratamientos, el 60,0% ( $n = 21$ ) de todas las cabras estaban gestantes. La diferencia entre cabras Control (61,1%;  $n = 11$ ) y Melatonina (58,8%;  $n = 10$ ) fue estadísticamente no significativa ( $\chi^2 = 0,1$ ;  $P > 0,05$ ).

Teniendo en cuenta las condiciones en que este trabajo fue desarrollado, la metodología usada y los resultados obtenidos, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- El tratamiento progestativo corto y eCG resultó efectivo en la anticipación de la estación reproductiva.
- La administración previa de melatonina no afectó significativamente la respuesta ovárica de las cabras.
- La melatonina exógena aumentó significativamente el porcentaje de cabras que presentaron celo.
- El tratamiento previo con melatonina no afectó significativamente el porcentaje de cabras Serranas que quedaron gestantes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Azevedo, J.M., Correia, T.M., Almeida, J.C., Valentim, R.C., Fontes, P. & Coelho, A., 2002. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 97 (543): 135-138.



Azevedo, J.M., Correia, T.M., Almeida, J.C., Valentim, R.C., Fontes, P.J., Galvão, L.; Mendonça, A. & Coelho, A., 2003. *In: Ponencias y Comunicaciones del IV Congreso Ibérico de Reproducción Animal*, 70.

Correia, T., Azevedo, J., Simões, J., Galvão, L., Fontes, P., Mendonça, A., Almeida, J., Velasco, H., Maurício, R., Cardoso, M. & Valentim, R., 2009. *In: 34 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, 383-386.

Correia, T., Azevedo, J., Valentim, R., Simões, J., Galvão, L., Fontes, P., Mendonça, A., Velasco, H., Maurício, R., Cardoso, M. & Medeiros, S., 2007. *In: Producción Ovina y Caprina nº XXXII, XXXII Jornadas Científicas y XI Internacionales de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, 321-323.

**Tabla 1.** Porcentajes de cabras que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml, antes de los tratamientos con melatonina y con PGF<sub>2α</sub> + FGA + eCG

	Pre-melatonina	PGF <sub>2α</sub> + FGA + eCG
Control		5,9% <sup>b,x</sup>
Melatonina	48,6% <sup>a</sup>	76,5% <sup>b,y</sup>

a ≠ b, para P ≤ 0,001 (entre columnas).

x ≠ y, para P ≤ 0,001 (entre líneas).

**Tabla 2.** Porcentajes de cabras que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml, comportamiento sexual y diagnóstico de gestación positivo post tratamientos

	Control	Melatonina
Progesterona aumentada	83,3% <sup>a</sup>	76,5% <sup>a</sup>
Celo	83,3% <sup>a</sup>	94,1% <sup>b</sup>
Gestantes	61,1% <sup>a</sup>	58,8% <sup>a</sup>

a = a, para P > 0,05 (entre columna).

a ≠ b, para P ≤ 0,05 (entre columna).

## ADVANCE OF THE BREEDING SEASON IN PORTUGUESE SERRANA GOATS

**ABSTRACT:** The main aim of this paper was to study the advance of breeding season in Portuguese Serrana goats using a short-term progestagen treatment (PGF<sub>2α</sub> + FGA) and eCG associated or not to a previous melatonin treatment. In March, 35 adult Serrana goats were randomly divided in two groups: about half the goats received a subcutaneous implant of melatonin (18 mg) as the others got no treatment. Fifty days afterward all goats were treated with an injection of 100 µg of PGF<sub>2α</sub> and a vaginal sponge with 20 mg of FGA. Five days later 300 IU of eCG were injected at sponge withdraw. Short-term progestagen and eCG treatment was effective in advancing the breeding season. Melatonin increased the percentage of Serrana goats showing estrus but had no significant effect on the percentage of goats presenting high plasmatic levels of progesterone after short-term progestagen and eCG treatment and on fertility.

**Key-words:** Goats, Serrana, melatonin, short-term progestagen treatment.

## **CONTROL DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN OVEJAS DE RAZA CHURRA GALEGA BRAGANÇANA - EFECTO DEL MOMENTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ECG**

Correia<sup>1</sup>, T., Venâncio<sup>2</sup>, D., Azevedo<sup>3</sup>, J., Maurício<sup>2</sup>, R. y Valentim<sup>2</sup>, R.

<sup>1</sup>CIMO. ESA - IPB, Apartado 1172, 5301-855 Bragança – Portugal; <sup>2</sup>IPB - ESA, Apartado 1172, 5301-855 Bragança – Portugal; <sup>3</sup>UTAD – Departamento de Zootecnia, Apartado 1013, 5001-911 Vila Real – Portugal. [tcorreia@ipb.pt](mailto:tcorreia@ipb.pt)

### **INTRODUCCIÓN**

Los tratamientos basados en la utilización de progestágenos y de gonadotropina coriónica equina (eCG) son normalmente eficaces en el control de la actividad reproductiva (Azevedo *et al.*, 2006). Entre otros factores, el momento de la inyección de eCG, en relación a la finalización del tratamiento de control de la actividad reproductiva, puede afectar la respuesta reproductiva (Zelege *et al.*, 2005). En este trabajo se estudian los efectos del momento de la administración de eCG post tratamiento progestativo en la actividad reproductiva de ovejas de la raza portuguesa Churra Galega Bragançana.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Este estudio fue realizado en la ciudad de Bragança (latitud 41° 49' N, longitud 6° 40' W y altitud 691 metros), entre 22 de febrero y 15 de junio de 2010, envolviendo un total de 94 ovejas de la raza portuguesa Churra Galega Bragançana. Las ovejas fueron alimentadas en pastoreo en prados naturales y se les suministró un suplemento, en grupo, de heno de prados naturales (*ad libitum*) y una media de 300-350 g/animal de alimento concentrado comercial. Al comenzar este trabajo, todas las ovejas fueron pesadas en una balanza con jaula y su condición corporal fue valorada según la tabla Australiana (Russel, 1969).

Con el objeto de evaluar el estadio fisiológico inicial de las ovejas se tomó, dos veces por semana (lunes y jueves), durante dos semanas (de 22 febrero a 4 marzo), una muestra de sangre, para posterior determinación de los niveles plasmáticos de progesterona, según la técnica de RIA (Coat-A-Count, Siemens, Alemania). Se consideró que las ovejas estaban en anestro estacional siempre que, en las 4 muestras de sangre, los niveles plasmáticos de progesterona fueran inferiores a 0,5 ng/ml.

El día 9 de marzo, las ovejas fueron divididas al azar en dos grupos: Melatonina (n = 25) y Control (n = 69). Las ovejas Melatonina recibieron un implante subcutáneo de melatonina (18 mg) (CEVA Santé Animale, Libourne, Francia).

El estadio fisiológico pre-tratamiento progestativo fue diagnosticado en todas las ovejas a través de los niveles plasmáticos de progesterona (de 8 a 19 de abril). Se consideró que las ovejas estaban en anestro estacional siempre que, en las 4 muestras de sangre, los niveles plasmáticos de progesterona fueran inferiores a 0,5 ng/ml.

El día 23 de abril (45 días después de la inserción de los implantes de melatonina), a todas las ovejas se les colocó una esponja vaginal impregnada con 20 mg de acetato de fluorogestona (FGA) (Intervet International, Unterschleissheim, Alemania). El tratamiento progestativo tuvo una duración de 12 días.

El día 4 de mayo, las ovejas del grupo Control se repartieron al azar en dos subgrupos: Día -1 (n = 32) y Día 0 (n = 37). En ese mismo día, víspera de la retirada de las esponjas vaginales, a las ovejas Día -1 se les inyectó 500 UI de eCG. Las ovejas Día 0 y las ovejas Melatonina recibieron este mismo tratamiento cuando se retiraron las esponjas vaginales. Simultáneamente fueron colocados junto a todas las ovejas 5 moruecos adultos.

La formación del primer cuerpo lúteo (CL) post tratamiento fue identificada a través de la toma diaria de sangre, para posterior evaluación de los niveles plasmáticos de progesterona, según la técnica de RIA. La primera muestra de sangre se tomó 24 horas después del final de los tratamientos y la última, 5 días después. Se consideró que el primer CL se había formado cuando los niveles plasmáticos de progesterona superaron, por primera vez, los 0,5 ng/ml.

Para identificación de los celos, los moruecos fueron equipados con arneses marcadores. El registro de las marcas se hizo dos veces al día.

Cuarenta y un días después de la introducción de los machos, todas las ovejas fueron sometidas a diagnóstico de gestación por ultrasonografía en tiempo real con un ecógrafo ALOKA SSD-500 y una sonda abdominal de 5,0 MHz.

Con el objetivo de identificar diferencias estadísticamente significativas entre algunos parámetros se efectuaron análisis de variancia, según la prueba de Bonferroni/Dunn. Con la finalidad de comparar frecuencias, se utilizó la prueba de  $\chi^2$ . Los datos fueron expresados como Media  $\pm$  Desviación Típica (SPSS Statistics 20).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se inició este trabajo, las ovejas tenían  $4,4 \pm 1,4$  años de edad, pesaban  $50,9 \pm 5,7$  kg y presentaban una condición corporal media de  $3,2 \pm 0,6$ . Las diferencias de edad, peso y condición corporal observadas entre grupos fueron estadísticamente no significativas ( $P > 0,05$ ). Ningún de estos parámetros afectó significativamente a los diferentes parámetros reproductivos evaluados ( $P > 0,05$ ).

En las dos semanas anteriores al tratamiento con melatonina, el 74,5% ( $n = 70$ ) de las ovejas presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. Apenas el 25,5% ( $n = 24$ ) estaban en anestro estacional ( $\chi^2 = 46,1$ ;  $P \leq 0,001$ ). Más tarde, en las dos semanas previas al tratamiento progestativo, el 62,8% ( $n = 59$ ) de todas las ovejas presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. Este porcentaje fue de 56,5% ( $n = 39$ ) en las ovejas Control y de 80,0% ( $n = 20$ ) en las ovejas Melatonina ( $\chi^2 = 13,2$ ;  $P \leq 0,001$ ) (Tabla 1).

Después de la aplicación de eCG, el 96,8% ( $n = 91$ ) de las ovejas estudiadas presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. La diferencia observada entre ovejas Control/Día 0 (97,3%;  $n = 36$ ) y Melatonina (100,0%;  $n = 25$ ) fue estadísticamente no significativa ( $\chi^2 = 3,0$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabla 1). El momento de la inyección de eCG no alteró significativamente el porcentaje de ovejas que produjeron, por lo menos, un CL - Día -1: 100,0% ( $n = 32$ ) vs. Día 0: 97,3% ( $n = 36$ ) ( $\chi^2 = 3,0$ ;  $P > 0,05$ ).

Tras la administración de eCG, el 76,6% ( $n = 72$ ) de todas las ovejas presentaron comportamiento sexual. La melatonina no afectó significativamente el porcentaje de ovejas que exhibieron celo - Control/Día 0: 83,8% ( $n = 31$ ) vs. Melatonina: 76,0% ( $n = 19$ ) ( $\chi^2 = 2,0$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabla 2). El momento de la inyección de eCG condicionó el porcentaje de ovejas que presentaron celo - Día -1: 71,9% ( $n = 23$ ) vs. Día 0: 83,8% ( $n = 31$ ) ( $\chi^2 = 4,2$ ;  $P \leq 0,05$ ).

En media, las primeras manifestaciones de celo fueron registradas  $43,0 \pm 17,5$  horas post retirada de las esponjas vaginales. La diferencia observada entre ovejas Control/Día 0 ( $49,0 \pm 14,0$  horas) y Melatonina ( $42,9 \pm 18,9$  horas) fue estadísticamente no significativa ( $P > 0,05$ ). El momento de la administración de eCG condicionó la duración del intervalo entre la retirada de las esponjas vaginales y la detección de los celos - Día -1:  $34,4 \pm 17,5$  horas vs. Día 0:  $49,0 \pm 14,0$  horas ( $P \leq 0,05$ ).

El diagnóstico de gestación, a los 41 días después de la inyección de eCG, indicó que el 41,5% ( $n = 39$ ) de las ovejas estudiadas estaban gestantes. La diferencia entre cabras Control/Día 0 (45,9%;  $n = 17$ ) y Melatonina (48,0%;  $n = 12$ ) fue estadísticamente no significativa ( $\chi^2 = 0,1$ ;  $P > 0,05$ ). El momento de la administración de eCG influyó el porcentaje de ovejas gestantes - Día -1: 31,3% ( $n = 10$ ) vs. Día 0: 45,9% ( $n = 17$ ) ( $\chi^2 = 4,8$ ;  $P \leq 0,05$ ). En general, la fertilidad resultó muy baja. Puede que parte del problema haya sido originada por los machos. Aparentemente, el índice macho/hembra resultó satisfactorio para la detección de los celos, pero escaso para la fecundación de todas las ovejas. De futuro hay que aumentar este índice.

Los datos observados indican que la eCG debe de ser aplicada cuando de la retirada de las esponjas vaginales.

Teniendo en cuenta las condiciones en que este trabajo fue desarrollado, la metodología usada y los resultados obtenidos, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- El tratamiento progestativo e eCG fue efectivo en el control de la actividad reproductiva.
- La administración de melatonina exógena no mejoró la respuesta al tratamiento progestativo e eCG.
- La anticipación en 24 horas de la inyección de eCG no afectó significativamente el porcentaje de ovejas que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml, pero disminuyó los porcentajes de ovejas que presentaron celo y que quedaron gestantes y la duración del intervalo entre la retirada de las esponjas vaginales y la detección de los celos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azevedo, J.M., Valentim, R.C. & Correia, T.M., 2006. *Albéitar* 98: 2-4.  
 Russel, A.J.F., Doney, J.M. & Gunn, R.G., 1969. *J. Agric. Sci. Camb.* 72: 451-454.  
 Zeleke, M., Greyling, J.P.C., Schwalbach, L.M.J., Muller, T., Muller, T. & Erasmus, J.A., 2005. *Small Rumin. Res.* 56 (1-3): 47-53.

**Tabla 1.** Porcentaje de ovejas que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml, pre y post tratamiento progestativo (FGA)

Tratamiento	Control	Melatonina
Pre-FGA	56,5% <sup>a</sup>	80,0% <sup>b</sup>
Post FGA	97,3% <sup>a</sup>	100,0% <sup>a</sup>

a = a, para  $P > 0,05$  (entre columnas).

a ≠ b, para  $P \leq 0,05$  (entre columnas).

**Tabla 2.** Porcentaje de ovejas que presentaron celo y diagnóstico de gestación positivo

Parámetros	Control	Melatonina	Día -1	Día 0
Celo	83,8% <sup>a</sup>	76,0% <sup>a</sup>	71,9% <sup>a</sup>	83,8% <sup>b</sup>
Diagnóstico gestación	45,9% <sup>a</sup>	48,0% <sup>a</sup>	31,3% <sup>a</sup>	45,9% <sup>b</sup>

a = a, para  $P > 0,05$  (entre columnas, mismo tratamiento).

a ≠ b, para  $P \leq 0,05$  (entre columnas, mismo tratamiento).

### CONTROL OF BREEDING ACTIVITY IN PORTUGUESE CHURRA GALEGA BRAGANÇANA EWES - EFFECT OF TIME AT eCG ADMINISTRATION

**ABSTRACT:** This work aimed to compare two different protocols - FGA + eCG and melatonin + FGA + eCG - commonly used to control the breeding activity in Churra Galega Bragançana ewes. The effect of time at eCG administration - 24 hours before or at sponge withdraw - was also assessed. In March, 94 adult ewes were randomly divided in two groups: 25 received a subcutaneous implant of melatonin (18 mg) as the others 69 got no treatment (Control). Forty-five days afterward a vaginal sponge (20 mg of FGA) was inserted in all ewes. Sponges were removed 12 days later. Thirty-two Control ewes were injected with 500 IU of eCG 24 hours before sponge withdraw. The remaining 37 Control and all Melatonin ewes were injected with 500 IU of eCG at sponge removal. FGA + eCG treatment was effective in controlling the breeding activity. Exogenous melatonin added no significant effect to FGA + eCG treatment. The injection of eCG 24 hours before sponge withdraw had no significant effect in the percentage of ewes presenting plasmatic levels of progesterone higher than 0.5 ng/ml, but decreased the percentages of ewes in estrus and pregnant and the interval between sponge withdraw and estrus detection.

**Keywords:** Sheep, Churra Galega Bragançana, melatonin, eCG

## **EFFECTO DEL TIPO DE CUBRICIÓN Y DEL MÉTODO DE CONTROL DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN CABRAS SERRANAS EN LA ESTACIÓN DE ANESTRO**

Valentim<sup>1</sup>, R., Cortez<sup>1</sup>, F., Azevedo<sup>2</sup>, J., Maurício<sup>1</sup>, R. y Correia<sup>3</sup>, T.

<sup>1</sup>Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária, Apartado 1172, 5301-855 Bragança – PORTUGAL; <sup>2</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro – Departamento de Zootecnia, Apartado 1013, 5001-911 Vila Real – Portugal; <sup>3</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO). ESA - Instituto Politécnico de Bragança, Apartado 1172, 5301-855 Bragança –Portugal  
valentim@ipb.pt

### **INTRODUCCIÓN**

La inseminación artificial es una técnica reproductiva que contribuye fuertemente para la mejora genética de los efectivos, pues permite conocer fácil y eficazmente la paternidad de las crías (Baldassarre y Karatzas, 2004). No obstante, sus resultados dependen entre otros factores del protocolo de control de la actividad ovárica y del proceso de conservación del semen (Cortez, 2012). En este trabajo se compara la respuesta reproductiva de las cabras Serranas fertilizadas por monta natural y por inseminación artificial con semen congelado, tras la aplicación de dos tratamientos de control de la actividad ovárica.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Este estudio fue realizado en la ciudad de Bragança (latitud 41° 49' N, longitud 6°40' W y altitud 720 metros), entre el 10 de marzo y el 13 de junio de 2011. Un grupo de 60 cabras adultas (3-6 años) de la raza Serrana, ecotipo Transmontano, fue utilizado para su realización. Las cabras fueron alimentadas en pastoreo en prados naturales y se les dio un suplemento, en grupo, de heno de prados naturales y una media de 350-400 g/animal de alimento concentrado comercial. Al comenzar este trabajo, todas las cabras fueron pesadas en una balanza con jaula (sensibilidad mínima de 100 g).

El día 10 de marzo, las cabras fueron divididas al azar en dos grupos: Control (n = 30) y Melatonina (n = 30). Las cabras Melatonina fueron tratadas con un implante subcutáneo de melatonina (18 mg) (CEVA Santé Animale, Libourne, Francia).

Cincuenta días después, todas las cabras recibieron una inyección (i.m.) de 100 µg de cloprostenol/cabra (Essex Animal Health, Friesoythe, Alemania) una esponja vaginal impregnada con 20 mg de acetato de fluorogestona (FGA) (Intervet International, Unterschleissheim, Alemania). El tratamiento progestativo tuvo una duración de 5 días. Cuando se retiraron las esponjas vaginales se administraron 300 UI de eCG (Gonadotropina coriónica equina) (Intervet International, Unterschleissheim, Alemania).

Seguidamente, las cabras Control y Melatonina fueron repartidas al azar en dos subgrupos: Monta Natural (MN) e Inseminación Artificial (IA). Las cabras MN se sirvieron con 3 machos cabríos sexualmente activos y las cabras IA con semen congelado. La IA fue realizada 43 + 1 horas tras la inyección de eCG. Las dosis seminales fueron provistas por la ANCRAS (Asociación Nacional de Criadores de Raza Serrana). En general, la IA fue cervical (lo más profunda posible, con pistolas Quicklock de Minitube); algunas fueron uterinas. Las cabras IA fueron colocadas en un compartimiento contiguo al de las cabras MN.

Para evaluar el estadio fisiológico pre-tratamiento progestativo y eCG se recogieron, dos veces por semana (lunes y jueves), durante dos semanas (19 y el 28 de abril), muestras de sangre, para posterior determinación de los niveles plasmáticos de progesterona, según la técnica de RIA (Coat-A-Count, Siemens, Alemania). Se consideró que las cabras estaban en anestro estacional siempre que, en las 4 muestras de sangre, los niveles plasmáticos de progesterona fueran inferiores a 0,5 ng/ml.

La respuesta ovárica post inyección de eCG fue valorada vía niveles plasmáticos de progesterona. Las muestras de sangre fueron recogidas 24 horas después de la administración de eCG y diariamente en los 5 días siguientes. Se consideró que las cabras habían producido por lo menos un cuerpo lúteo siempre que los niveles plasmáticos de progesterona fueran superiores a 0,5 ng/ml.

Los machos cabríos (grupo MN) fueron equipados con arneses marcadores para identificación de los celos. El registro de las marcas se hizo dos veces al día. Los machos permanecieron con las cabras durante 7 días.

Cuarenta y un días después de terminados los tratamientos, todas las cabras fueron sometidas a diagnóstico de gestación por ecografía en tiempo real con un ecógrafo ALOKA SSD-500 y una sonda abdominal de 5,0 MHz.

Con el objetivo de identificar diferencias estadísticamente significativas entre algunos parámetros se efectuaron análisis de varianza, según la prueba de Bonferroni/Dunn. Para comparar frecuencias se utilizó la prueba de  $\chi^2$ . Los datos fueron expresados como Media  $\pm$  Desviación Típica (SPSS Statistics 20).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se inició este trabajo, las cabras tenían una edad media de  $5,1 \pm 1,7$  años y un peso corporal medio de  $47,0 \pm 5,9$  kg. Las diferencias de edad y de peso corporal observadas entre grupos de cabras fueron estadísticamente no significativas ( $P > 0,05$ ). Ni la edad, ni el peso corporal afectaron significativamente a los diferentes parámetros reproductivos evaluados ( $P > 0,05$ ).

En las dos semanas previas al tratamiento progestativo corto y eCG, el 6,7% ( $n = 2$ ) de las cabras Control presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. El tratamiento con melatonina determinó un mayor porcentaje de cabras con niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml de progesterona - 76,7% ( $n = 23$ ) ( $\chi^2 = 100,6$ ;  $P \leq 0,001$ ).

Tras la aplicación del tratamiento progestativo corto y eCG, el 86,7% de las cabras presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. La diferencia observada entre cabras Control (90,0%;  $n = 27$ ) y Melatonina (83,3%;  $n = 25$ ) fue estadísticamente no significativa ( $\chi^2 = 2,1$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabla 1). El porcentaje de cabras que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml fue igual en los grupos MN e IA - 86,7% ( $n = 26$ ) vs. 86,7% ( $n = 26$ ) (Tabla 2).

Alrededor del 88,3% de las cabras MN presentaron comportamiento sexual. La melatonina mejoró el porcentaje de cabras que exhibieron celo - Control: 83,3% ( $n = 25$ ) vs. Melatonina: 93,3% ( $n = 28$ ) ( $\chi^2 = 4,7$ ;  $P \leq 0,05$ ).

Cuarenta y un días después de la inyección de eCG, el 48,3% de las cabras estaban gestantes. La diferencia entre cabras Control (46,7%;  $n = 13$ ) y Melatonina (53,3%;  $n = 16$ ) fue estadísticamente no significativa ( $\chi^2 = 2,0$ ;  $P > 0,05$ ). El porcentaje de cabras con diagnóstico de gestación positivo fue claramente mayor en las cabras MN (80,0%;  $n = 24$ ) que en las cabras IA (16,7%;  $n = 5$ ) ( $\chi^2 = 79,5$ ;  $P \leq 0,001$ ). La IA resulta frecuentemente en una pérdida de fertilidad, particularmente cuando se utiliza semen congelado. La metodología utilizada no permite identificar las causas exactas de esta baja fertilidad post-inseminación artificial.

Teniendo en cuenta las condiciones en que este trabajo fue desarrollado, la metodología usada y los resultados obtenidos, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- La administración de melatonina fue efectiva en la elevación de los niveles plasmáticos de progesterona frente al control inmediatamente antes de la aplicación del tratamiento progestativo corto y eCG.
- El tratamiento progestativo corto y eCG resultó efectivo en la anticipación de la estación reproductiva.
- Con relación al tratamiento progestativo corto y eCG, la melatonina exógena promovió las manifestaciones de celo, pero no mejoró la respuesta ovárica o a la tasa de fertilidad.
- La tasa de fertilidad fue mayor en las cabras Serranas fertilizadas por monta natural que por inseminación artificial con semen congelado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baldassarre, H. & Karatzas, C.N., 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 255–266.
- Cortez, M.F.C.A., 2012. Antecipação da estação reprodutiva em cabras da raça Serrana ecótipo Transmontano. Inseminação artificial com sêmen congelado. Instituto Politécnico de Bragança - Escola Superior Agrária, Bragança, Portugal, 46 pp. (*Thesis Master*)

**Agradecimientos:** A ANCRAS por el aporte de las dosis seminales y la realización de las inseminaciones artificiales.

**Tabla 1.** Efecto de la melatonina exógena sobre los porcentajes de cabras que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml, comportamiento sexual y diagnóstico de gestación positivo

	Control	Melatonina
Progesterona aumentada	90,0% <sup>a</sup>	83,3% <sup>a</sup>
Celo	83,3% <sup>a</sup>	93,3% <sup>b</sup>
Gestantes	46,7% <sup>a</sup>	53,3% <sup>a</sup>

a = a, para P>0,05 (entre columnas)

a ≠ b, para P≤0,05 (entre columnas).

**Tabla 2.** Porcentajes de cabras que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml y diagnóstico de gestación positivo post fecundación por monta natural (MN) o inseminación artificial (IA)

	Monta natural	Inseminación artificial
Progesterona aumentada	86,7% <sup>a</sup>	86,7% <sup>a</sup>
Gestantes	80,0% <sup>a</sup>	16,7% <sup>b</sup>

a = a, para P>0,05 (entre columnas)

a ≠ b, para P≤0,001 (entre columnas).

## EFFECTS OF BREEDING AND HORMONAL CONTROL PROTOCOLS ON THE REPRODUCTION ACTIVITY OF SERRANA GOATS IN SEASONAL ANOESTROUS

**ABSTRACT:** The main aim of this paper was to study the effects of different breeding - natural mounting vs artificial insemination - and hormonal control protocols - melatonin + FGA + eCG vs. FGA + eCG - on the reproduction activity of Portuguese Serrana goats in the anestrus season. In March, 60 adult Serrana goats were randomly divided in two groups: half the goats received a subcutaneous implant of melatonin (18 mg) and the other half got no treatment. Fifty days afterward all goats were treated with an injection of 100 µg of PGF<sub>2α</sub> and a vaginal sponge with 20 mg of FGA. Five days later 300 IU of eCG were injected at sponge withdraw. At this time, goats from both groups were randomly divided in two subgroups: half the goats were fertilized by natural mounting and the other half by artificial insemination with frozen semen. Short-term progestagen and eCG treatment was effective in promoting reproduction activity. Melatonin increased the percentage of goats showing estrus but had no significant effect on the percentage of goats presenting high plasmatic levels of progesterone after short-term progestagen and eCG treatment and on fertility. Fertility was significantly higher in Serrana goats fertilized by natural mounting than by artificial insemination with frozen semen.

**Key-words:** Goat, Serrana, melatonin, artificial insemination, frozen semen.

## ANTICIPACIÓN DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN OVEJAS DE RAZA CHURRA GALEGA BRAGANÇANA - EFECTO DE LAS GONADOTROPINAS CORIÓNICAS

Valentim<sup>1</sup>, R., Azevedo<sup>2</sup>, J., Mauricio<sup>1</sup>, R., y Correia<sup>3</sup>, T.

<sup>1</sup>IPB - ESA –, Apartado 1172, 5301-855 Bragança – Portugal; UTAD – Departamento de Zootecnia, Apartado 1013, 5001-911 Vila Real – Portugal; <sup>3</sup>Centro de Investigação de Montanha (CI MO). IPB -ESA, Apartado 1172, 5301-855 Bragança – Portugal  
valentim@ipb.pt

### INTRODUCCIÓN

En ovinos, la anticipación de la estación reproductiva puede alcanzarse a través de la utilización combinada de tratamientos con melatonina, progestágenos y gonadotropinas. Estas últimas se usan para provocar la ovulación. Dos de las gonadotropinas más comunes son la eCG (Gonadotropina coriónica equina) y la hCG (Gonadotropina coriónica humana). Ambas poseen acciones idénticas a la FSH (Hormona folículo estimulante) y a la LH (Hormona luteinizante). Sin embargo, la eCG tiene una acción eminentemente FSH, mientras que la hCG tiene una acción esencialmente LH (Azevedo *et al.*, 2006). En este trabajo se estudian los efectos de la administración de las gonadotropinas coriónicas - eCG y hCG - en la anticipación de la actividad reproductiva en ovejas de la raza portuguesa Churra Galega Bragançana.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue realizado en la ciudad de Bragança (latitud 41° 49' N, longitud 6°40' W y altitud 691 metros), entre 28 de febrero y 8 de junio de 2011, envolviendo un total de 65 ovejas de la raza portuguesa Churra Galega Bragançana. Las ovejas fueron alimentadas en pastoreo en prados naturales y se les dio un suplemento, en grupo, de heno de prados naturales (*ad libitum*) y una media de 300-350 g/animal de alimento concentrado comercial. Al comenzar este trabajo, todas las ovejas fueron pesadas en una balanza con jaula y su condición corporal fue valorada según la tabla Australiana (Russel, 1969).

Con el objetivo de evaluar el estadio fisiológico inicial de las ovejas se hizo, dos veces por semana (lunes y viernes), durante dos semanas (de 4 a 14 Marzo), un muestreo de sangre, para posterior determinación de los niveles plasmáticos de progesterona, según la técnica de RIA (Coat-A-Count, Siemens, Alemania). Se consideró que las ovejas estaban en anestro estacional siempre que, en las 4 tomas de sangre, los niveles plasmáticos de progesterona fueran inferiores a 0,5 ng/ml.

El día 14 de marzo, las ovejas fueron divididas al azar en dos grupos: Melatonina (n = 28) y Control (n = 37). Las ovejas Melatonina recibieron un implante subcutáneo de melatonina (18 mg) (CEVA Santé Animale, Libourne, Francia).

El estadio fisiológico anterior al tratamiento progestativo fue observado en todas las ovejas a través de los niveles plasmáticos de progesterona (de 18 a 28 de Abril). De nuevo, se consideró que las ovejas estaban en anestro estacional siempre que, en las 4 tomas de sangre, los niveles plasmáticos de progesterona fueran inferiores a 0,5 ng/ml.

El día 28 de abril (45 días después de la inserción de los implantes de melatonina), todas las ovejas recibieron una inyección (i.m.) de 100 µg de cloprostenol/oveja (Essex Animal Health, Friesoythe, Alemania) y una esponja vaginal impregnada con 20 mg de acetato de fluorogestona (FGA) (Intervet International, Unterschleissheim, Alemania). El tratamiento progestativo tuvo una duración de 5 días.

Cuando se retiraron las esponjas vaginales a todas las ovejas Melatonina y a 21 de las ovejas Control (elegidas al azar) se administraron 500 UI de eCG (Intervet International, Unterschleissheim, Alemania). A las otras 16 ovejas Control se les inyectaron 500 UI de hCG (Intervet International, Unterschleissheim, Alemania). Seguidamente, 3 moruecos adultos fueron introducidos en el rebaño.

La respuesta ovárica tras la inyección de la gonadotropina coriónica fue valorada por los niveles plasmáticos de progesterona. Las muestras de sangre fueron recogidas 24 horas después de la



administración de eCG y diariamente en los 5 días siguientes. Se consideró que las ovejas habían producido por lo menos un cuerpo lúteo (CL) siempre que los niveles plasmáticos de progesterona fueran superiores a 0,5 ng/ml.

Para identificación de los celos, los moruecos fueron equipados con arneses marcadores. El registro de las marcas se hizo dos veces al día. Los moruecos permanecieron con las ovejas durante 7 días.

Cuarenta y un días después de la introducción de los moruecos, todas las ovejas fueron sometidas a diagnóstico de gestación por ultrasonografía en tiempo real con un ecógrafo ALOKA SSD-500 y una sonda abdominal de 5,0 MHz.

Con el objetivo de identificar diferencias estadísticamente significativas entre algunos parámetros se efectuaron análisis de varianza, según la prueba de Bonferroni/Dunn. Con la finalidad de comparar frecuencias, se utilizó la prueba de  $\chi^2$ . Los datos fueron expresados como Media  $\pm$  Desviación Típica (SPSS Statistics 20).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se inició este trabajo, las ovejas tenían  $3,8 \pm 1,6$  años de edad, pesaban  $54,3 \pm 4,7$  kg y presentaban una condición corporal media de  $3,1 \pm 0,8$ . Las diferencias de edad, peso y condición corporal observadas entre grupos fueron estadísticamente no significativas ( $P > 0,05$ ). Ningún de estos parámetros afectó significativamente a los diferentes parámetros reproductivos evaluados ( $P > 0,05$ ).

En las dos semanas anteriores al tratamiento con melatonina (inicialmente), el 13,8% ( $n = 9$ ) de las ovejas presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. Las demás, el 86,2% ( $n = 56$ ), estaban en anestro estacional ( $\chi^2 = 103,7$ ;  $P \leq 0,001$ ). Más tarde, en las dos semanas previas al tratamiento progestativo (últimas semanas de abril), el 15,4% ( $n = 10$ ) de todas las ovejas presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. Este porcentaje fue del 10,8% ( $n = 4$ ) en las ovejas Control y del 21,4% ( $n = 6$ ) en las ovejas Melatonina ( $\chi^2 = 3,7$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabla 1). Estos resultados indican un anestro estacional profundo.

Después de la inyección de la gonadotropina coriónica, el 84,6% ( $n = 55$ ) de las ovejas estudiadas presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml. La diferencia observada entre ovejas Control/eCG (85,7%;  $n = 18$ ) y Melatonina (78,6%;  $n = 22$ ) fue estadísticamente no significativa ( $\chi^2 = 1,7$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabla 1). El tipo de gonadotropina aplicada no alteró significativamente el porcentaje de ovejas Control que produjeron, por lo menos, un CL - eCG: 85,7% ( $n = 18$ ) vs. hCG: 93,8% ( $n = 15$ ) ( $\chi^2 = 3,6$ ;  $P > 0,05$ ).

Tras la administración de la gonadotropina coriónica, el 69,2% ( $n = 45$ ) de todas las ovejas presentaron comportamiento sexual. El porcentaje de ovejas que exhibieron celo fue mayor en el grupo Control/eCG (90,5%;  $n = 19$ ) que en el grupo Melatonina (64,3%;  $n = 18$ ) ( $\chi^2 = 19,1$ ;  $\leq 0,001$ ) (Tabla 2). El tipo de gonadotropina inyectada condicionó el porcentaje de ovejas Control que presentaron celo - eCG: 90,5% ( $n = 19$ ) vs. hCG: 50,0% ( $n = 8$ ) ( $\chi^2 = 38,1$ ;  $P \leq 0,001$ ).

El diagnóstico de gestación, a los 41 días después de la aplicación de la gonadotropina coriónica, indicó que el 53,8% ( $n = 35$ ) de las ovejas estudiadas estaban gestantes. La diferencia entre ovejas Control/eCG (61,9%;  $n = 13$ ) y Melatonina (50,0%;  $n = 14$ ) fue estadísticamente no significativa ( $\chi^2 = 2,9$ ;  $P > 0,05$ ) (Tabla 2). La gonadotropina administrada no influyó el porcentaje de ovejas Control que quedaron gestantes - eCG: 61,9% ( $n = 13$ ) vs. hCG: 50,0% ( $n = 8$ ) ( $\chi^2 = 2,9$ ;  $P > 0,05$ ). En general, la fertilidad resultó algo reducida. Puede que parte del problema haya sido causado por el bajo índice macho/hembra. En el futuro hay que aumentar este índice.

Según los resultados presentados, la respuesta reproductiva de las ovejas Churras Bragançanas a la melatonina exógena fue mínima, redujo el porcentaje de ovejas que

presentaron celo, sin inhibir la formación de cuerpos lúteos y la tasa de fertilidad. La metodología empleada no permite aclarar el porqué de esta respuesta.

La eCG parece haber suscitado eficazmente el crecimiento folicular y la ovulación. Sin embargo, un limitado porcentaje de las ovejas quedaron gestantes. A su vez, la hCG parece haber sido menos eficaz a estimular el crecimiento folicular, pero todas las ovejas que ovularon quedaron gestantes.

Teniendo en cuenta las condiciones en que este trabajo fue desarrollado, la metodología usada y los resultados obtenidos, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- La melatonina exógena no aumentó la eficacia del tratamiento progestativo corto.
- El tratamiento progestativo corto fue efectivo en el control de la actividad reproductiva.
- La eCG y la hCG produjeron tasas de fertilidad idénticas, pero la primera fue más efectiva que la segunda para mejorar el comportamiento de celo en época de anestro.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Azevedo, J.M., Valentim, R.C. & Correia, T.M., 2006. Control hormonal de la actividad ovárica en ovinos. *Albêitar* 98: 2-4.

Russel, A.J.F., Doney, J.M. & Gunn, R.G., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci. Camb.* 72: 451-454.

**Tabla 1.** Porcentaje de ovejas que presentaron niveles plasmáticos de progesterona superiores a 0,5 ng/ml, pre y post tratamiento progestativo (FGA) y eCG

	Control	Melatonina
Pre-FGA	10,8% <sup>a</sup>	21,4% <sup>a</sup>
Post-FGA	85,7% <sup>a</sup>	78,6% <sup>a</sup>

a = a, para P>0,05 (entre columnas).

**Tabla 2.** Porcentaje de ovejas que presentaron celo y diagnóstico de gestación positivo

	Control/eCG	Melatonina	eCG	hCG
Celo	90,5% <sup>a</sup>	64,3% <sup>b</sup>	90,5% <sup>a</sup>	50,0% <sup>b</sup>
Diagnóstico gestación	61,9% <sup>a</sup>	50,0% <sup>a</sup>	61,9% <sup>a</sup>	50,0% <sup>b</sup>

a = a, para P>0,05 (entre columnas, mismo tratamiento).

a ≠ b, para P≤0,001 (entre columnas, mismo tratamiento).

### ADVANCING THE BREEDING SEASON OF PORTUGUESE CHURRA GALEGA BRAGANÇANA EWES - EFFECT OF CHORIONIC GONADOTROPINS

**ABSTRACT:** This work aimed to assess if a pre-treatment with melatonin may improve the efficiency of a short-term progestagen treatment in advancing the breeding season in Churra Galega Bragançana ewes. The effects of eCG and hCG were also assessed. In March, 65 adult ewes were randomly divided in two groups: 28 received a subcutaneous implant of melatonin (18 mg) as the others 37 got no treatment (Control). Forty-five days afterward all ewes were treated with an injection of 100 µg of PGF<sub>2α</sub> analogous and a vaginal sponge with 20 mg of FGA. Sponges were removed 5 days later. At this time, 21 Control and all Melatonin ewes were injected with 500 IU of eCG. The remaining 16 Control ewes received an injection of 500 IU of hCG. Short-term progestagen treatment was valuable in advancing the breeding activity. Exogenous melatonin did not improve the efficiency of this treatment. eCG and hCG had identical effects on fertility. Fertility rate was generally fair.

**Keywords:** Churra Galega Bragançana, melatonin, eCG, hCG

## EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ACTIVINA-A EN EL MEDIO DE MADURACIÓN Y DEL CULTIVO *IN VITRO* SOBRE EL RENDIMIENTO DE LA PIVE EN OVOCITOS DE CABRAS PREPÚBERES

Hammami, S., Morató, R., Catalá, M.G., Paramio, M.T. y Izquierdo, D.  
Dpt. Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra (Barcelona). [Dolors.Izquierdo@uab.cat](mailto:Dolors.Izquierdo@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, distintos grupos de investigación se han centrado en el perfeccionamiento de cada una de las técnicas implicadas en la Producción *In Vitro* de Embriones (PIVE), usando ovocitos de hembras adultas o prepúberes, con el fin de mejorar la técnica, acercarse y reproducir *in vitro* los mecanismos fisiológicos que rigen la función reproductiva. Sin embargo, los ovocitos de hembras prepúberes presentan un menor desarrollo embrionario que los procedentes de hembras adultas. *In vivo*, el ambiente folicular proporciona un entorno óptimo para la maduración del ovocito y su preparación para la fecundación después de la ovulación (Armstrong y Webb., 1997).

En los estudios de PIVE, se han utilizado muchas sustancias promotoras del crecimiento para suplementar el medio de cultivo como por ejemplo gonadotropinas, esteroides y factores de crecimiento (Loneragan et al., 2008). La activina-A, un complejo proteico de la superfamilia de proteínas TGF- $\beta$  (Mather et al., 1997), añadida al medio de maduración *in vitro* en varias especies como la bovina (Izadyar et al., 1996; Silva y Knigh.,1998), humana (Alak et al., 1998) o porcina (Coskun et al., 1994), se ha visto que incrementa el reinicio de la meiosis de los Complejos Ovocitos Células del Cúmulo (COCs) y su posterior desarrollo embrionario. Por otra parte, la adición de activina-A al medio de cultivo *in vitro* ayuda a mejorar el porcentaje de blastocistos bovinos (Trigal et al., 2011). En cabras adultas se ha identificado la activina-A y sus receptores en los ovocitos y en las células del cúmulo en diferentes fases de desarrollo folicular (Silva et al., 2004).

Como en nuestro laboratorio utilizamos ovocitos de cabras prepúberes, el objetivo de este trabajo fue evaluar si la suplementación de los medios de maduración *in vitro* (MIV) y cultivo *in vitro* (CIV) con 10 ng/ml de activina-A mejoraba la producción de embriones y la calidad de los blastocistos obtenidos a partir de ovocitos procedentes de cabras prepúberes.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los ovarios de cabras prepúberes (aproximadamente de 2 meses de edad) fueron recogidos en un matadero comercial de Barcelona y transportados al laboratorio en PBS (P-4417, Sigma, St. Louis, MO, USA) a 38 °C en un contenedor isotérmico. Una vez en el laboratorio, se seleccionaron los ovarios con mejor desarrollo folicular y se desecharon los que presentaban formaciones quísticas o una morfología anormal. Los (COCs) se obtuvieron mediante el método de *slicing* de los folículos utilizando una hoja de bisturí en una placa de petri que contenía medio TCM-199 (M-2520, Sigma) suplementado con 2,2 mg/mL NaHCO<sub>3</sub> (S-3817) y 5  $\mu$ L/mL de gentamicina (G1272). Se seleccionaron los COCs con más de tres capas compactas de células del cúmulo y citoplasma homogéneo y se pusieron a madurar durante 24 h en grupos de 25-30 COCs en dos medios de maduración: (a) medio convencional de maduración (MC) (TCM199 (SIGMA-M4530) suplementado con 275  $\mu$ g/mL de piruvato sódico (SIGMA, P-3662), 50  $\mu$ g/mL de gentamicina (SIGMA, G1272), 146  $\mu$ g/mL de L-glutamina (SIGMA, G-5763), 10% de DBS (suero de donante bovino), 10  $\mu$ g/mL FSH, 10  $\mu$ g/mL LH, 1  $\mu$ g/mL 17 $\beta$ -estradiol y 100  $\mu$ M cisteamina (SIGMA, M9768), y (b) MC + 10 ng/mL activina-A (R&D Systems; Minneapolis, MN, EEUU). Transcurrido el tiempo de maduración los ovocitos se lavaron tres veces en medio TALP y se transfirieron a microgotas de 100  $\mu$ L del mismo medio al cual se añadió semen fresco capacitado con heparina (concentración final: 4x10<sup>6</sup> espermatozoides/mL) y se co-cultivaron a 38,5°C y una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> en aire. Tras 24 h de co-incubación de los gametos, los presuntos cigotos (10 presuntos cigotos/microgota de 20  $\mu$ L) se pusieron a cultivar durante 8 días en medio SOF (Takahashi y First., 1992), suplementado o no con 10 ng/mL activina-A, a 38,5 °C y en una atmósfera con un 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 90% N<sub>2</sub> y saturada de humedad. Así, los 4

grupos experimentales de este trabajo fueron **1) A0A0**: COCs madurados en MC y cultivados en SOF; **2) A0A10**: COCs madurados en MC y cultivados en SOF+10 ng/mL activina-A; **3) A10A0**: COCs madurados en MC+10 ng/mL activina-A y cultivados en SOF; y **4) A10A10**: COCs madurados en MC+10 ng/mL activina-A y cultivados en SOF+10 ng/mL activina-A. Al final del proceso se valoró el desarrollo embrionario mediante la observación en el microscopio estereoscópico y los blastocistos fueron teñidos con la técnica de tinción diferencial (tinción de células de la masa celular interna (ICM) y del trofotodermo (TE)) descrita por Thouas et al. (2001) y observados mediante un microscopio de fluorescencia. Los datos sobre la tasa de división y el desarrollo embrionario hasta blastocisto de cada uno de los grupos experimentales fueron comparados mediante ANOVA usando el procedimiento de modelos lineales (GLM) del paquete estadístico SAS. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados de división embrionaria y desarrollo hasta el estadio de blastocisto. El porcentaje de división embrionaria fue similar entre los 4 grupos experimentales. En cuanto a la tasa de producción de blastocistos con respecto a los ovocitos puestos a fecundar, fue significativamente más alta en el grupo de ovocitos MIV en ausencia de activina-A pero CIV en su presencia (A0A10) que en el grupo control (A0A0) (18,71% vs 12,58%,  $P < 0.05$ ). En bovino, Trigal et al. (2011) obtuvieron resultados similares de desarrollo hasta blastocisto, ya que observaron un incremento significativo en la tasa de producción de blastocistos al cultivar a los embriones en presencia de activina-A a partir del 3<sup>er</sup> día de cultivo.

Respecto al número de células de los blastocistos (Tabla 2), éste no se vio afectado por la presencia de activina-A, ya que se encontró una proporción similar de células del TE y de la ICM en los blastocistos de los 4 grupos experimentales. Resultados similares se han descrito en blastocistos bovinos producidos en presencia o no de activina-A (Yoshioka et al., 1998; Trigal et al., 2011).

En conclusión, nuestros resultados sugieren que la adición de 10 ng/mL de activina-A durante el cultivo *in vitro* de los embriones favorece el desarrollo embrionario hasta el estadio de blastocisto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armstrong, D.G. & Webb, R. 1997. Rev. Reprod. 2: 139-146.
- Lonergan, P. & Fair, T. 2008. Theriogenology. 69(1): 17-22.
- Mather, J.P., Moore, A., Li, R.H. 1997. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. 215(3).
- Izadyar, F., Zeinstra E., Colenbrander B., Vanderstichele H. & Bevers M. 1996. Anim. Reprod. Sci. 45(1-2): 37-45.
- Silva, C. & Knight, P. 1998. Biol. Reprod. 58(2): 558-65.
- Alak, B., Coskun, S., Friedman, C., Kennard, E., Kim, M. & Seifer, D. 1998. Fertil. Steril. 70(6): 1126-30.
- Coskun, S. & Lin Y. 1994. Mol. Reprod. Dev. 38(2): 153-9
- Trigal, B., Gomez, E., Diez, C., Caamano, J.N., Martín, D., Carrocera, S. & Muñoz, M. 2011. Theriogenology. 75(3): 584-8.
- Silva, J., Van den Hurk, R., Van Tol, H., Roelen, B. & Figueiredo, J.J. 2004. Endocrinol. 183(2):405-15.
- Takahashi, Y. & First, N.L. 1992. Theriogenology. 37(5):963-78.
- Thouas, G.A., Korfiatis, N.A., French, A.J., Jones, G.M. & Trounson, A.O. 2001. Reprod Biomed Online: 3(1):25-29.
- Yoshioka, K., Suzuki, C. & Iwamura, S. 1998. Biol. Reprod: 59(5):1017-22.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2007-60227-CO2-01 y la beca doctoral del programa MAEC-AECID concedida para Sondas Hammami.

**Tabla 1.** Resultados de desarrollo embrionario en presencia de 10 ng/mL activina-A durante la MIV de ovocitos de cabras prepúberes y/o el CIV.

Grupo	N (COCs)	Div/N (%)	Blastocistos N(%)			
			Día 7*	Día 8*	Día 9*	Día 9**
A0A0	296	151 (51,01)	10 (06,62)	15 (09,93)	19 (12,58) <sup>a</sup>	19 (06,42) <sup>a</sup>
A0A10	283	155 (54,77)	16 (10,32)	22 (14,19)	29 (18,71) <sup>b</sup>	29 (10,25) <sup>b</sup>
A10A0	267	141 (52,81)	10 (07,09)	16 (11,35)	20 (14,18) <sup>ab</sup>	20 (07,49) <sup>a</sup>
A10A10	287	147 (51,22)	13 (08,84)	17 (11,56)	21 (14,28) <sup>ab</sup>	21 (07,32) <sup>a</sup>

N(COCs): n° de complejos ovocito-cúmulus puestos a MIV; Div/N (%): porcentaje de división a las 48 hpi. \* Porcentaje de blastocistos respecto a los cigotos.\*\* Porcentaje de blastocistos respecto a los COCs puestos a FIV. <sup>a,b</sup>:P<0,05

**Tabla 2.** Número de células de la masa celular interna (MCI) y del trofotodermo (TE) de blastocistos producidos en presencia de 10 ng/mL activina-A durante la MIV de ovocitos de cabras prepúberes y/o el CIV.

Grupo	No. Blastocistos teñidos	No. de células (media+ESM)			ICM:TE (%)
		Total	TE	ICM	
A0A0	9	72,4±2,69	50,8±2,29	21,7±0,53	0,43±0,01
A0A10	14	79,0±3,76	56,5±2,76	22,5±1,41	0,40±0,02
A10A0	8	76,7±3,68	54,6±2,68	22,1±1,41	0,41±0,02
A10A10	10	73,8±6,25	52,0±4,42	21,8±1,92	0,42±0,01

TE: trofotodermo ICM: masa celular interna ESM: error estándar de la media.

## EFFECT OF ACTIVIN-A DURING IVM AND IVC OF PREPUBERTAL GOAT OOCYTES ON BLASTOCYST RATE AND QUALITY

**ABSTRACT:** The aim was to evaluate the effect of activin-A added to the IVM and IVC media on cleavage rate, embryo development and blastocysts quality of oocytes from prepubertal goat. COCs were randomly allocated into four groups: (1) A0A0: COCs matured in IVM medium and cultured in SOF medium; (2) A0A10: COCs matured in IVM medium and cultured in SOF medium+10ng/mL activin-A; (3) A10A0: COCs matured in IVM medium+10ng/mL activin-A and cultured in SOF medium; and (4) A10A10: COCs matured in IVM medium + 10ng/mL activin-A and cultured in SOF medium+10ng/mL activin-A. Cleavage rate was recorded at 48hpi and blastocysts yield at Days 7, 8 and 9 pi. In order to assess the quality of blastocysts obtained from the treatment groups, cell number and the cellular composition of Day 8 pi blastocysts were evaluated by differential staining of ICM and TE. The cleavage rate did not show differences between treatments, however, blastocysts yield improved with the addition of activin-A. The highest blastocyst rate (18.7%) was obtained when activin-A was added only in IVC medium (A0A10). No differences in blastocyst mean cell number were detected among groups. In conclusion, the presence of activin-A during IVC improves developmental competence of prepubertal goat oocytes.

**Keywords:** *in vitro* maturation, *in vitro* culture, Inner cell mass, trophoectoderm

## **SELECCIÓN DE OOCITOS DE CORDERA MEDIANTE LA TINCIÓN DEL *BRILLIANT CRESYL BLUE* PARA LA PRODUCCIÓN DE BLASTOCISTOS MEDIANTE FIV E ICSI**

Catalá, M.G., Hammami, S., Roura, M., Romaguera, R., Morató, R., Izquierdo, D. y Paramio M.T.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España. [Teresa.Paramio@uab.es](mailto:Teresa.Paramio@uab.es)

### **INTRODUCCIÓN**

Las diferentes tecnologías de reproducción asistida (ART) son una herramienta importante para aumentar la productividad de la industria ganadera. La inseminación artificial (IA) es la ART más utilizada en este sector y ha supuesto un fuerte impacto en la Producción Animal al incrementar la ganancia genética utilizando machos de alto valor genético. En hembras, la MOET (Ovulación múltiple y transferencia de embriones), fecundación in vitro (FIV) y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) utilizadas para producir embriones *in vitro* serán esenciales para incrementar la difusión genética de las hembras como la IA lo ha logrado con los machos. Diversos investigadores han demostrado que gran parte del éxito en la producción in vitro de embriones depende de la calidad del oocito (revisado por Sirard, 2011).

La calidad o competencia del oocito se adquiere gradualmente durante el transcurso de la foliculogénesis y se define como la capacidad de un oocito para reasumir la meiosis, dividirse después de ser fecundado, llegar al estadio de blastocisto y llevar a término una preñez. Se ha demostrado que existen diferentes factores que afectan a la calidad del oocito entre los que se encuentran el diámetro del oocito, diámetro folicular (Gandolfi et al., 1998), fase de la onda folicular (Machatkovaa et al., 2004), estimulación hormonal (Sirard et al., 2006), estación del año (Sartori et al., 2002), nutrición (Fouladi-Nashta et al., 2007) y edad de la donante (Rizos et al., 2005), entre otros.

En nuestro laboratorio tenemos como objetivo seleccionar, entre un *pool* heterogéneo de oocitos obtenidos a partir de ovarios de matadero, los oocitos más competentes para producir embriones in vitro. El *brilliant cresyl blue* (BCB) es una tinción vital que determina la presencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6FD) perteneciente al ciclo de las pentosas. La G6FD está presente en todas las células, incluyendo los oocitos, en donde se encuentra con alta actividad en los oocitos que aún están en fase de crecimiento (BCB-) y con baja actividad en oocitos que ya han alcanzado la fase final de crecimiento y son más competentes para ser fecundados (BCB+). Por lo tanto, los oocitos con poca actividad de la G6FD son incapaces de degradar el BCB y los oocitos se quedan teñidos de azul. Sin embargo los oocitos con alta actividad de la G6PD degradan el colorante y su citoplasma permanece incoloro (BCB-).

El objetivo del presente estudio es analizar la tinción del BCB en oocitos de corderas estudiando parámetros moleculares que están directamente relacionados con la competencia del oocito como son: la actividad de las mitocondrias, del MPF (factor promotor de la maduración) y la concentración intracelular del ATP. También se estudió el desarrollo hasta blastocistos de estos oocitos después de FIV y de la ICSI así como la calidad de estos embriones contando el número de células embrionarias.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los oocitos se recuperaron mediante la técnica de *slicing* de ovarios de matadero de corderas de 3 a 6 meses de edad. Se seleccionaron los oocitos con 3 o más capas de células del cúmulus (COCs) y citoplasma homogéneo. Los COCs, se incubaron durante 1 hora en el BCB (26  $\mu$ M BCB) a 38,5°C y 100% de humedad. La valoración de la tinción se realizó en un microscopio estereoscópico y según la coloración, los oocitos fueron clasificados como oocitos teñidos de azul y que previsiblemente han finalizado su crecimiento (BCB+) y oocitos sin teñir o en fase de crecimiento (BCB-). Una vez seleccionados los oocitos BCB+ y BCB- se analizó la actividad mitocondrial utilizando el mitotracker orange CMTMRos (Molecular Probes, Eugene, OR, EE.UU.), la concentración del ATP mediante un kit de bioluminiscencia (Sigma bioluminescence FLASC kit, St Louis, MO, EE.UU.) y la actividad del MPF mediante el análisis de la CDC2 quinasa (MESACUP CDC2, MBL, Madrid, España). Posteriormente los oocitos restantes seleccionados como BCB+ y BCB- se sometieron a una FIV e ICSI y mediante una tinción con Hoechst 33258 se

analizó el número de blastómeros de los blastocistos producidos mediante las 2 técnicas (Catalá et al., 2012). Para el análisis de embriones, se realizó un test de Fisher, mientras que para las mitocondrias, MPF y ATP se realizó un PROD MIXED del programa SAS (version 9.1; SAS Institute Inc., EE.UU.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo encontramos que los oocitos BCB+ produjeron significativamente mayor porcentaje de blastocistos que los BCB- cuando se realizó la FIV, mientras que los oocitos BCB+ y BCB- produjeron porcentajes similares de blastocistos cuando se los sometió a una ICSI. En humanos se utiliza la ICSI en casos de infertilidad mejorando significativamente las tasas de fertilidad (Westerlaken et al., 2005). Los oocitos utilizados para la ICSI son previamente seleccionados por su maduración nuclear (oocitos en metafase II), mientras que con la FIV no conocemos este parámetro. En nuestro caso podemos decir que la ICSI pudo mejorar la fertilización de los oocitos BCB- obteniendo resultados similares que con los BCB+. A pesar de la mejoría en el número de blastocistos en los BCB- con la ICSI, sin embargo el número de blastómeros es menor en los BCB- que en los blastocistos provenientes de oocitos BCB+. Siendo el número de blastómeros un síntoma de calidad de blastocistos (Holm P et al., 2002), podemos concluir que los blastocistos BCB- son de menor calidad que los blastocistos BCB+, Estos resultados se presentan en Tabla 1.

En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos en relación a la actividad mitocondrial, la actividad del MPF y la concentración intracelular del ATP. En los tres análisis, los oocitos BCB+ presentaron significativamente ( $P < 0,05$ ) mayor actividad mitocondrial, MPF y concentración de ATP que los oocitos BCB-. En humanos se encontró una relación entre los oocitos con mayor actividad mitocondrial y por lo tanto una mayor producción de ATP (fuente principal de energía celular) concluyendo en una mayor viabilidad de los embriones producidos (Van Blerkom et al., 1995). Por lo tanto consideramos que una mayor actividad mitocondrial y concentración del ATP es un síntoma de buena calidad y que en corderas y bajo nuestras condiciones de trabajo, los oocitos BCB+ cumplen con esta característica. En el caso del MPF, Salamone et al. (2001) y Ledda et al. (2001) demostraron tanto en vacas y ovejas, que los oocitos provenientes de animales prepúberes tienen menor actividad del MPF que oocitos provenientes de animales adultos y que está estrechamente relacionado con una menor producción de embriones. Estos resultados son similares a los nuestros en donde los oocitos BCB- tienen menor actividad del MPF mostrando su menor calidad en comparación a los BCB+. En conclusión, la tinción del BCB logra diferenciar dos poblaciones citoplasmáticamente diferentes partiendo de un grupo heterogéneo de oocitos; los BCB+ oocitos con mayor actividad mitocondrial, mayor concentración de ATP, mayor actividad del MPF y mayor tasa de fecundación con mayor probabilidad de éxito ya que sus embriones poseen más blastómeros; BCB-, oocitos con menor actividad mitocondrial, ATP, MPF, embriones y blastómeros por embrión. Poder diferenciar dos poblaciones de oocitos puede ser de gran utilidad a nivel científico para poder analizar con más profundidad las diferencias entre estos oocitos y poder encontrar nuevas teorías sobre la fertilidad y a nivel práctico para mejorar la producción in vitro de embriones.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

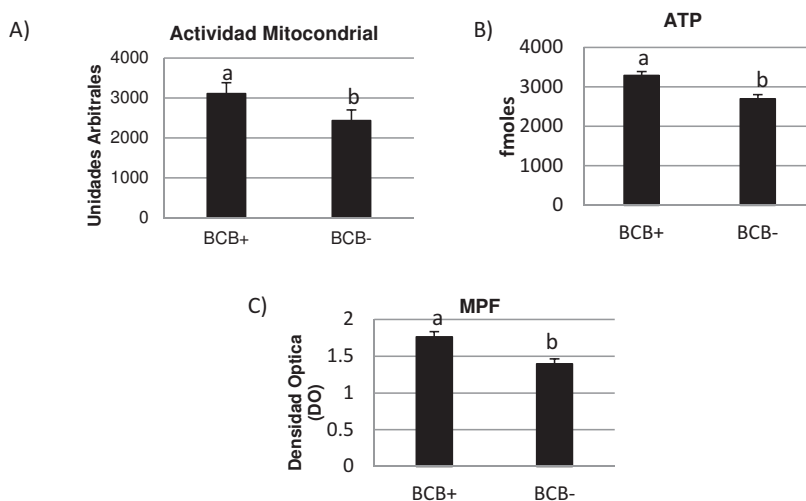
Catalá MG, Izquierdo D, Rodríguez-Prado M, Hammami S & Paramio MT. *Fert & Ster.* 1004-8 • Fouladi-Nashta AA, Gutierrez CG, Gong JG, Garnsworthy PC & Webb R 2007. *Biol. of Reprod.* (77) 9-17 • Gandolfi F, Milanese E, Pocar P, Luciano AM, Brevini TAL, Accolla F, Lauria A & Armstrong DT 1998. *Mol. Reprod. & Dev.* (49) 168-75 • Holm, P.; Booth, P.J.; Callesen, H. 2002 *Reprod.* (123) 4:553-65 • Ledda, S.; Bogliolo, L.; Leoni, G.; Naitana, S. 2001 *Biol. of Reprod.* (65) 1:247-52 • Machatkovaa M, Krausovaa K, Jokesovaa E & Tomanekb M 2004 *Theriog.* (61) 329-35 • Salamone, D.F.; Damiani, P.; Fissore, R.A.; Roble, J.M.; Duby, R.T.I 2001 *Biol. of Reprod.* (64) 6:1761-68 • Rizos D, Burke L, Duffy P, Wade M, Mee JF, O'Farrell KJ, MacSurtain M, Boland MP & Lonergan P 2005. *Theriog.* (63) 939-49 • Sartori R, Sartori-Bergfeldt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ & Wiltbank MC 2002. *J. D.Sci.* (85)2803-12 • Sirard MA 2011 *J. of Ass.Reprod. & Gen.* (28)483-88 • Sirard MA, Richard F, Blondin P & Robert C 2006. *Theriog.* (65)126-36. • Van Blerkom, J.; Davis, P.W.; Lee, J. 1995 *Hum. Reprod.* ; 10:415-24. • Westerlaken, L.; Helmerhorst, F.; Dieben, S.; Naaktgeboren, N. 2005 *Fert. & Ster.* (83)3:612-7.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto **AGL 2011-23784**.

**Tabla 1.** Desarrollo embrionario a día 7 post inseminación de los oocitos de cordera seleccionados mediante la tinción del BCB después de ser Fecundados in vitro (FIV) o mediante la Inyección Intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)

	% de blastocistos FIV	% de blastocistos ICSI	n blastómeros /blastocisto
BCB+	31,7% <sup>aA</sup>	18,6% <sup>B</sup>	70.4±7.9 <sup>c</sup>
BCB-	6,7% <sup>b</sup>	14,8%	49.1±4.6 <sup>d</sup>

El porcentaje de blastocistos se calculó entre el total de oocitos puestos a fecundar. El número de blastómeros se calculó sobre el total de blastocistos producidos por FIV e ICSI. Los valores diferente letra difieren significativamente (Test de Fisher,  $P < 0,05$ ).



**Figura 1.** Actividad mitocondrial, actividad del MPF y concentración del ATP en oocitos de cordera seleccionados mediante la tinción del BCB. <sup>(a,b)</sup> indican diferencias  $P < 0,05$ .

### LAMB OOCYTE SELECTION BY THE BRILLIANT CRESYL BLUE (BCB) STAIN FOR THE EMBRYO PRODUCTION BY IVF AND ICSI

**ABSTRACT:** The aim of this study was to select more competent lamb oocytes by BCB staining. Oocytes were recovered by slicing from slaughterhouse ovaries and stained with 26  $\mu\text{M}$  BCB during 1 h and then separated into two groups: blue oocytes or oocytes that have reached their growth phase (BCB+) and unstained or growing oocytes (BCB-). Both groups of oocytes were submitted to analysis of mitochondria using the mitotracker orange CMTMRos, MPF (Maturation-Promoting-Factor) by CDC2 kinase analysis and ATP content by a bioluminescence kit. After in vitro maturation, oocytes were in vitro fertilized (IVF) and fertilized by ICSI. Blastocysts were recorded at day 7 post-fertilization and stained with Hoechst to assess the blastomer number. The BCB+ oocytes have more active mitochondria, MPF and ATP content than BCB- oocytes. In addition, BCB+ oocytes produced significantly more blastocysts after IVF than BCB- oocyte (32 and 7%, respectively). However, these differences in blastocysts production were not found after ICSI (19 and 15%, respectively). The blastocysts produced from BCB+ oocytes showed more blastomeres in spite of the fertilization method. In conclusion, BCB stain allows selecting more competent lamb oocytes for IVF programs but, it is not necessary using ICSI.

**Keywords:** BCB, IVF, ICSI, lamb.



## EFFECTOS DEL ACIDO HIALURONICO, EN DISTINTAS CONCENTRACIONES Y PESOS MOLECULARES, SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE LOS EMBRIONES OVINOS PRODUCIDOS IN VITRO

Ghaffarilaleh<sup>1,3</sup>, V., Ghafari<sup>2</sup>, F., Paramio<sup>3</sup>, M.T. y Fouladi-Nashta<sup>1</sup>, A.A

<sup>1</sup>Reproduction Genes and Development group, Royal Veterinary College, Hawkshead Campus, Hatfield AL9 7TA, UK. <sup>2</sup>Centre for Reproductive medicine, Walsgrave University Hospital, Coventry, CV2 2DX, UK. <sup>3</sup>Departamento de Ciencia Animal I dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, España.  
[teresa.paramio@uab.es](mailto:teresa.paramio@uab.es)

### INTRODUCCIÓN

El ácido Hialurónico (HA) es un carbohidrato con largas cadenas de polímeros de azúcares que se encuentra en la matriz extracelular de la mayoría de los tejidos animales (Hay, 1991). El HA presenta diferentes compuestos según su peso molecular. Así el HA de alto peso molecular (> 1000-5000 disacáridos y un peso molecular de  $5 \times 10^6$  Da) llamado Healon es un componente estructural de los tejidos y tiene un papel en el mantenimiento de la integridad de la membrana celular (Underhill et al., 1989). El HA de alto peso molecular se encuentra durante la ovulación, la fecundación y la embriogénesis. El HA de medio peso molecular ( $500 - 750 \times 10^3$  Da) llamado hylovet y el de bajo peso molecular ( $55 \times 10^3$  Da) llamado hyal2 son estimulantes angiogénicos y del sistema inflamatorio e inmune (Stern et al., 2006). Las funciones fisiológicas del HA dependen de su concentración y de su peso molecular. Dattena et al. (2006) demostraron en ovino que la adición de HA al medio de cultivo embrionario incrementó la tasa de gestación de estos embriones producidos *in vitro*. El objetivo del presente estudio es comprobar el efecto de distintos pesos moleculares del HA añadido en distintas concentraciones al medio de cultivo embrionario sobre la tasa de supervivencia de los blastocistos obtenidos después de la congelación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

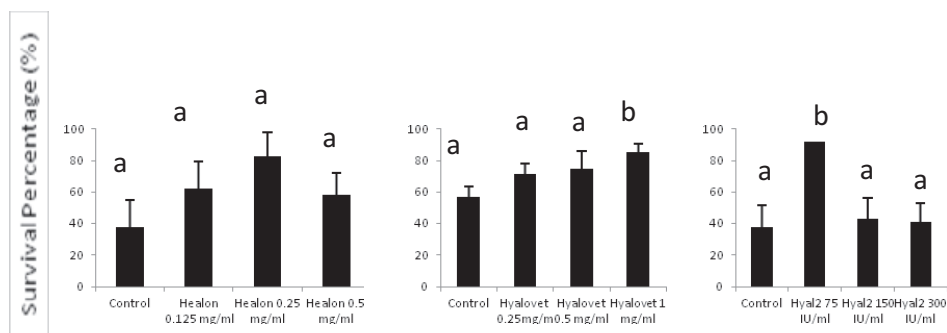
Los ovarios fueron recogidos de un matadero comercial a 1 hora del laboratorio. Los oocitos se obtuvieron por aspiración de los folículos de 2-6 mm de diámetro. Una vez liberados de los folículos, los oocitos se lavaron dos veces y se maduraron en medio TCM199 suplementado con  $10 \mu\text{g/ml}$  FSH (Follitropin, Bioniche animal health, Belleville, ON, Canada),  $10 \mu\text{g/ml}$  de LH (Leutropin, Bioniche animal health, Belleville, ON, Canada), Epidermal Growth Factor  $10 \text{ ng/ml}$ ,  $17 \beta$ -estradiol  $1 \mu\text{g/ml}$ ,  $50 \mu\text{g/ml}$  gentamicin,  $6 \text{ mg/ml}$  BSA fraction V y cisteamina. Grupos de 40-50 oocitos fueron madurados en  $500 \mu\text{l}$  del medio de maduración durante 25 horas a  $38,5^\circ\text{C}$  en una atmósfera del 5% de  $\text{CO}_2$  saturado de humedad. Se utilizó semen congelado de 1 macho. Los espermatozoides se seleccionaron por *swim-up* y se inseminaron con  $1 \times 10^6$  de espermatozoides en el medio de fecundación enriquecido con 15% de suero de oveja en celo. Después de 20 horas de co-cultivo de los gametos en el medio de fecundación, los presuntos cigotos, se lavaron y se transfirieron a las gotas del medio de cultivo. Los cigotos se cultivaron en SOF (Fluido Oviductal Sintético) con BSA (Albumina Serica Bovina). A las 48 h post-fecundación, los oocitos divididos en 2-4 células se cultivaron en SOF a los que se añadió el tratamiento experimental: a) Healon en concentraciones de 0,125, 0,25 and 0,5 mg/ml, b) hyalovet en concentraciones 0,25, 0,50 and 1 mg/ml y c) hyal2 en concentraciones de 75, 150 and 300 UI/ml. Después de 7 días de cultivo, los blastocistos obtenidos fueron vitrificados según la técnica de Vajta *et al* (1998). Brevemente, la técnica consiste en utilizar el TCM199 con 20% de SFB (Suero Fetal Bovino) como medio base (MB) de congelación. Los blastocistos se colocaron en MB durante 7 minutos, posteriormente se transfirieron a MB con 7,5% de EG (Etilenglicol) (v / v) y 7,5% de DMSO (Dimetil Sulfoxido) (v / v) durante 3 minutos y después a MB con 16,5% de EG y 16,5% de DMSO por 25 segundos. Inmediatamente los embriones se colocan en pajuelas y se sumergen en  $\text{N}_2$  líquido. Una vez descongelados los blastocistos fueron cultivados durante 48 horas en medio SOF con BSA para observar su supervivencia.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se muestran en la Figura 1. Estos resultados indican que el HA a diferentes pesos moleculares y concentraciones mejoran la supervivencia embrionaria después de la descongelación. Los embriones producidos *in vitro* presentan baja tolerancia comparados a la congelación comparados con los producidos *in vivo* (Rizos et al., 2003).. La adición de healon no mejoraba significativamente la supervivencia embrionaria, sin embargo la adición de 1 mg/ml de hyalovet (1mg/ml) y de 75 UI/ml de hyal2 aumentaban significativamente la tasa de supervivencia comparados con el control. Stojkovic et al (1999) demostraron que los embriones cultivados con HA presentaban menos anomalías estructurales (formación de blastocelas, orgánulos en el citoplasma, microvellosidades, diferenciación del botón embrionario) después de la congelación/descongelación que los embriones no tratados. También se ha observado este efecto beneficioso en ovocitos (Marquant- Le Guienn et al.,1999) y embriones bovinos (Furnus et al., 1998) y porcinos (Miyoshi et al., 1999).En conclusión el Ácido Hialurónico puede ser un aditivo interesante en los medios de cultivo de embriones para mejorar su supervivencia después de la congelación, especialmente para los embriones producidos *in vitro*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Dattena M, Mara L, Bin T AA, Cappai P. 2007. Molecular Reproduction and Development.74:42-47. • Furnus CC, de Matos DG, Martinez AG. 1998. Theriogenology.49:1489-1499. • Hay ED. 1991. New York: Plenum Press. • Marquant-Le Guienne B, Guyader-Joly C, Ponchon S, Delalleau N, Humblot P. 1999. Theriogenology. 51:386. • Miyoshi K, Umezumi M, Sato E. 1999. Theriogenology. 51:777-784. • Rizos D, Gutiérrez-Adán A, Pérez-Garnelo S, de la Fuente J, Boland MP, Lonergan P. 2003. Biology of Reproduction. 68:236-243. • Stern R, Asari AA, Sugahara KN. 2006. European Journal of Cell Biology. 85:699-715. • Stojkovic M, Kolle S, Peinl S, Stojkovic P, Zakhartchenko V, Thompson J, et al. 2002. Reproduction. 124:141-153. • Underhill CB. 1989. The Biology of Hyaluronan. 87-106. • Vajta G, Holm P, Kuwayama M, Booth PJ, Jacobsen H, Greve T, et al. 1998. Molecular Reproduction and Development. 51:53-58..



**Figura 1.** Efecto de diferentes concentraciones de Acido Hialurónico de distintos pesos moleculares (Healon: alto peso molecular; Hyalovet: medio peso molecular y Hyal2: bajo peso molecular) sobre la supervivencia de los blastocistos ovinos producidos in vitro después de la descongelación. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas

### EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS AND MOLECULAR WEITH OF HYALURONIC ACID ON SURVIVAL OF IN VITRO SHEEP EMBRYOS AFTER CRYOPRESERVATION

**ABSTRACT:** Hyaluronic Acid (HA), a component of extracellular matrix in mammalian tissues including that of the reproductive system, has been shown to support embryo survival. HA is produced in various sizes with distinct physiological functions. In vitro produced 4 + cell stage embryos were cultured in serum free synthetic oviduct fluid with different concentrations of different sizes HA without (control) or supplemented with three increasing concentrations of healon (molecular weight  $5 \times 10^6$  Da, 0.125, 0.25 and 0.5 mg/ml), hyalovet (molecular weight  $500 - 750 \times 10^3$  Da, 0.25, 0.50 and 1 mg/ml) and hyal2 (molecular weight  $55 \times 10^3$  Da, 75, 150 and 300 IU/ml). Blastocysts from each treatment/repeat were vitrified in open pulled straws. Thereafter, thawed embryos cultured for an extra period of 48 h to analyse their survival rate. SPSS version 20 software was used for analyzing the data with generalized linear model. HA in large size numerically increased survival rates 48 h after culture in serum free media ( $38 \pm 17.1$ ,  $63 \pm 17.1$ ,  $83 \pm 15.2$  and  $58 \pm 14.2$ ;  $P > 0.05$ ), but medium size ( $57 \pm 6.45$ ,  $71 \pm 6.45$ ,  $75 \pm 10.83$  and  $85 \pm 5.00$ ,  $P \leq 0.05$ ), and small size ( $38 \pm 13.5$ ,  $92 \pm 7.04$ ,  $43 \pm 13.2$  and  $41 \pm 11.9$ ,  $P \leq 0.05$ ) improved the survival rate. In conclusion HA has ability to improve the viability of frozen blastocysts after freezing.

**Keywords:** Hyaluronan, ovine, blastocyst, cryopreservation

## SECRECIÓN DE MELATONINA POR LAS CÉLULAS DEL CÚMULUS OVINAS Y POSIBLE ACCIÓN DE ESTA HORMONA SOBRE LOS DAÑOS EN EL DNA DURANTE LA MADURACIÓN *IN VITRO*

Casao, A., Pérez-Pe, R., Forcada, F., Abecia, J.A., Cebrian-Perez, J.A. y Muiño-Blanco, T. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. España. [adriana@unizar.es](mailto:adriana@unizar.es)

### INTRODUCCIÓN

La especie ovina posee una reproducción estacional, regulada por la secreción de melatonina nocturna por la glándula pineal. Esta hormona no solo regula el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, sino que trabajos recientes están demostrando que también tiene efectos directos en el ovario y la calidad ovocitaria (Abecia et al., 2008). La melatonina se sintetiza a partir de la serotonina, siendo las enzimas limitantes del proceso serotonín N-acetiltransferasa (AANAT) e hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT o ASTM). Recientes trabajos han demostrado la expresión génica de estas enzimas en células del cúmulus de vacuno y rata (El-Raey et al., 2011; Coelho et al., 2013), lo que sugiere la capacidad de estas células para sintetizar melatonina extrapineal. Estos resultados explicarían los datos poco concluyentes obtenidos al añadir esta hormona a los medios de maduración ovocitaria durante los procesos de maduración *in vitro* (Casao et al., 2010). Una de las principales funciones la melatonina durante la maduración del ovocito podría ser actuar como antiapoptótica, protegiendo frente a daños en el DNA tanto al ovocito como a las células del cúmulus que la rodean (Takada et al., 2012). Además, las células del cúmulus, tanto ovinas (Casao et al., 2011) como de otras especies (Kang et al., 2008), también poseen receptores de membrana para esta hormona, en concreto el receptor MT<sub>1</sub>. Por tanto, se puede hipotetizar que parte de las acciones antiapoptóticas de la melatonina podrían estar mediadas por la unión a receptores específicos.

Para comprobar esta hipótesis, este trabajo tiene un doble objetivo: en primer lugar, investigar la presencia de las enzimas implicadas en la síntesis de melatonina en las células del cúmulus ovinas, y en segundo lugar, determinar si la acción inhibitoria de los daños en el DNA de la melatonina sintetizada por las células del cúmulus durante la maduración del ovocito se realiza a través de receptores de membrana.

### MATERIAL Y METODOS

Para la obtención de células del cúmulus y la determinación de las enzimas implicadas en la síntesis de melatonina (experimento 1), se recogieron ovarios de ovejas adultas del matadero de Mercazaragoza, y los ovocitos se extrajeron y maduraron siguiendo el protocolo habitual de nuestro laboratorio (Forcada et al., 2011). Una vez los ovocitos maduraron, las células de la granulosa se separaron mediante un suave pipeteado y sus proteínas se extrajeron mediante un buffer de extracción compuesto por 125 mM Tris-HCl, 4% SDS, 10%  $\beta$ -mercaptoetanol, 20% glicerol, y 0.02% azul de bromofenol, tras una incubación en un baño de arena a 95°C durante 4 minutos, y una centrifugación de 7500xg durante 5 min. a 4°C. Posteriormente se recogió el sobrenadante, se le añadió un coctel de inhibidores de proteasas (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE.UU.) y se congeló a -20°C hasta su uso.

Para la detección de las enzimas por *western blotting*, se realizó una electroforesis SDS-PAGE de las proteínas extraídas en geles del 12% de acrilamida, y posteriormente se transfirieron a membranas de PVDF utilizando el sistema de transferencia *TransBlot Turbo* (Biorad, 2,5 A, 25 V, 10 min). Tras el bloqueo de los sitios de unión inespecíficos, la inmunodetección de las enzimas se llevó a cabo incubando las membranas con anticuerpos primarios frente a AANAT (Anti-Serotonín N-acetyltransferase antibody, Abcam, Cambridge, Reino Unido) e HIOMT (ASTM antibody, Santa Cruz Biotechnology Inc., Dallas, EE.UU.) durante toda la noche a 4°C, dilución 1/1000, seguido de 1 h de incubación con un anticuerpo secundario anti-conejo sintetizado en burro, conjugado con el fluorocromo IRDye® 800-CW (Li-Cor Biosciences, Lincoln, EE.UU.). Finalmente, las membranas se revelaron con el sistema de detección de fluorescencia Odyssey® (Li-Cor Biosciences). Extractos de glándula pineal ovina se utilizaron como control positivo.

En la segunda parte de este trabajo (experimento 2), para determinar si la melatonina actúa

a través de receptores de membrana, los ovocitos se obtuvieron y maduraron de la forma descrita anteriormente, pero se dividieron en varios grupos experimentales a los que se les añadió los siguientes compuestos: melatonina 1  $\mu$ M (grupo M), luzindole 1  $\mu$ M (antagonista de receptores MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub>, grupo L), 4-P-PDOT 10 nM (antagonista de receptores MT<sub>2</sub> a dosis bajas, grupo P) y DMSO 1/1000 (diluyente de los compuestos anteriores, grupo C). Tras la maduración, se recogieron las células del cúmulus de los ovocitos de los distintos grupos experimentales y el daño en el ADN se estudió mediante la técnica de "TUNEL" (*Terminal deoxynucleotidyl Transferase mediated-dUTP Nick End Labelling*) usando el kit "In situ cell death detection kit, fluorescein", (Roche, Basel, Suiza) y siguiendo las especificaciones del fabricante. Los resultados se visualizaron en un microscopio de fluorescencia (Nikon Eclipse E400), y se evaluaron 500 células de cada grupo. Los resultados se analizaron mediante el test de chi-cuadrado, con el paquete estadístico SPSS (SPSS software, versión 15.0).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento 1, el *western blot* mostró una banda de 23 kDa, compatible con la presencia de AANAT (Figura 1A), y otra de 68 kDa, en este caso compatible con HIOMT (Figura 1B); además, estas bandas se encuentran en la misma posición que el control positivo (glándula pineal), lo que demuestra que las células de cúmulus ovinas tienen la maquinaria bioquímica necesaria para la síntesis de melatonina. En los últimos años se han ido acumulando evidencias de la síntesis en múltiples órganos de melatonina extrapineal, no sometida a ritmos circadianos, y cuya función parece ser principalmente antioxidante y antiapoptótica (Bubenik, 2002; Shimozuma et al., 2011). La expresión génica de enzimas implicadas en la síntesis de melatonina ya había sido probada en las células del cúmulus de otras especies (El-Raey et al., 2011; Coelho et al., 2013), de forma que esta melatonina se acumularía en el folículo preovulatorio, donde su acción sería disminuir el daño oxidativo de los complejos cúmulus-ovocito (Tamura et al., 2013).

Los resultados del experimento 2 no mostraron diferencias significativas en los niveles de daño en el DNA entre el grupo control (C) y el grupo al que se le añadió melatonina exógena (grupo M), lo que sugeriría que las células del cúmulus ovinas secretan melatonina endógena durante la maduración *in vitro*. Además, la maduración *in vitro* con un antagonista de los receptores MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub> (grupo L) aumentó significativamente el porcentaje de células del cúmulus que presentaron daños en el DNA (Figura 2), pero se mantuvo sin diferencias con el control si se maduraron con un antagonista de los receptores MT<sub>2</sub> (grupo P), lo que sugiere que la acción protectora de la melatonina frente al daño en el DNA durante la maduración *in vitro* está mediada por receptores MT<sub>1</sub>. De hecho, hay trabajos que indican que el efecto protector de la melatonina frente al daño del DNA de otros tipos celulares está mediado por estos receptores de membrana (Espino et al., 2011; Santoro et al., 2013).

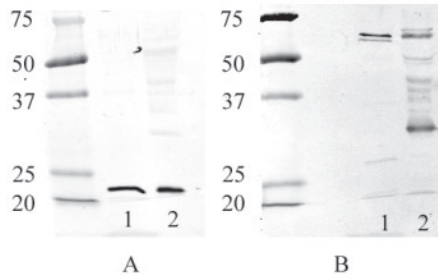
En conclusión, este trabajo demuestra que las células del cúmulus ovinas tienen la capacidad de sintetizar melatonina, y que su capacidad para proteger a estas células de daños en el DNA durante la maduración *in vitro* sería a través de receptores MT<sub>1</sub>.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

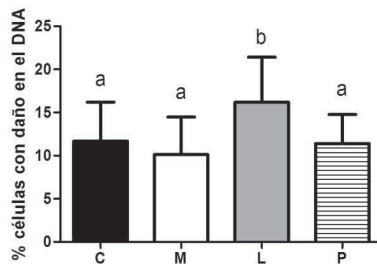
- Abecia, J. A., Forcada, F., Casao, A., Palacin, I. 2008. *Animal* 2: 399-404.
- Bubenik, G. 2002. *Dig. Dis. Sci.* 47: 2336-2348.
- Casao, A., Abecia, J. A., Cebrian-Perez, J. A., Muino-Blanco, T., Vazquez, M. I. Forcada, F. 2010. *Span. J. Agric. Res.* 8: 35-41.
- Casao, A., Pérez-Pé, R., Forcada, F., Abecia, A., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J. A. 2011. *ITEA* I: 359-361.
- Coelho, L. A., Peres, R., Amaral, F. G. Cipolla-Neto, J. 2013. *Reprod. Fertil. Dev.* 25: 247-247.
- El-Raey, M., Geshi, M., Somfai, T., Kaneda, M., Hirako, M., Abdel-Ghaffar, A. E., Sosa, G. A., El-Roos, M. E. A. A. Nagai, T. 2011b. *Mol. Reprod. Dev.* 78: 250-262.
- Espino, J., Ortiz, Á., Bejarano, I., Lozano, G. M., Monllor, F., García, J. F., Rodríguez, A. B. Pariente, J. A. 2011. *Fertil. Steril.* 95: 2290-2296.
- Forcada, F., Buffoni, A., Abecia, J. A., Asenjo, B., Palacin, I., Vazquez, M. I., Rodríguez-Castillo, J. C., Sanchez-Prieto, L. Casao, A. 2011. *J. Appl. Anim. Res.* 39: 412-417.
- Kang, J. T., Koo, O. J., Kwon, D. K., Park, H. J., Jang, G., Kang, S. K. Lee, B. C. 2008. *J. Pineal Res.* 46: 22-28.
- Santoro, R., Mori, F., Marani, M., Grasso, G., Cambria, A., Blandino, G., Muti, P. Strano, S. 2013. *Carcinogenesis*.
- Shimozuma, M., Tokuyama, R., Tatehara, S., Umeki, H., Ide, S., Mishima, K., Saito, I. Satomura, K. 2011. *Histochem. Cell. Biol.* 135: 389-396.
- Takada, L., Martins, A., Mingoti, G.

Z., Balieiro, J. C. C., Cipolla-Neto, J. Coelho, L. A. 2012. *Res. Vet. Sci.* 92: 124-127. • Tamura, H., Takasaki, A., Taketani, T., Tanabe, M., Kizuka, F., Lee, L., Tamura, I., Maekawa, R., Asada, H., Yamagata, Y. Sugino, N. 2013. *Endocr. J.* 60: 1-13.

**Agradecimientos:** Este proyecto está financiado con las ayudas DGA A-26-FSE y CICYT-FEDER AGL2010-18975.



**Figura 1.** Determinación de la presencia de las enzimas AANAT (A) e HIOMT (B) en extractos proteicos de células del cúmulo ovinas (1) obtenidas tras la maduración *in vitro* mediante western-blot con anticuerpos específicos. Extractos de glándula pineal ovina (2) actúan como control positivo.



**Figura 2.** Porcentaje de células del cúmulo ovinas que presentan daño en el DNA, evaluadas por la técnica TUNEL, tras la maduración *in vitro* con DMSO 1/1000 (grupo C), melatonina 1  $\mu$ M (grupo M), luzindole 1  $\mu$ M (grupo L) o 4-P-PDOT 10 nM (grupo P). Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM de n=4. Letras diferentes (a, b) indican diferencias de P < 0,05.

### MELATONIN SECRETION IN SHEEP CUMULUS CELLS AND ITS POSSIBLE EFFECT ON DNA DAMAGE DURING *IN VITRO* MATURATION

**ABSTRACT:** Melatonin is secreted by the pineal gland from serotonin, although recent works suggest that other tissues, including ovarian cumulus cells, can also secrete this hormone. In order to determine whether sheep cumulus cells can synthesize melatonin, we assessed the presence of serotonin N-acetyltransferase (AANAT) and hydroxyindol-O-methyltransferase (HIOMT) in protein extracts from ovine cumulus cells after *in vitro* maturation (IVM). Western blotting showed a 23 kDa band, compatible with AANAT and a 68 kDa, compatible with HIOMT. We also determined if the melatonin effect on inhibition of DNA damage of cumulus cells during IVM is mediated by the binding to its receptors. We used melatonin receptor antagonists (4P-PDOP and luzindole) and melatonin during IVM. DNA damage was assessed by the TUNEL technique. DNA damage of luzindole-mature cells was significantly higher when compared with the other groups (P<0.05), but there were no significant differences between melatonin or 4P-PDOP and control groups. In conclusion, this study shows that sheep cumulus cells have the ability to synthesize melatonin, and that the DNA damage protective effect during IVM might be exerted by binding to MT<sub>1</sub> receptors.

**Keywords:** AANAT, HIOMT, TUNEL, apoptosis, melatonin

## LA BIOPSIA EMBRIONARIA CON LÁSER PERMITE EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL OVINO SIN REDUCIR LA SUPERVIVENCIA A TÉRMINO

Cocero<sup>1</sup>, M.J., Sánchez<sup>2</sup>, P., Folch<sup>2</sup>, J., Lahoz<sup>2</sup>, B., Calvo<sup>2</sup>, J.H., Quintín<sup>3</sup>, F., Sevilla<sup>3</sup>, E. y Alabart<sup>2</sup>, J.L.

<sup>1</sup> INIA. Ctra. La Coruña km 7,500. 28040 Madrid.

<sup>2</sup> CITA de Aragón. Av. de Montañana 930. 50059 Zaragoza.

<sup>3</sup> Centro de Mejora Ganadera. Av. de Movera 580. 50194 Zaragoza.

[jalabart@aragon.es](mailto:jalabart@aragon.es)

### INTRODUCCIÓN

En el Programa de selección para mejora de la prolificidad desarrollado por UPRA-Grupo Pastores se utiliza la tecnología MOET (*Multiple Ovulation and Embryo Transfer*) para la producción de los machos a testar. Al igual que en otros programas MOET, la determinación de características del propio embrión antes de su transferencia, tales como el sexo (Dervishi et al., 2008), la resistencia a enfermedades (Dervishi et al., 2011) y el alelo ROA de alta prolificidad (*FecX<sup>rt</sup>*, Martínez-Royo et al., 2008) incrementan la eficacia del esquema. Sin embargo, los procedimientos de biopsia embrionaria comúnmente utilizados, junto a la necesidad de conservar el embrión fuera de la hembra durante la realización de los análisis genéticos, conllevan descensos de supervivencia incluso en bovino (Korhonen et al., 2012), la especie ganadera en que está más extendida la aplicación de estas técnicas. Los métodos de manipulación asociados al diagnóstico genético preimplantacional que más se han aplicado en rumiantes consisten en la apertura de un orificio en la zona pelúcida y posterior disección de una parte del embrión; el proceso suele realizarse en medio libre de proteínas y/o ausencia de iones Ca y Mg, y una vez finalizada la micromanipulación los embriones son mantenidos en cultivo o crio-conservados hasta la finalización del genotipado (ovino: Mara et al., 2004; caprino: Guignot et al., 2011). En nuestros trabajos previos, utilizando dichos procedimientos de disección mecánica en medio libre de iones Ca y Mg, observamos una reducción importante en la supervivencia embrionaria (-21,8%; Alabart et al., 2007), a pesar de que la determinación del sexo usando el gen *amelogenin* permite realizar la transferencia en 3 horas (Dervishi et al., 2008). En el presente trabajo se exponen los resultados obtenidos con la utilización de un objetivo provisto de un láser infrarrojo, con el fin de minimizar el estrés químico y mecánico y se estudia el efecto de la biopsia embrionaria sobre la supervivencia de embriones en fase de mórula compacta o blastocisto, de calidad 1 y 2 (clasificación IETS de 1998); es decir, que en el momento de su obtención presentaban o no células excluidas de la masa embrionaria principal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las donantes de embriones fueron ovejas Rasa aragonesa seleccionadas como madres de futuro semental del esquema. La superovulación se realizó con un total de 280 UI de FSH porcina (equivalentes a 160 mg NIH-FSH-P1; Folltropin-V, Minitub Ibérica SL, La Selva del Camp, Tarragona, España) administrados en 8 dosis decrecientes. Las receptoras se sincronizaron con esponjas de 30 mg de FGA durante 13 días y 400 UI eCG a la retirada de esponjas (Sincropart® 30 mg y Sincropart® PMSG 6000 UI, respectivamente; CEVA Animal Health S.A., Barcelona, España), que se realizó al mismo tiempo que en las donantes. Las donantes se inseminaron por vía laparoscópica 51 h después de la retirada (200 x 10<sup>6</sup> espermatozoides/cuerno) con dosis seminales de los machos de mayor valor genético, preparadas en el Centro de Mejora Ganadera (Fantova et al., 1998). La recuperación de embriones se realizó bajo anestesia general mediante una sonda Foley (Foleycath, WRP, Sepang, Malasia) 8 días tras retirar las esponjas (estadios de mórula compacta y blastocisto).

Se utilizaron 200 embriones calificados como viables, de los cuales se biopsiaron 114, aproximadamente la mitad de los embriones obtenidos de cada oveja (66 embriones sin y 48 con células excluidas); la otra mitad solo se mantuvieron en cultivo en las mismas condiciones que los embriones biopsiados (n=86; 60 sin y 26 con células excluidas). Los embriones que presentaron células excluidas se sujetaron mediante una micropipeta por el lado opuesto al punto en que se visualizó un mayor número de dichas células. Se abrió un orificio aplicando un pulso de láser infrarrojo (1480 nm) anexo a un objetivo 40x (300 mW / 2,4 ms; XYClone, Hamiltion-Thorne, Parallabs Ltd., St Albans, Reino Unido) dirigido al

punto de la zona pelúcida opuesto al punto de sujeción. Mediante otra micropipeta se succionaron con facilidad 1-10 células embrionarias. En los embriones sin células excluidas, se exteriorizó una porción de la masa celular fuera de la zona pelúcida mediante succión y se aplicaron uno o varios pulsos láser para su separación. En el caso de los blastocistos, la biopsia se realizó en la zona del trofoblasto. La manipulación se realizó en 100 µl de PBS Dulbecco (Sigma D1283) sin BSA. Finalizada la micromanipulación, los embriones se cultivaron en M199 (Sigma M4530) suplementado con 10% de FCS inactivado (Sigma F4135), durante 18-22 h en un incubador (5% CO<sub>2</sub>/aire, 38,5 °C). Sólo se transfirieron los embriones que se desarrollaron hasta blastocisto expandido o eclosionado (2 embriones/receptora). Las diferencias en supervivencia embrionaria y fertilidad de las receptoras debidas a los factores biopsia, presencia de células excluidas e interacción entre ambos factores se analizaron mediante ANOVA para variables categóricas mediante el procedimiento CATMOD del paquete estadístico SAS (SAS, 2011).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó un efecto significativo de la biopsia o de la presencia de células excluidas sobre la supervivencia embrionaria, ni interacción entre ambos factores (Tabla 1). Así, considerando el total de embriones procesados, la biopsia reduciría la supervivencia embrionaria en embriones sin células excluidas sólo -9,2 puntos porcentuales, mientras que la incrementaría ligeramente en embriones con células excluidas (+0,7). Considerando sólo los embriones que se desarrollaron durante el cultivo, la supervivencia embrionaria se reduciría escasamente en ambos tipos de embriones (-4,3 y -1,9, respectivamente). Aunque tampoco se alcanzó la significación estadística, la supervivencia embrionaria fue inferior en los embriones con células excluidas, tanto en los no biopsiados como en los biopsiados, considerada respecto al total de embriones procesados (-17,9 y -8,0), o respecto a los embriones transferidos (-13,2 y -10,8). Es decir, la supervivencia embrionaria resultó más afectada por la calidad que presenta el embrión tras su obtención que por la realización de la biopsia; de hecho, la presencia de células excluidas es el factor que presentó una tendencia a la significación ( $P < 0,08$ ). Además, el peor resultado se observó en el grupo de embriones que presentaban células excluidas pero que no se biopsiaron (53,8%). La fertilidad obtenida en las receptoras de embriones biopsiados fue muy similar a la del grupo control (78,4 vs. 80,0%;  $P < 0,91$ ), lo que demuestra que los procedimientos de micromanipulación aplicados en nuestro trabajo permiten el diagnóstico genético de mórulas compactas y blastocistos ovinos sin afectar el rendimiento del programa MOET.

La eficacia global, expresada en número de corderos nacidos del total de embriones biopsiados (62,5%), ha sido superior a la obtenida en anteriores trabajos realizados en ovino, tanto por otros grupos (38,1%; Mara et al., 2004) como en nuestros resultados previos (34,0%; Alabart et al 2007), en que se utilizaron medios mecánicos para la extracción de material embrionario. Esta mejora lograda con la utilización del láser, escasamente extendida en especies ganaderas, también está siendo constatada en humana para mejorar la eficacia de las técnicas de reproducción asistida (Geber et al., 2011), desde que fue demostrada su validez e inocuidad (Hastshorn et al., 2005).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alabart, J.L., Dervishi, E., Cocero, M.J., Sánchez, P., Echegoyen, E., Martínez-Royo, A., Calvo, J.H. & Folch, J. 2007. 23<sup>rd</sup> Scientific Meeting of the E.E.T.A. Alghero, Sardinia, 7<sup>th</sup>-8<sup>th</sup> September, p. 122.
- Dervishi, E., Martínez-Royo, A., Sánchez, P., Alabart, J.L., Cocero, M.J., Folch, J. & Calvo, J.H. 2008. *Theriogenology* 70: 241-257.
- Dervishi, E., Sánchez, P., Alabart, J.L., Cocero, M.J., Folch, J. & Calvo, J.H. 2011. *Reprod Dom Anim.* 46: 999-1003.
- Fantova, E., Ciudad, M.A., Sevilla, E., Quintín, F.J., Folch, J. & Alabart, J.L. 1998. *Producción Ovina y Caprina XXIII*: 541-545.
- Geber, S., Bossi, R., Lisboa, C.B., Valle, M. & Sampaio, M. 2011. *Reprod Biol Endocrinol.* 9: 58. doi:10.1186/1477-7827-9-58.
- Guignot, F., Perreau, C., Cavarroc, C., Touze, J.L., Pougard, J.L., DuPont, F., Beckers, J.F., Rémy, B., Babilliot, J.M., Bed'Hom, B., Lamorinière, J.M., Mermillod, P. & Baril G. 2011. *Reprod Dom Anim.* 46: 656-663.
- Hartshorn, C., Anshelevich, A., Lawrence, B.S. & Wangh, J. 2005. *Fertility and Sterility* 84(5): 1547-1550.
- Korhonen, K., Julkunen, H., Kananenb, K., Bredbacka, P., Tiirikka, T., Rätty, M., Vartia, K., Kaimio, I., Kontinen, A., Halmekytö, M., Vilkkilä, J., Peippo, J. & Lindeberg, H. 2012. *Theriogenology* 77: 201-205.
- Mara, L., Pilich, I.



S., Sanna, A., Accardo, C., Chessa, B., Chessa, F., Dattena, M., Bomboi, G. & Cappai, P. 2004. *Molec Reprod Develop.* 64: 35-42. • Martínez-Royo, A., Jurado, J.J., Smulders, J.P., Martí, J.I., Alabart, J.L., Roche, A., Fantova, E., Bodin, L., Mulsant, P., Serrano, M., Folch, J. & Calvo, J.H. 2008. *Anim Genet.* 39(3): 294-297. • SAS Institute Inc. 2011. SAS OnlineDoc® 9.3. Cary, NC: SAS Institute Inc. EE.UU.

**Agradecimientos:** Financiado por Convenio CITA/Oviaragón SCL e INIA (RZP 20100002).

**Tabla 1.** Supervivencia embrionaria y fertilidad de las receptoras de embriones biopsiados o no biopsiados, que tenían células excluidas o no en el momento de su obtención.

	Corderos nacidos / Embriones totales	Corderos nacidos / Embriones transferidos	Fertilidad de las receptoras
Sin CEX			
No biopsiados	71,7 (43/60)	74,1 (43/58)	82,8 (24/29)
Biopsiados	62,5 (30/48)	69,8 (30/43)	81,0 (17/21)
Con CEX			
No biopsiados	53,8 (14/26)	60,9 (14/23)	72,7 (8/11)
Biopsiados	54,5 (36/66)	59,0 (36/61)	76,7 (23/30)
Significación (P <)			
Biopsia	0,56	0,68	0,91
CEX	0,08	0,11	0,45
Biopsia x CEX	0,50	0,87	0,76

CEX: Células excluidas de la compactación.

### LASER-ASSISTED EMBRYO BIOPSY ALLOWS PREIMPLANTATIONAL GENETIC DIAGNOSIS WITHOUT DECREASING EMBRYO SURVIVAL IN SHEEP

**ABSTRACT:** The effect of laser-assisted embryo biopsy on embryo survival at term was studied in ovine embryos with or without extruded cells at recovery. Two hundred viable compact morulas and blastocysts were recovered after superovulation of Rasa aragonesa ewes with pFSH. About half of embryos from each donor were biopsied (n=114; 66 with and 48 without extruded cells) while the rest were incubated at 38.5 °C in TCM199 and 5% CO<sub>2</sub>/air (n=86; 60 with and 26 without extruded cells) during 18-22 h before transfer. Biopsy was performed in Dulbecco's PBS, using an IR laser (1480 nm; 300 mW; 2.4 ms; XYClone, Hamilthon-Thorne). One to ten cells were recovered. After biopsy, embryos were incubated in the same conditions as non-biopsied embryos. The embryos that reached the expanded or hatched blastocyst stages after culture were transferred in pairs to recipient ewes. The embryo survival rate of the transferred embryos was similar in biopsied and intact embryos, irrespective of having (59.0%, 36/61 vs. 60.9%, 14/23; NS) or not (69.8%, 30/43 vs. 74.1% 43/58; NS) extruded cells. The effect of biopsy on the survival rate considering the total number of processed embryos was also non-significant. These results highlight the usefulness of laser in embryo biopsy.

**Keywords:** PGD, micromanipulation, extruded cell, blastomer.

## SITUACIÓN ACTUAL DEL BANCO DE RECURSOS GENÉTICOS DE LA RAZA BOVINA SERRANA DE TERUEL

Quintín<sup>1</sup>, F.J., Picot<sup>1</sup>, A., Hernández<sup>1</sup>, M., Sanz<sup>2</sup>, A., Pastor<sup>1</sup>, F., Sevilla<sup>1</sup>, E., Alabart<sup>2</sup>, J.L. y Vijil, E.

<sup>1</sup> Centro de Mejora Ganadera, Avda. de Movera 580, 50194 Zaragoza.

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria, Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza.

[fquintin@aragon.es](mailto:fquintin@aragon.es)

### INTRODUCCIÓN

La raza Serrana de Teruel, procedente del *Bos Taurus Primigenius*, es de perfil recto o subcónico, eumétrica y longilínea, de capa acastañada a negra con orla alrededor del hocico (bociclara) e incluso chorreada. Animales poco precoces, longevos y de gran rusticidad se adaptan a medios difíciles de dura climatología y escasos recursos pastables, principalmente en la Sierra de Gúdar-Javalambre (Teruel), aunque originalmente se localizaba también en el Maestrazgo de Teruel y Castellón. Aparte su aptitud para colaborar en las tareas agrícolas, se ha venido utilizando como productor de piel y carne, toda vez que las hembras son capaces de producir un ternero en un intervalo de poco más de un año sin problema alguno al parto (Vijil et al., 2009a).

A nivel demográfico, dada su mediocre morfología, baja productividad y la despoblación asociada en las zonas rurales en las que se utilizó como animal de trabajo, se situó en la categoría de estado crítico según la escala FAO lo que determinó que a partir del año 2000 se pusieran en marcha una serie de actuaciones que implicaron tanto a la asociación de ganaderos (ASERNA) como a instituciones de diverso tenor: Diputación Provincial de Teruel, Gobierno de Aragón y Universidad de Zaragoza, encaminadas a recuperar la raza (Sanz et al., 2013).

Bajo los auspicios de dos Proyectos INIA (RZ 2006-00003-C02-01, PET2007-05-C03) se desarrollaron las distintas etapas dirigidas a la conservación de recursos zoogenéticos descritas por Luque y Cardellino (2007):

1. *Descripción general de la población*, analizando su estructura poblacional, distribución geográfica y orígenes genéticos (Picot et al., 2006; Vijil et al., 2009a; Vijil et al., 2009b)
2. *Caracterización racial*: culminaba con el reconocimiento oficial por parte del Comité de Razas de Ganado de España con fecha 10 de mayo de 2007 del efectivo existente como raza Serrana de Teruel e incluyéndola en el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España como "autóctona en peligro de extinción" así como la aprobación del Libro Genealógico de la raza por parte del Gobierno de Aragón (Decreto 137/2011 de 14 de junio).
3. *Desarrollo de programas de conservación*, objeto de la presente comunicación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En el desarrollo de las actuaciones para la conservación de recursos genéticos se han mantenido animales (conservación *in vivo*) tanto en localizaciones *in situ* (ganaderías pertenecientes a ASERNA) como *ex situ* (núcleo del Centro de Mejora Ganadera de Movera, Zaragoza) a la vez que se ha creado el Banco de Germoplasma mediante la crioconservación de semen y embriones (conservación *in vitro* y *ex situ*).

La formación del banco de semen de la raza Serrana de Teruel se ajusta a los imperativos legales exigidos a través de los Reales Decretos 2256/1994 de 25 de noviembre, 1550/2004 de 25 de junio y 841/2011 de 17 de junio. Tras la recogida del eyaculado en 6 animales de edades comprendidas entre 18 y 24 meses mediante vagina artificial (4 toros) o electroeyaculación (2 toros) se procedió, después de la evaluación seminal (determinación de volumen, motilidad masal, concentración), a la dilución del semen a una concentración de 30 millones de espermatozoides por dosis seminal de 0,25 ml con diluyente comercial (Trilady<sup>®</sup> o Andromed<sup>®</sup>, Minitüb Ibérica SL, La Selva del Camp, Tarragona, España) para posteriormente proceder a una refrigeración/estabilización a 5°C durante cuatro horas; pasada dicha etapa, se congelaron las dosis seminales en vapores de nitrógeno líquido y previo a la incorporación en el banco de germoplasma se realizó una contrastación post-descongelación evaluando el porcentaje de motilidad individual de manera subjetiva entre porta y cubre (mínimo 40%). Estadísticamente se compararon el número de dosis obtenidas

con electroeyaculación o vagina artificial mediante una prueba t (dos colas y varianza diferente) (Microsoft Office Excel 2003).

Anterior a la formación del banco de embriones y dadas las características y el estado en el que se encontraba inicialmente la raza Serrana de Teruel se determinó previamente la actividad ovárica puberal y post-parto con el fin de proceder a una más correcta selección de las hembras potencialmente donantes en la obtención de embriones. Para ello, se tomaron 2 muestras de sangre a la semana de 19 novillas a partir de los 10 meses de edad y 14 vacas a partir de la segunda semana post-parto, todas ellas localizadas en el núcleo *ex situ* del Centro de Mejora Ganadera, determinando los niveles de P4 mediante radioinmunoanálisis (kit comercial Coat-a-Count Progesterona, DPC®, EE.UU.).

Tras el estudio preliminar, la formación del banco de embriones se realizó sobre un total de 12 hembras sobresalientes morfológicamente y ascendencia racial documentada y 5 machos; se realizó un protocolo de superovulación, inseminación artificial, colecta, valoración y congelación de embriones (Fuentes et al., 2012). Posteriormente, para evaluar la viabilidad post-congelación y aumentar el efectivo vivo de la población se realizó una transferencia de 10 embriones sobre un lote de 10 novillas de la raza Parda de Montaña, controladas cárnica, reproductiva y sanitariamente, perteneciente al rebaño experimental del CITA de Aragón.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características seminales evaluadas (tabla 1) no difirieron de aquellas descritas por Pastor et al. (1999) para la raza Pirenaica bajo las mismas condiciones de manejo. Se observan diferencias muy significativas en el rendimiento de dosis/eyaculado en las extracciones mediante electroeyaculación ( $103 \pm 13$  dosis) frente al obtenido con vagina artificial ( $198 \pm 17$  dosis) ( $p < 0,01$ ) debido a que se obtienen eyaculados con un menor volumen y una menor concentración espermática ( $p < 0,05$ ).

Actualmente el banco de semen está formado por un total de 7.765 dosis procedentes de 9 sementales, 6 pertenecientes al mencionado núcleo *ex situ* de Movera (6.365 dosis) y 3 integrantes de las ganaderías de la asociación (1.400 dosis) (tabla 2).

Tras el estudio preliminar sobre la pubertad y actividad ovárica (inicio a los  $14,29 \pm 1,81$  meses y reinicio a los  $53,88 \pm 15,42$  días post-parto), se obtuvieron 171 embriones de los que fueron transferibles y/o congelables un total de 84 (75 de calidad 1 y 9 de calidad 2) (tabla 3).

La tasa de fertilidad obtenida tras las transferencias de embriones congelados llevadas a cabo fue moderadamente buena (40%) teniendo en cuenta que se utilizaron protocolos de transferencia usados normalmente en razas más seleccionadas.

Las existencias del Banco de Recursos Genéticos de la raza Serrana de Teruel pueden servir de partida para la conservación y posible expansión de la raza; no obstante quedan lejos de los niveles dictados por la FAO (1998) en la gestión de pequeñas poblaciones en peligro: 538 dosis seminales por macho y con un mínimo de 25 toros donantes y 206 embriones obtenidos a partir de 25 machos y 25 hembras donantes, por lo que sería conveniente continuar estimulando la formación del Banco de Recursos Genéticos de esta raza.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FAO (1998). Segundo documento de líneas directrices para la elaboración de planes nacionales de gestión de los recursos genéticos de animales de granja. Gestión de pequeñas poblaciones en peligro • Fuentes, S., Vijil, E., Picot, A., Quintín, F.J.; Sanz, A. (2012) XVII Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina: 252-253 Santander • Luque, M.; Cardellino, R. (2007) I Congreso Nacional de Zootecnia: 38-46, Madrid • Pastor, F.; Quintín, F.J.; Ruiz, M.; Sevilla, E.; Vijil, E. (1999) II Congreso Ibérico de Reproducción Animal: 601-603, Lugo • Picot, A., Hernández, M., Pastor, F., Sevilla, E., Quintín, F.J.; Vijil, E. (2006) FEAGAS nº 30: 27-32 • Sanz A, Albertí P, Blasco I, Ripoll G, Bernués A, Zaragoza P, Rodellar C, Sanz A, Martín-Burriel I, Olaizola A, Álvarez-Rodríguez J, Fuentes S, Picot A, Congost S, Quintín FJ, Abril F, Vijil E, 2013. Animal Genetics Resources 52: 1-9 • Vijil, E., Picot, A., Hernández, M., Pastor, F., Quintín, F.J., Sevilla, E., Abril, F.; Sanz, A. (2009a) Archivos de Zootecnia vol. 58 supl 1: 509-512 • Vijil, E., Picot, A., Hernández, M., Pastor, F.,

Quintín, F.J., Sevilla, E., Abril, F.; Sanz, A. (2009b) Archivos de Zootecnia vol. 58 supl 1: 517-520.

**Agradecimientos:** Proyectos INIA RZ2006-00003-C02-01 y PET2007-05-C03, financiados por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, marco del Subprograma Nacional de “Conservación de recursos genéticos de interés agroalimentario” del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I) y fondos FEDER.

**Tabla 1.** Rendimiento seminal medio en toros de raza Serrana de Teruel

Toro	edad (m)	n	V (cc)	Mm	C (x10 <sup>6</sup> /cc)	n <sup>o</sup> dosis	dosis/eyaculado	método
1	18	2	5,5	++	770	275	137	E
2	18	7	5	++/+++	1223	1455	208	VA
3	24	4	4	++/+++	690	340	85	E
4	24	8	6,5	++	928	1615	202	VA
5	18	9	5,4	++/+++	798	1310	145	VA
6	24	5	6,6	++/+++	1260	1370	274	VA

n: n<sup>o</sup> de eyaculados; V: volumen; Mm: motilidad masal; C: concentración.  
E: electroeyaculación; VA: vagina artificial

**Tabla 2.** Banco de semen de la raza Serrana de Teruel ubicado en el Centro de Mejora Ganadera de Movera (Zaragoza)

Procedencia del seminal	N <sup>o</sup> de sementales	N <sup>o</sup> dosis
<i>in situ</i> : ganaderías ASERNA	3	1.400
<i>ex situ</i> : núcleo CMG-Movera	6	6.365

**Tabla 3.** Raza Serrana de Teruel: banco de embriones

N <sup>o</sup> total de embriones obtenidos	171
N <sup>o</sup> embriones transferibles y/o congelables	84
n <sup>o</sup> embriones de calidad 1	75
n <sup>o</sup> embriones de calidad 2	9
N <sup>o</sup> embriones en stock	74

### CURRENT SITUATION OF THE BANK OF GENETIC RESOURCES OF THE BOVINE SERRANA DE TERUEL BREED

**ABSTRACT:** The conservation of animal zoogenetic resources following the general description and their racial characterization establishes conservation programs both *in situ* and *ex situ*. This work allows originating a germoplasm bank cryopreservation of different genetic materials. Reproductive techniques applied in CMG (Livestock Improvement Center) for the creation of genetics resource bank of cattle breed “Serrana de Teruel”. This breed is autochthonous from Aragon region and its current situation is endangered. To preserve this valuable breed we have included freezing semen and embryo freezing transfer. The current situation of animal genetic resources bank of this breed allows to the formation of the bank to levels dictated by FAO.

**Keywords:** genetic resources, Serrana de Teruel breed, semen, embryos.

## INMUNOLocalIZACIÓN MEDIANTE MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA PROTEÍNA DISULFURO ISOMERASA A1 (PDIA1) EN OVOCITOS Y ZIGOTOS PORCINOS

Romar<sup>1</sup>, R., Saavedra<sup>1</sup>, M.D., Coy<sup>1</sup>, P. y Avilés<sup>2</sup>, M.

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria

<sup>2</sup>Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina  
30071 Campus Espinardo, "Campus Mare Nostrum". IMIB (Instituto Murciano de Investigación Biomédica). Universidad de Murcia. Murcia. España. [rromar@um.es](mailto:rromar@um.es)

### INTRODUCCIÓN

En mamíferos, las proteínas disulfuro isomerases (PDI) son una amplia familia de proteínas residentes en el retículo endoplásmico (RE), donde se encargan del procesado y maduración de las proteínas secretoras, catalizando la formación, ruptura y reorganización de puentes disulfuro gracias a sus dominios tiorredoxina (Hatahet y Ruddock, 2009). Las PDI han sido asociadas con muchas funciones biológicas en prácticamente cualquier compartimento celular aunque se desconoce cómo "escapan" del RE para realizar estas funciones (Turano et al., 2002). Es por ello que algunos autores consideran las PDI no sólo un marcador de RE sino un marcador de la liberación de contenidos intracelulares (Reinhardt et al., 2008).

En ovocitos, el bloqueo de la polispermia tras la fecundación está mediado por la reacción cortical (liberación del contenido de los gránulos corticales) y el endurecimiento de la zona pelúcida (Coy et al., 2008). Precisamente, la formación de puentes disulfuro, una de las principales funciones de las PDI, se ha sugerido como uno de los mecanismos de endurecimiento de la zona (Iwamoto et al., 1999). Aunque hasta la fecha no se ha descrito la presencia de proteínas PDI en el contenido de los gránulos corticales, sí se ha sido sugerido que tras la fecundación se liberan vesículas secretoras distintas a los gránulos, aunque se desconoce su contenido (Ducibella et al., 1988; Tutuncu et al., 2004). Nuestra hipótesis de trabajo es que tras la fecundación podrían liberarse vesículas secretoras conteniendo PDI, que participarían en el bloqueo de la polispermia, tal y como sugieren resultados previos de nuestro laboratorio con otras proteínas chaperonas (Romar et al., 2013).

El objetivo de este trabajo ha sido comprobar la presencia y localización de la proteína PDIA1 en ovocitos porcinos madurados *in vitro* y en cigotos tras la fecundación, mediante el uso de un anticuerpo específico y su visualización mediante microscopía confocal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los ovocitos se obtuvieron de cerdas prepúberes (Landrace x Large White) mediante la aspiración de los folículos entre 3-6 mm de diámetro y se transfirieron a medio de maduración NCSU-37 siguiendo los protocolos de nuestro laboratorio (Coy et al., 2008). Una vez maduros (42-44 h), se denudaron, se lavaron en medio TALP y se transfirieron a pocillos conteniendo 250 µl de medio TALP para ser inseminados (50 ovocitos/pocillo). Los espermatozoides, procedentes de la fracción rica del eyaculado de verracos de fertilidad probada, se diluyeron 1:20 v/v en BTS (Pursel y Johnson, 1975) y se centrifugaron (700g, 30 min) en una gradiente 45-90% v/v de Percoll (Farmacia, Uppsala, Suecia) (Coy et al., 2008). El pellet obtenido se diluyó en medio TALP, se centrifugó de nuevo (100g, 10 min) y el sedimento se diluyó en medio TALP para añadirse a los pocillos conteniendo los ovocitos, a una concentración final de 10<sup>5</sup> espermatozoides/ml. Los gametos se co-cultivaron 18-20 h.

Para el estudio mediante microscopía confocal, las muestras (ovocitos madurados *in vitro* y cigotos) se fijaron, se permeabilizaron y se incubaron en los correspondientes anticuerpos y con Hoechst 33342 (#B-2261; Sigma-Aldrich, Madrid, España) para teñir el ADN. Además, los cigotos se incubaron con lectina PNA (*Arachis hypogaea*, peanut agglutinin) para confirmar la exocitosis de los gránulos corticales. El PBS utilizado para todo el proceso fue PBS sin Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup> suplementado con 1% (p/v) de BSA (abreviadamente PBS) y tras cada

paso siempre se realizaron tres lavados en este medio. Las muestras se fijaron 30 min en paraformaldehído al 3,7% (p/v), se permeabilizaron 10 min con Tritón X-100 al 0,1% (v/v) y se incubaron 1 h en cámara húmeda y a temperatura ambiente con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-PDIA1 (#ADI-SPA-891; Enzo Life Sciences, Lausana, Suiza) diluido 1:1000 (v/v). Los ovocitos se incubaron con un anticuerpo secundario anti-IgG de ratón conjugado a isotiocianato de fluoresceína (FITC) (#12-506; Millipore, California, EEUU) mientras que en el caso de los cigotos el secundario iba conjugado a isotiocianato de tetrametil-rodamina (TRITC) (#ab6786; Abcam, Cambridge, Reino Unido), ambos anticuerpos diluidos 1:400 (v/v) y durante 1 h en cámara húmeda a temperatura ambiente. Seguidamente los cigotos se incubaron 30 min con 10 ug/ml de lectina PNA conjugada a FITC (#L-7381, Sigma-Aldrich, Madrid, España). Finalmente, ovocitos y cigotos se incubaron 30 min con 1 ug/ml de Hoechst y se montaron en portaobjetos. Las muestras se conservaron en oscuridad a 4°C hasta su visualización en un microscopio láser confocal TCS NT (Leica) bajo un objetivo de aceite 63X. Se capturaron imágenes de las regiones del ecuador y el cortex. La maduración nuclear y la penetración espermática fue confirmada con el Hoechst. Se visualizaron 10 ovocitos y 10 cigotos de dos replicados diferentes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

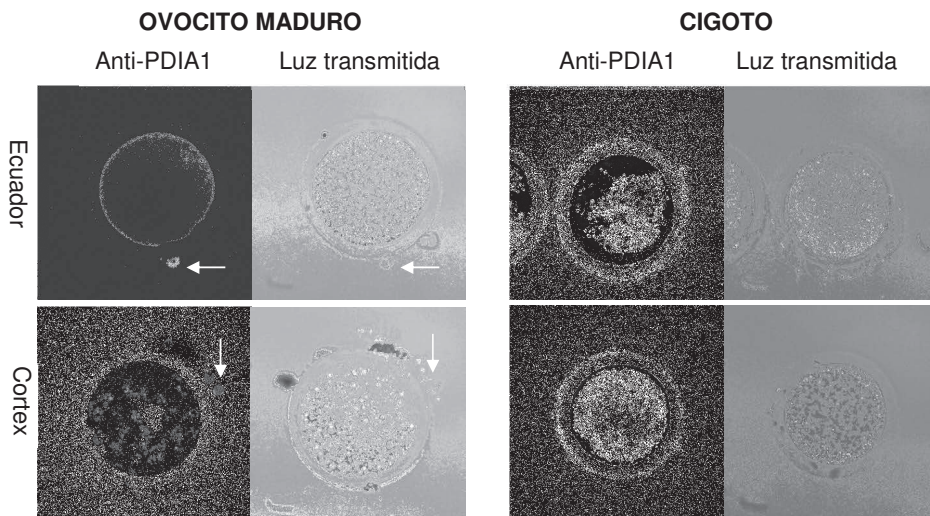
Los resultados mostraron un marcaje positivo para la proteína PDIA1 en los ovocitos madurados *in vitro*, apareciendo en todos los ovocitos maduros (metafase II) un punteado fino y homogéneo en la periferia celular, inmediatamente por debajo del oolema, mientras que en el resto del ooplasma no se observó marcaje para esta proteína. En la región del cortex ovocitario se observó la PDIA1 a modo de punteado fino combinado con agregados. Las células del *cumulus oophorus* también mostraron marcaje positivo para PDIA1 distribuido uniformemente por todo el citoplasma. Aunque no existen estudios sobre PDIA1 en ovocitos de otras especies, el patrón de distribución observado en ovocitos maduros no coincide completamente con el descrito para otras PDI. Recientemente Ohashi et al., (2013) han situado a la PDIA2 no sólo en la periferia de ovocitos porcinos sino también distribuida por todo el citoplasma, al igual que ocurre en ovocitos humanos para otras PDI (Mondéjar et al., 2007). Las diferencias entre distintas especies pueden estar relacionadas con la distinta morfología del RE y, en ovocitos porcinos, con la identificación de distintos miembros de la familia A de las PDI (PDIA1 en este estudio y PDIA2 en el de Ohashi et al., 2013). Respecto a los cigotos, no se observó marcaje para PDIA1 en ninguno de ellos. La exocitosis de los gránulos corticales se produjo en todos los cigotos, como demostró la ausencia de tinción con lectina PNA-FITC.

Nuestros resultados sugieren que PDIA1 se localiza en la periferia de los ovocitos en metafase II y que desaparece tras el proceso de fecundación. Esta liberación de proteínas con actividad chaperona, formadora y reductora de puentes disulfuro podría tener implicaciones en la interacción entre gametos que requiere de estudios futuros.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Coy, P., Cánovas, S., Mondéjar, I., Saavedra, M.D., Romar, R., Grullón, L., Matás, C. & Avilés, M. 2008. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 105: 15809-15814.
- Ducibella, T., Rangarajan, S., & Anderson, E. 1988. Dev Biol 130: 789-792.
- Hatahet, F., & Ruddok, LW. 2009. Antioxidants and Redox Signaling 11: 2807-2850.
- Iwamoto, K., Ikeda, K., Yonezawa, N., Noguchi, S., Kudo, K., Hamano, S., Kuwayama, M. & Nakano, M. 1999. J Reprod Fertil 117: 395-402.
- Mondéjar, I., Jiménez-Movilla, M., Castells-Mora, M.T., Fernández-Colom, P., Romeu, A., Ballesta-Germán, J., & Avilés, M. 2007. Revista ASEBIR 12: 164-174.
- Ohashi, Y., Hoshino, K., Tanemura, K. & Sato, E. 2013. Anim Sci J 84: 15–22.
- Pursel, V.G. & Jonson, L.A. 1975. J. Anim. Sci. 40: 99–102.
- Reinhardt, C., von Bru, M.L., Manukyan, D., Grahl, L.L., Altmann, B., Dlugai, S., Hess, S., Konrad, I., Orschiedt, L., Mackman, N., Ruddock, L., Massberg, S., & Englemann B. 2008. J Clin Invest 118: 1110–1122.
- Romar, R., Soriano-Úbeda, C., Saavedra, M.D., Gadea, J., Avilés, M., & Coy, P. 2013. Reprod Fertil Dev 25: 261 (abst.).
- Tutuncu, L., Stein, P., Ord, T.S., Jorgez, C.J., & Williams, C.J. 2004. Dev Biol 270: 246-260.
- Turano, C., Coppari, S., Altieri, F., & Ferraro. 2002. J Cell Physiol 193: 154–163.

**Agradecimientos:** trabajo financiado por el MEC-FEDER (AGL2009-12512-C02-01) y el MINECO (AGL2012-40180-C03-01-02).



**Figura 1.** Marcaje de la proteína PDIA1 en ovocitos (panel izquierda) y cigotos porcinos (panel derecha) a nivel del ecuador y cortex. Las imágenes de fluorescencia (anti-PDIA1) han sido transformadas a escala de grises para una mejor visualización. Las flechas señalan las células del cumulus oophorus.

#### IMMUNOLocalIZATION BY CONFOCAL MICROSCOPY OF PROTEIN DISULFIDE-ISOMERASE A1 (PDIA1) IN PIG OOCYTES AND ZYGOTES

**ABSTRACT:** Protein disulfide isomerase (PDI) protein compresses a numerous family of proteins residing at the endoplasmic reticulum where they catalyze disulfide bond formation, breakage, and rearrangement in all nonnative protein and peptide substrates. They are also involved in a wide range of other biological functions, although it is unclear for many of these reactions how they escape the ER. It has been indicated that PDI is also a marker for the release of intracellular contents. In oocytes, disulfide bond formation is in part responsible of the zona pellucida hardening and thus of preventing polyspermy. In case PDI were released from oocytes at fertilization time they might have a role in gamete interaction so, we studied PDIA1 distribution in pig oocytes and zygotes. After *in vitro* maturation and fertilization, oocytes and zygotes were fixed, permeabilized and stained with a primary anti-PDIA1 antibody followed by a secondary antibody. Visualization of oocytes under confocal microscopy revealed that PDIA1 protein is located at the periphery, under oolema level, with a uniform punctuate pattern. At cortex level aggregates of protein were also observed. Interestingly the protein staining disappeared in zygotes suggesting that PDIA1 is released at fertilization time. Its likely role in fertilization needs further study.

**Keywords:** PDIA1 protein, oocyte, zygote, porcine

## EFFECTO DEL FLUIDO OVIDUCTAL PORCINO PRE- Y POST-OVULATORIO SOBRE LA RESISTENCIA ENZIMÁTICA DE LA ZONA PELÚCIDA Y LA FECUNDACIÓN *IN VITRO*

Ballester<sup>1,2</sup>, L., Martínez-Soto<sup>3</sup>, J.C., Matás<sup>1,2</sup>, C., Romar<sup>1,2</sup>, R. y Coy<sup>1,2</sup>, P.

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Excelencia Internacional *Mare Nostrum*. <sup>2</sup>Instituto Murciano de Investigación Biomédica (IMIB). Murcia 30100, <sup>3</sup>IVI-Murcia, Murcia 30007. [pcoy@um.es](mailto:pcoy@um.es)

### INTRODUCCIÓN

El oviducto es el ambiente natural donde tienen lugar el transporte y la maduración final de los gametos, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano. La producción de fluido oviductal se encuentra bajo control hormonal y se han observado diferencias entre las distintas fases del ciclo estral. Las primeras referencias publicadas en la especie porcina indicaron valores de estrógenos y progesterona en plasma y fluido folicular de 60-70 pg/ml y 1-3 ng/ml, respectivamente, en fase folicular y de 10-30 pg/ml y 48 ng/ml en fase luteal (Henricks *et al.*, 1972). Desgraciadamente no existen datos publicados de estas hormonas en el fluido oviductal.

Estudios previos han demostrado que la zona pelúcida (ZP) en el oviducto experimenta un cambio en su resistencia a la digestión enzimática que a su vez provoca un incremento en los niveles de monospermia en las especies porcina y bovina. Además, se ha demostrado que uno de los factores implicados en dicho cambio es la glicoproteína específica del oviducto (OVGP1, Coy *et al.*, 2008a), que es secretada por las células epiteliales oviductales y es dependiente de estrógenos (Buhi *et al.*, 2000). El fluido oviductal porcino recogido alrededor del momento de la ovulación aumenta la resistencia de la ZP a la digestión enzimática (Coy *et al.*, 2008a) pero se desconoce si el de la fase pre-ovulatoria es más o menos efectivo que el de la fase post-ovulatoria sobre esta modificación de la ZP. A raíz de estas consideraciones, los objetivos del presente estudio fueron: 1) determinar los niveles de estrógenos y progesterona en los fluidos oviductales pre- y post-ovulatorios de cerdas adultas; 2) establecer el grado de resistencia a la digestión enzimática de la ZP de ovocitos porcinos incubados en los dos tipos de fluido oviductal y 3) comprobar si los ovocitos incubados en cada uno de los fluidos presentan diferencias en su resistencia a la penetración espermática tras la fecundación *in vitro*.

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Obtención del fluido oviductal porcino (FOP) y medición de las concentraciones de estrógenos y progesterona:* Los oviductos porcinos procedentes de matadero se clasificaron tal y como describieron Carrasco *et al.*, (2008) y solo se utilizaron los oviductos en las fases pre-ovulatoria (folículos de 9-11 mm de diámetro y cuerpos *albicans* del ciclo previo) o post-ovulatoria (cuerpos hemorrágicos recientes, pequeños folículos en crecimiento y presencia o ausencia de cuerpos *albicans*). Los fluidos, obtenidos por aspiración, se centrifugaron (7000 g, 10 min a 4°C) y se almacenaron a -80°C. Para la medición hormonal se obtuvo un volumen total de 400 µl de fluido de cada una de las fases y fueron necesarios 30 oviductos. Los valores hormonales se determinaron mediante inmunoensayo de micropartículas por quimioluminiscencia (ARCHITECT, Abbot, Illinois, EEUU).

*Obtención de los ovocitos porcinos y maduración in vitro (MIV):* El medio de maduración fue NCSU-37 (Petters y Wells, 1993). Los complejos cúmulo-ovocito (COCs) se recogieron a partir de folículos antrales (3-6 mm de diámetro). La suplementación del medio y el proceso de MIV se realizó tal y como se describió previamente (Coy *et al.*, 2008b).



*Tratamiento de los ovocitos en FOP y evaluación de la solubilidad de la ZP:* Los ovocitos se decumularon, se incubaron en cada tipo de FOP (un ovocito por  $\mu\text{l}$  de fluido) y se cubrieron con aceite mineral. Las condiciones de incubación fueron 30 min a  $38,5^{\circ}\text{C}$  y 5% de  $\text{CO}_2$ . El grupo control se incubó en PBS de Dulbecco (DPBS) en las mismas condiciones que los experimentales. Tras la incubación, se lavaron rápidamente y se transfirieron a  $50 \mu\text{l}$  de solución de pronasa 0,5% (p/v) en DPBS (a  $38,5^{\circ}\text{C}$ ) para valorar los tiempos de digestión de las ZPs. El tiempo de disolución de la ZP de cada ovocito se registró como el tiempo desde la colocación del ovocito en pronasa hasta que la zona dejó de ser visible a  $200\times$  bajo un microscopio invertido. Se digirió la ZP de 10 ovocitos por cada grupo.

*Fecundación in vitro (FIV):* Grupos de 50 ovocitos decumulados se lavaron en medio TALP, se incubaron 30 min en  $50 \mu\text{l}$  de FOP pre- y post-ovulatorio, se lavaron de nuevo y se transfirieron a  $250 \mu\text{l}$  de medio TALP suplementado con un 1% de los FOP anteriores. El tratamiento de los espermatozoides se realizó como se describió previamente (Coy *et al.*, 2008b). La concentración espermática fue de 50.000 espermatozoides/ml. A las 18 h post-inseminación se fijaron y tiñeron los posibles cigotos para evaluar los resultados (Coy *et al.*, 2008b). Se realizaron tres replicados.

*Análisis estadístico:* Los datos se representaron como media  $\pm$  SEM. Las variables fueron analizadas mediante ANOVA de una vía (tiempo de digestión de la ZP y parámetros de FIV) y las diferencias se consideraron significativas para  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los niveles de estrógenos y progesterona en FOP durante la fase pre-ovulatoria fueron de 83 pg/ml y 3,8 ng/ml, respectivamente. Estos valores se encuentran en un rango similar a los obtenidos por otros investigadores en plasma sanguíneo en la misma fase (Henricks *et al.*, 1972; Shearer *et al.*, 1972). Igualmente ocurre con las concentraciones hormonales durante la fase post-ovulatoria. En nuestro caso fueron de  $<10$  pg/ml (por debajo del nivel de detección de la técnica) y 9,1 ng/ml para estrógenos y progesterona, respectivamente, similares a los obtenidos en análisis realizados en fluido folicular en fase post-ovulatoria (Rátky *et al.*, 2005). Esto indica que nuestra selección en base a la morfología ovárica fue correcta. En consecuencia, es de suponer que los niveles de OVGP1 en el FOP pre-ovulatorio serían más altos que en el post-ovulatorio. Esta hipótesis se vio respaldada por el hecho de que el fluido pre-ovulatorio tuvo un efecto significativamente mayor sobre el tiempo de digestión de la ZP que el post-ovulatorio ( $33,59 \pm 3,90$  min y  $15,05 \pm 2,88$  min, respectivamente), en comparación con el grupo control ( $1,38 \pm 0,20$  min). Estos resultados apoyarían de nuevo la relación directa que existe entre los niveles de OVGP1 y el grado de resistencia de la ZP a la digestión en pronasa (Coy *et al.*, 2008a). El patrón hormonal de los fluidos oviductales y los datos de resistencia enzimática podrían corroborar que determinados factores oviductales, como la OVGP1, que modifican la ZP, dependen de la secreción de estrógenos, dado que el estímulo estrogénico sobre las células epiteliales del oviducto favorece la secreción de OVGP1 (Buhi *et al.*, 2000). Es posible que existan otras proteínas implicadas en este proceso que también se detectarían en el FOP en los momentos cercanos a la ovulación por estímulo de los estrógenos, pero hasta el momento no han sido identificadas. El análisis proteómico de ambos tipos de fluido, que actualmente estamos realizando, aportará información complementaria a este estudio.

En la FIV se observó una tasa de monospermia significativamente mayor tras la incubación de los ovocitos en fluido pre-ovulatorio, además de ser menor el número medio de espermatozoides por ovocito penetrado (S/O) y los adheridos a la ZP, en comparación con el fluido post-ovulatorio (tabla 1). Estos datos podrían interpretarse desde el punto de vista fisiológico si tenemos en cuenta que, *in vivo*, la fecundación tras la inseminación o monta natural durante el estro es monospermica, mientras que la inseminación retardada produce polispermia en cerdos (Hunter, 1967). Debido a que unas horas después de la ovulación disminuyen los niveles de estrógenos en el oviducto como hemos comprobado en este estudio, podría deducirse que se reduce el efecto que produce la OVGP1 sobre la resistencia de la ZP, como también corroboran

nuestros resultados relativos a la menor resistencia de la ZP a la digestión en presencia de fluido oviductal post-ovulatorio. Como consecuencia de esta menor resistencia, la polispermia aumentaría y, con ello, se reduciría la eficiencia en la fecundación, tanto *in vivo* como *in vitro*.

En conclusión, los datos del presente estudio apoyan la hipótesis de que los niveles hormonales en el fluido oviductal antes y después de la ovulación determinan el grado de resistencia de la ZP a la digestión enzimática, así como el éxito en la fecundación, siendo el fluido de la fase inmediatamente pre-ovulación el que ofrece las condiciones óptimas para el encuentro entre los gametos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buhi, W.C., Álvarez, I.M. & Kouba, A.J. 2000. *Cells Tissues Organs*. 166: 165-179.
- Carrasco, L.C., Romar, R., Avilés, M., Gadea, J. & Coy, P. 2008. *Reproduction*. 136: 833-842.
- Coy, P., Cánovas, S., Mondéjar, I., Saavedra, M., Romar, R., Grullón, L., Matás, C. & Avilés, M. 2008a. *Proc Natl Acad Sci USA*. 105: 15809-15814.
- Coy, P., Grullón, L., Cánovas, S., Romar, R., Matás, C. & Avilés, M. 2008b. *Reproduction*. 135: 19-27.
- Henricks, D.M., Guthrie, H.D. & Handlin, D.L. 1972. *J Reprod Fert*. 6: 210-218.
- Hunter, R.H. 1967. *J Reprod Fert*. 13: 133-147.
- Petters, R.M. & Wells, K.D. 1993. *J Reprod Fert Suppl*. 48: 61-73.
- Rátky, J., Torner, H., Egerszeg, I., Schneider, F., Sarlos, P., Manabe, N. & Brüssow K.P. 2005. *J Reprod Dev*. 51: 109-115.
- Shearer, I., Purvis, J., Jenkin, G. & Haynes, N.B. 1972. *J Reprod Fert*. 30: 347-360.

**Agradecimientos:** A Soledad Rodríguez y a Juan Antonio Carvajal, por su asistencia técnica en la obtención de fluido oviductal y en la preparación de medios de cultivo. Trabajo financiado por el MEC-FEDER (AGL2009-12512-C02-01) y el MINECO (AGL2012-40180-C03-01).

**Tabla 1:** Efecto de la incubación de ovocitos en fluido oviductal porcino pre- (FOP pre) y post-ovulatorio (FOP post) sobre los resultados de fecundación *in vitro*.

Grupo	N	Penetración (%)	Monospermia (%)	S/O	Espermatozoides adheridos a la ZP
FOP pre	155	85,81 ± 2,81 <sup>a</sup>	34,59 ± 4,14 <sup>a</sup>	2,29 ± 0,11 <sup>a</sup>	8,43 ± 0,65 <sup>a</sup>
FOP post	150	95,33 ± 1,73 <sup>b</sup>	11,19 ± 2,65 <sup>b</sup>	3,63 ± 0,19 <sup>b</sup>	12,63 ± 1,10 <sup>b</sup>

Nota: <sup>a,b</sup> en la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05)

S/O: Número de espermatozoides en el interior de cada ovocito

## EFFECT OF THE PRE- AND POST- OVULATORY PORCINE OVIDUCTAL FLUID ON THE ENZYMIC RESISTANCE OF THE ZONA PELLUCIDA AND THE IN VITRO FERTILIZATION RESULTS

**ABSTRACT:** Porcine oviductal fluid (OF) from animals at the late follicular phase of the estrous cycle or after ovulation was collected, and estrogen and progesterone levels were assessed. Pre-ovulatory OF contained higher concentrations of estradiol than progesterone, whereas the opposite occurred for post-ovulatory OF. Pre- and post-ovulatory OF was used to incubate porcine oocytes for 30 min. ZP digestion time (assessed by 0.5% pronase) and *in vitro* fertilization parameters assessed after incubation indicated that the pre-ovulatory OF, with higher estrogen concentration, increased the resistance of the ZP to enzymatic digestion and the levels of monospermy after IVF. These results suggest that, under physiological conditions, the effect of the oviductal fluid on the ZP enzymatic resistance can be a key factor for the success of fertilization by reducing the chances of polyspermy.

**Keywords:** porcine oviductal fluid, hormones, ZP digestion time, IVF.

## LA SELECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES POR LAS CÉLULAS OVIDUCTALES MODIFICA LOS PARÁMETROS DE FECUNDACIÓN *IN VITRO*

López-Úbeda, R. y Matás, C.

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus *Mare Nostrum*, 30100 Murcia. cmatas@um.es

### INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se han producido numerosos avances en el campo de la maduración y fecundación *in vitro* en la especie porcina. Sin embargo, aún existen una serie de problemas asociados a esta especie que impiden que el rendimiento de los sistemas de FIV sea plenamente satisfactorio. Actualmente se considera que la causa principal del bajo éxito de la producción de embriones en esta especie son las fecundaciones polispermicas.

El oviducto tiene un papel significativo en el proceso reproductivo de los mamíferos, ya que proporciona un ambiente apropiado para el transporte de gametos, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano (Hunter, 2005). *In vivo*, la interacción entre los espermatozoides y las células oviductales es una de las fases finales de la maduración, ya que además de tener una gran importancia en la selección espermática (Gualtiere y Talevi 2003) le confiere al espermatozoide la habilidad de penetrar el ovocito al modular la capacitación espermática (Hunter, 1984).

En la especie porcina, estudios *in vitro* han mostrado que la incubación de espermatozoides sobre cultivos de células epiteliales del oviducto tiene un efecto beneficioso sobre la fecundación de ovocitos madurados *in vitro*, aunque con esta metodología se reduce la tasa de monospermia (Romar et al., 2001). Las células oviductales *in vitro* no sólo unen los espermatozoides, sino que también prolongan su viabilidad y su capacidad fecundante (Pollard et al., 1991) al disminuir su estado de capacitación. Diversos estudios han demostrado, *in vitro*, que los espermatozoides unidos a las células oviductales presentan bajos niveles de fosforilación en tirosina y de calcio intracelular (Petrunkina et al., 2001; 2003; Zumoffen et al., 2010). Sin embargo, y bajo nuestro conocimiento, no hemos encontrado en la literatura ningún estudio en el que se analice la capacidad fecundante de los espermatozoides que no se adhieren o no son seleccionados por las células oviductales. No obstante, los espermatozoides que tras ser incubados en las células oviductales no se unen a ellas presentan un alto grado de fosforilación de proteínas en la cabeza espermática (López-Úbeda et al., 2012).

El objetivo de este trabajo fue evaluar si la capacidad fecundante de los espermatozoides seleccionados por las células del oviducto difería de la población no seleccionada bajo condiciones *in vitro*.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención y cultivo de células epiteliales de oviducto: los oviductos se obtuvieron a partir de genitales de cerdas procedentes de matadero. Fueron transportados al laboratorio en un recipiente atemperado a 37°C. En el laboratorio se lavaron en solución de cetrámid (Cetab) y posteriormente en suero salino fisiológico atemperado. Sobre una placa de Petri, bajo condiciones estériles, se procedió a la disección del oviducto separándolo de los tejidos adyacentes, así como del ovario. La obtención de las células epiteliales del oviducto se realizó por compresión del mismo, desde la región del istmo hasta la ampolla. El contenido se recogió sobre una placa de Petri con medio TCM-199 equilibrado, las células se disgregaron. Tras varios lavados, las células se resuspendieron en medio TCM-199 fresco y se sembraron en placas de Petri a 38°C con 5% CO<sub>2</sub> y atmósfera saturada. Transcurridos 3 días desde la siembra, se retiró el medio con las células no adheridas y se reemplazó por medio TCM-199 fresco. El proceso se repitió cada 2 días hasta la total confluencia de las células en una monocapa, aproximadamente unos 7 días. Con cada cambio de medio se comprobó la ausencia de contaminación y el crecimiento celular.

Obtención de ovocitos y maduración *in vitro*: los ovocitos se obtuvieron mediante la aspiración de folículos ováricos de 3-6 mm de diámetro, de ovarios procedentes de matadero. El contenido folicular se recogió en tubos estériles y se dejó sedimentar durante 5

minutos. El sedimento se lavó con PBS atemperado y se seleccionaron los complejos cúmulo-ovocito (COC). Una vez seleccionados se lavaron en PBS y dos veces en medio NCSU-37 suplementado con fluido folicular porcino y equilibrado a 38,5°C, 5% de CO<sub>2</sub> y atmosfera saturada de humedad durante 2 horas. El cultivo se realizó en pocillos de 500 µl en grupos 50 COC, suplementados con 10 µl de PMSG/HCG y 10 µl de AMPc. Pasadas 20 horas de cultivo, fueron trasferidos a medio NCSU-37 libre PMSG, HCG y AMPc y se cultivaron durante 20-22 horas más (Funahashi y Day, 1993).

Procesado espermático: el procesado se realizó a través de gradientes de Percoll® (Pharmacia, Uppsala, Sweden), mediante una columna de doble banda (45% Percoll® sobre 90% Percoll®) sobre la que se depositaron 0.5 ml de eyaculado. Las muestras se centrifugaron a temperatura ambiente a 700g durante 30 minutos. El pellet obtenido se resuspendió en medio TALP previamente equilibrado, tras lo cual se centrifugó nuevamente a 700g durante 10 minutos, el pellet final se resuspendió en medio TALP ajustando la concentración a 1x10<sup>6</sup> células/ml.

La incubación de los espermatozoides (1x10<sup>6</sup> spz/ml) sobre las células oviductales se realizó en medio TALP durante 30 minutos a 38,5°C, 5% de CO<sub>2</sub> y atmosfera saturada de humedad. Transcurrido este tiempo se obtuvieron los espermatozoides no adheridos y las placas se lavaron con medio TALP fresco y se dejaron preparadas para hacer la FIV.

La fecundación *in vitro* se realizó en placas de Petri de 2 ml con 25 ovocitos por placa. Los espermatozoides utilizados fueron: los lavados sin incubar en células oviductales (grupo control), los NU (lavados no unidos a las células oviductales tras 30 minutos de incubación) y los U (espermatozoides unidos, esta FIV se realizó lógicamente sobre las células que se encontraban adheridas a las placas). Pasadas 16-18 horas del cocultivo se evaluaron los diferentes parámetros de FIV: porcentaje de penetración, número de espermatozoides unidos a la zona pelúcida, número de espermatozoides por ovocito penetrado, tasa de monospermia, número de espermatozoides descondensados y formación de pronúcleo masculino. Los datos fueron analizados mediante ANOVA y se les realizó una prueba post hoc (Tukey) aquellos que mostraron diferencias significativas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se observan en la tabla 1. En ella podemos ver que la penetración fue significativamente diferente entre los tres grupos de estudio, siendo muy superior (94,9%) para los espermatozoides unidos a las células oviductales (U). Esto podría ser debido, al igual que ocurre *in vivo*, a que las células oviductales son capaces de seleccionar aquellos espermatozoides con mejores condiciones para la fecundación (Petrunkina et al., 2001; 2003; Zumoffen et al., 2010), aunque posiblemente existan algunos factores secretados por las células (Nagai y Moor, 1990) capaces de incrementar este parámetro. El porcentaje de penetración para el grupo U fue incluso superior al grupo control, en el cual se encuentra toda la población espermática. Igualmente, se observa que el número de espermatozoides unidos a la zona pelúcida fue mayor para el grupo U que para el resto. Sin embargo, a pesar de que la unión a la zona fue mayor en el grupo U, el número de espermatozoides por ovocito fue similar al control y superior al grupo NU. El valor más alto de monospermia y más bajo de penetración se encontró en el grupo NU. Además, el número de espermatozoides que se encontraban en estadio de descondensación nuclear para este grupo (NU) fue inferior al resto. Este resultado refuerza la hipótesis de que los espermatozoides no seleccionados por las células oviductales puedan tener alguna alteración que, además de afectar a su capacidad fecundante, les impida la descondensación nuclear. Sin embargo, esta hipótesis podría estar equivocada ya que la formación del pronúcleo masculino se produjo en todos los grupos estudiados.

Como conclusión de este trabajo podemos decir que las células oviductales seleccionan la subpoblación espermática con mayor capacidad para penetrar a los ovocitos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Funahashi, H. & Day, B.N. 1993. J. Reprod Fertil. 98:179-185.
- Gualtiere, R. & Talevi, R. 2003. Reproduction. 125: 251-258.
- Hunter, R.H. 2005. Reprod Nutr Dev. 45:281-290.
- Hunter, R.H. 1984. J Reprod Fertil. 72 (1): 203-21.
- López-Úbeda, R. & Matás, C. 2012. Reproduction, Fertility and Development. 25(1): 270. doi:10.1071/RDv25n1Ab245.
- Nagai,

T. & Moor, R.M. 1990. *Mol Reprod Dev.* 26:377-382. • Petrunkina, A.M., Friedrich, J., Drommer, W., Bicker, G., Waberski, D. & Töpfer-Petersen, E. 2001. *Reproduction.* 122: 469-480. • Romar, R., Coy, P., Campos, I., Gadea, J., Matás, C. & Ruiz, S. 2001. *Anim Reprod Sci.* 68:85-98. • Zumoffen, C.M., Caille, A.M., Munuce, M.J., Cabada, M.O. & Ghersevich, S.A. 2010. *Human Reproduction.* 25:1504-1512.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado por Fundación Séneca 08752/PI/08 y MICINN-FEDER (AGL 2009-12512-C02-01-02).

**Tabla 1.** Resultados de FIV obtenidos a partir de espermatozoides incubados en células oviductales: Control (espermatozoides no incubados), NU (espermatozoides no unidos a las células oviductales tras 30 minutos de incubación), U (espermatozoides unidos a las células oviductales tras 30 minutos de incubación).

TRATAMIENTO	N	PEN %	SPZ/ZP	SPZ/O	MON %	DES
Control	135	62,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	25,6 ± 1,7 <sup>a</sup>	6,1 ± 0,5 <sup>a</sup>	9,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,1 ± 0,5 <sup>a</sup>
NU	270	19,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	12,3 ± 0,7 <sup>b</sup>	1,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	35,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>b</sup>
U	219	94,9 ± 0,1 <sup>c</sup>	52,9 ± 2,6 <sup>c</sup>	6,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	14,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,4 <sup>a</sup>

a,b,c: Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

N: número de ovocitos. PEN%: porcentaje de penetración. SPZ/ZP: número medio de espermatozoides unidos a la zona pelúcida. SPZ/O: número medio de espermatozoides por ovocito penetrado. MON%: tasa de monospermia. DES: número medio de espermatozoides descondensados.

#### SPERM SELECTION BY OVIDUCTAL CELLS CHANGES THE PARAMETERS OF IN VITRO FERTILIZATION (IVF)

**ABSTRACT:** The polyspermy is a major problem associated with in vitro fertilization in pigs. In vivo, the adhesion between sperm and OEC allows maintenance sperm viability, motility and fertile life span, because the oviduct modulates and control sperm capacitation until the time of ovulation. The spermatozoa bound to OEC appear to be an uncapacitation status. In vitro studies have shown that the cultured of oviduct epithelial cells have a beneficial effect on oocytes fertilization. The aim of this study was to evaluate whether the fertilizing capacity of sperm selected by oviduct cells differed from those not selected under in vitro conditions. Ejaculated sperm were incubated in oviductal cells, after which time sperm that were not bound to the oviductal cells (NU) and the sperm bound (U) were used for IVF. As IVF control were used sperm washed through Percoll®. The results of in vitro fertilization show an increase in penetration and in number of spermatozoa bound to the zona pellucida, for sperm bound to oviductal cells (U). The highest value of monospermy was found in NU group, but also showed the lowest value of nuclear descondensation. In conclusion oviductal cells select the sperm subpopulation more apt to penetrate oocytes.

**Keywords:** oviductal epithelial cells, in vitro fertilization, sperm.

## FOSFORILACIÓN DE TIROSINA EN ESPERMATOIDES PORCINOS INCUBADOS EN EXPLANTES OVIDUCTALES: EFECTO DEL LAVADO ESPERMÁTICO

Luño<sup>1</sup>, V., López-Úbeda<sup>2</sup>, R., García-Vázquez<sup>2</sup>, F.A. y Matás<sup>2</sup>, C.

<sup>1</sup>Dpto. Patología Animal (Área de Reproducción y Obstetricia). Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. <sup>2</sup>Depto. Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus *Mare Nostrum*, 30100 Murcia. [cmatas@um.es](mailto:cmatas@um.es)

### INTRODUCCIÓN

Los espermatozoides en su tránsito por el tracto genital de la hembra van perdiendo los factores decapacitantes adquiridos del plasma seminal y como consecuencia comienzan a capacitarse, requisito necesario para que se produzca la fecundación. En el caso de la fecundación *in vitro*, se intentan imitar en el laboratorio aquellos procesos que tienen lugar de manera natural, como por ejemplo el procesado de los espermatozoides. La preparación espermática para capacitar los espermatozoides *in vitro* se ha realizado de diferentes maneras (Matás *et al.*, 2003), siendo uno de los objetivos principales la eliminación del plasma seminal.

De la misma forma, mediante cultivos *in vitro* de células oviductales porcinas se ha intentado simular las condiciones que los espermatozoides encuentran en el tracto genital femenino y que les permite capacitarse. Las modificaciones producidas por este proceso tienen varias consecuencias en el gameto, siendo una de las más importantes el aumento los niveles de fosforilación en tirosina de las proteínas (Visconti *et al.*, 1995). Se ha determinado que el mayor porcentaje de espermatozoides unidos a las células oviductales presentan un nivel bajo de fosforilación en tirosina y de calcio intracelular en diferentes especies, representando la población más viable destinada a la fecundación (Petrunkina *et al.*, 2001). También se han analizado a los espermatozoides *in situ* tras inseminaciones en cerda y vaca, demostrándose interacciones entre el epitelio y la membrana plasmática espermática en la zona caudal del istmo (Hunter, 1991). Estas experiencias han sido utilizadas para estudiar diferentes características espermáticas, pero nunca para determinar el estado de fosforilación en tirosina de las proteínas espermáticas.

El objetivo de este trabajo ha sido caracterizar la influencia del lavado a través de gradientes de Percoll en la expresión de los diferentes patrones de fosforilación en tirosina de las proteínas de espermatozoides de verraco incubados en explantes oviductales porcinos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los oviductos se obtuvieron a partir de genitales de cerdas cíclicas sacrificadas en matadero. Bajo condiciones estériles, se realizó la disección del oviducto separándolo de los tejidos adyacentes y del ovario. El semen utilizado procedió de diferentes verracos de fertilidad probada. Las muestras seminales se dividieron en 2: una de ellas se procesó a través de un gradiente discontinuo de Percoll® (Matas *et al.*, 2011) (grupo semen lavado en Percoll) y a la otra no se le realizó ningún tratamiento (grupo semen no lavado). Los oviductos se incubaron con una concentración aproximada de  $1 \times 10^5$  espermatozoides/ml de semen no lavado y lavado en gradientes de Percoll®. Tras una hora de co-cultivo (5% de CO<sub>2</sub> a 38,5°C y con 95% de humedad), se fraccionó el oviducto en cuatro partes anatómicamente delimitadas, [unión útero-tubárica (UTJ), istmo (I), unión ampular-ítmica (AIJ) y ampolla (A)]. A su vez éstas se fijaron con medio *Bouin* durante 24 horas y se lavaron repetidamente en metanol al 75% durante 48 horas. Las muestras se deshidrataron a concentraciones crecientes de etanol y posteriormente embebidas en parafina para la realización de los bloques, los cuales se cortaron transversalmente con un grosor de 5 µm.

La localización de la fosforilación en tirosina de las proteínas de las muestras espermáticas se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta, según el protocolo descrito por Tardif *et al.* (2001). Las preparaciones histológicas con los espermatozoides unidos se incubaron con el anticuerpo primario antifosfotirosina (4G10, Millipore, Temecula, CA, EEUU) a una dilución 1:300 en PBS-BSA al 1% (p/v) durante 1 hora. A continuación se realizaron lavados con PBS para luego incubar con el anticuerpo secundario anti-ratón producido en cabra conjugado con FITC (Biorad Laboratories, Madrid, España) diluido 1:400 en PBS-BSA al 1% (p/v) durante 1 hora.

Las muestras se evaluaron con un microscopio de contraste de fases (Leica® DMR) bajo luz de fluorescencia (filtro I3 excitación azul BP 450-490; emisión LP 515) y campo claro. Los espermatozoides (200 células por muestra) se clasificaron de acuerdo al patrón de fluorescencia. Los datos se expresaron como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) y se analizaron usando un test de comparaciones múltiples de proporciones Chi-cuadrado, ajustando la significación con el método de Bonferroni.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La diferente localización de las proteínas fosforiladas en la superficie espermática permitió describir varios patrones. Inicialmente se tomaron hasta 8 distribuciones diferentes de fosforilación, pero para simplificar el análisis se agruparon en 3: patrón I, (espermatozoides sin fosforilar, con o sin fosforilación en la región acrosomal o el flagelo), patrón II, (espermatozoides fosforilados en el subsegmento ecuatorial, sin fosforilar el área acrosomal y con o sin fosforilación en el flagelo), patrón III, (espermatozoides fosforilados en el subsegmento ecuatorial y el área acrosomal, con o sin fosforilación en el flagelo). En estudios de cinética de la capacitación se ha determinado que los espermatozoides sin ningún tratamiento no presentaban fosforilación o únicamente en el segmento ecuatorial, siendo la primera distribución encontrada durante la capacitación. A lo largo de la incubación en un medio capacitante, hay un aumento de la fosforilación de la región acrosomal y del flagelo, está última correlacionada con la adquisición de la hipermotilidad.

Los espermatozoides analizados en este trabajo fueron aquellos que estaban adheridos al epitelio oviductal. Los patrones de fosforilación encontrados difirieron entre las muestras espermáticas que habían sido lavadas de las que no lo fueron (Tabla 1). En términos generales, los espermatozoides sin lavar mostraron niveles menores de fosforilación en tirosina que los lavados a través de gradientes de Percoll® en todas las secciones del oviducto. El número de espermatozoides no lavados que presentó el patrón I disminuyó al ser incubados en el oviducto, en cambio no se vio afectado este parámetro para los espermatozoides lavados, excepto para aquellos encontrados en la UTJ donde se vio incrementado. Al analizar los resultados del patrón II observamos que ocurría todo lo contrario, es decir se producía un incremento en el número de espermatozoides con fosforilación en el subsegmento ecuatorial para el grupo de espermatozoides no lavado. Para los espermatozoides lavados sólo se produjo un ligero incremento en las zonas del istmo y la AIJ. Parece ser que aún siendo explantes de oviducto, el ambiente que encuentran los espermatozoides en él es suficiente para que se inicie el proceso de capacitación, puesto que se incrementa el nivel de fosforilación de las proteínas. En cambio, cuando los espermatozoides han sido lavados, este proceso ya se encuentra iniciado y solamente se produce una modulación del mismo en las diferentes regiones del oviducto (Georgiou et al., 2007). Finalmente, al observar los resultados del patrón III, vimos que el porcentaje de espermatozoides que lo presentaban era muy bajo, tanto para el caso de los espermatozoides no lavados y lavados aunque se produjo un incremento en la UTJ de este patrón en los espermatozoides no lavados. Sin embargo, para los espermatozoides lavados se produce un descenso respecto del control, además no se encontró en la UTJ ningún espermatozoide con este tipo de patrón. La adhesión entre los espermatozoides y las células oviductales esta mediada por moléculas expuestas en la superficie rostral de forma especie-específica (Green *et al.*, 2001). Al capacitarse, los espermatozoides podrían perder dichas moléculas, por lo que solo los espermatozoides sin fosforilar a nivel acrosomal serían capaces de unirse a las células oviductales, tal y como sucede en nuestros resultados. La interacción con las células oviductales modula el estado fosforilación en tirosina de las proteínas espermáticas, a la vez que representan un mecanismo de selección de la población espermática con niveles menores de fosforilación en tirosina.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Georgiou, A.S., Snijders, A.P., Sostaric, E., Aflatoonian, R., Vazquez, J.L., Vazquez, J.M., Roca, J., Martinez, E.A., Wright, P.C. & Fazeli, A. 2007. *J. Proteome Res.* 6:4656-4666.
- Green, C.E., Bredl, J., Holt, W.V., Watson, P.F. & Fazeli, A. 2001. *Reproduction.* 122:305-315.
- Hunter, R.H., Fléchon, B. & Fléchon, J.E. 1991. *Tissue Cell.* 23:641-656.
- Matás, C., Coy, P., Romar, R., Marco, M., Gadea, J. & Ruiz, S. 2003. *Reproduction.* 125:133-141.
- Matás, C., Vieira, L., García-Vázquez, F.A., Avilés-López, K., López-Úbeda, R., Carvajal,

J.A. & Gadea, J. 2011. Anim. Reprod. Sci.127:62-72. • Petrunkina, A., Friedrich, J., Drommer, W., Bicker, G., Waberski, D. & Töpfer-Petersen, E. 2001. Reproduction. 122:469-480. • Tardif, S., Dubé, C., Chevalier, S. & Bailey, J.L. 2001. Biol. Reprod. 65:784-792. • Töpfer-Petersen, E. Molecules on the sperm's route to fertilization. 1999. J. Exp. Zool. 285:259-266. • Visconti, P., Bailey, J., Moore, G., Pan, D., Olds-Clarke, P. & Kopf, G. 1995. Development. 121:1129-1137.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado por Fundación Séneca 08752/PI/08 y MICINN-FEDER (AGL 2009-12512-C02-01-02).

**Tabla 1.** Distribución de la fosforilación en tirosina de las proteínas de espermatozoides

	Patrón I		Patrón II		Patrón III	
	No lavado	Lavados en Percoll	No lavado	Lavados en Percoll	No lavado	Lavados en Percoll
<b>Control</b>	77,50±0,02	5,01±0,01	21,00±0,02	81,20±0,02	1,50±0,01	13,7±0,02
<b>UTJ</b>	43,65±0,04 <sup>a</sup>	27,50±0,04 <sup>a</sup>	47,62±0,05 <sup>a</sup>	72,50±0,04 <sup>b</sup>	8,73±0,03	•
<b>Istmo</b>	38,25±0,02 <sup>a</sup>	8,00±0,01 <sup>b</sup>	58,25±0,03 <sup>a</sup>	86,75±0,02 <sup>b</sup>	3,50±0,01 <sup>a</sup>	5,25±0,01 <sup>a</sup>
<b>AIJ</b>	43,75±0,03 <sup>a</sup>	5,75±0,01 <sup>b</sup>	52,50±0,02 <sup>a</sup>	83,75±0,02 <sup>b</sup>	3,75±0,01 <sup>a</sup>	10,50±0,02 <sup>a</sup>
<b>Ampolla</b>	40,50±0,03 <sup>a</sup>	10,50±0,02 <sup>b</sup>	57,75±0,03 <sup>a</sup>	81,00±0,02 <sup>b</sup>	1,75±0,01 <sup>a</sup>	8,50±0,01 <sup>b</sup>

*unidos a las células oviductales.*

Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas (P<0,0001).

• Ningún espermatozoide fue encontrado en esa sección.

### TYROSINE PHOSPHORYLATION ON PERCOLL-WASHED SPERM INCUBATED WITH PORCINE OVIDUCTAL EXPLANTS

**ABSTRACT:** The aim of this study was to characterize the different protein tyrosine phosphorylation distribution on Percoll-washed sperm attached to epithelial oviductal cell from porcine oviductal explants. Oviducts were collected from commercial cycling sows and semen from tested boars. Sperm were divided in two aliquot: one of them was centrifuged through a density gradient of Percoll and the other no, and incubated in the oviducts during 1 h. Later, oviduct was cut into four parts: ampulla, ampullary-isthmic junction (AIJ), isthmus and utero-tubal junction (UTJ) and analyzed by indirect immunofluoresce. Sperm without any treatment showed lower tyrosine phosphorylation levels than sperm washed through Percoll gradients in all sections of the oviduct. Un-washed spermatozoa increased levels of phosphorylation when were incubated in the oviduct. However, Percoll-washed sperm maintained similar levels of tyrosine phosphorylation. High levels of tyrosine phosphorylation were not found in sperm bound to epithelial cells, even in spermatozoa washed through Percoll gradients. Only spermatozoa with no-phosphorylated acrosome were able to attach to oviductal cells. Oviduct modulates tyrosine phosphorylation and selecting sperm population with low tyrosine phosphorylation levels.

**Keywords:** sperm tyrosine phosphorylation, capacitation, oviduct explants, pig.



## LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA EN EL ÚTERO DE LA CERDA ESTÁ INFLUENCIADA POR LA CALIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES: ANÁLISIS DEL REFLUJO

Soriano-Úbeda<sup>1</sup>, C., Hernández-Caravaca<sup>1,2</sup>, I., Izquierdo-Rico<sup>3</sup>, M.J., Matás<sup>1</sup>, C. y García-Vázquez<sup>1</sup>, F.A.

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus *Mare Nostrum*, 30100 Murcia., <sup>2</sup>Boehringer-Ingelheim España, S.A. <sup>3</sup> Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Campus *Mare Nostrum*, 30100, Murcia. [fagarcia@um.es](mailto:fagarcia@um.es)

### INTRODUCCIÓN

En la especie porcina, durante la cubrición o inseminación artificial (IA) millones de espermatozoides (spz) son depositados en el tracto reproductor de la hembra, pero sólo unos miles llegan al lugar de fecundación y finalmente uno de ellos es el que fecunda al ovocito. Los espermatozoides sufren una serie de mecanismos selectivos a su paso por el tracto genital femenino, responsables de eliminar espermatozoides inmaduros y/o dañados no aptos para fecundar (Suarez, 2007). Por tanto, aquellos espermatozoides que sean funcional y morfológicamente normales serán los que alcancen el oviducto. Entre los mecanismos conocidos de eliminación de espermatozoides en el tracto genital femenino se encuentra la fagocitosis (mediante polimorfonucleares) y el reflujo que tiene lugar tras la inseminación o monta. Se ha comprobado que tras la IA un 15-25% de los espermatozoides son eliminados en el reflujo (Hernández-Caravaca et al., 2012), aunque todavía no se ha determinado si la eliminación de espermatozoides mediante este mecanismo se produce de manera aleatoria o es un proceso selectivo.

El objetivo de este trabajo fue el estudio de la calidad de las subpoblaciones espermáticas en el reflujo a diferentes tiempos tras la IA en la especie porcina.

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Preparación de las dosis seminales:* Se utilizaron dosis de inseminación procedentes de machos reproductores (Duroc) de fertilidad probada. Las dosis de inseminación (DI) estaban formadas por la mezcla en iguales proporciones de  $750 \times 10^6$  spz/12,5 ml de la dosis original (DO) conteniendo espermatozoides de alto porcentaje de motilidad (>70% spz mótil) con  $750 \times 10^6$  spz/12,5 ml marcados con una tinción vital fluorescente a base de bisbencimida (Hoechst 33342) y clasificados según su motilidad (ALTA: >70%; MEDIA: 35-70%; BAJA: <35%).

*Tinción de las muestras:* Se procedió a la incubación de las muestras durante 10 min en oscuridad y a temperatura ambiente con 5 mg/ml de bisbencimida por cada  $100 \times 10^6$  spz. Posteriormente, se realizó una centrifugación de las muestras a 500g durante 5 min para eliminar el exceso de tinción. Tras la retirada del sobrenadante se resuspendió de nuevo en diluyente (BTS) hasta la concentración inicial. Por último, se clasificaron las muestras según su motilidad tal y como se ha descrito anteriormente (ALTA, MEDIA, BAJA).

*Inseminación artificial:* Se inseminaron un total de 25 cerdas (Landrace x Large White) distribuidas en los 3 grupos experimentales [ALTA (n=8), MEDIA (n=8) y BAJA (n=9)]. A las 24 h post-detección del celo, se procedió a la inseminación post-cervical utilizando un catéter combinado con una cánula interna (Soft & Quick®, Import-Vet S.A., España) y con DI de  $1500 \times 10^6$  spz/25 ml [50% spz no teñidos motilidad alta + 50% spz teñidos (motilidad ALTA, MEDIA o BAJA)].

*Recogida de reflujos y análisis espermático:* Inmediatamente tras la inseminación de las cerdas, se les colocó una bolsa de colostomía humana fijada firmemente alrededor de la vulva. De estas bolsas se recogió el reflujo seminal a diferentes tiempos post-inseminación: 0-15 min, 16-30 min y 31-60 min. Las muestras contaminadas con orina se eliminaron del

experimento. Una vez en el laboratorio y mediante microscopía de fluorescencia (UV) se determinó el porcentaje de espermatozoides teñidos de la DI (control) y de cada uno de los reflujos recogidos a diferentes tiempos en los 3 grupos experimentales. Al menos se contabilizaron 200 espermatozoides en cada reflujo por tiempo y cerda.

*Análisis estadístico:* El análisis estadístico de los datos (expresados como la media  $\pm$  error estándar) se realizó con el programa informático SPSS v.15, mediante un análisis ANOVA de una vía y un test de *Tukey* de comparaciones múltiples con un nivel de significación  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 quedan reflejados los porcentajes de espermatozoides teñidos recogidos en el reflujo en diferentes periodos (0-15, 16-30, 31-60 min) en los distintos grupos de inseminación utilizados (ALTA, MEDIA y BAJA). En los primeros momentos tras la inseminación (0-15 min), los espermatozoides observados en el reflujo se encontraban en igual proporción (% de teñidos y no teñidos) en las cerdas inseminadas independientemente de la calidad inicial del grupo experimental utilizado. Sin embargo, en el reflujo recogido en momentos más avanzados post-inseminación (16-30 min) el porcentaje de espermatozoides teñidos fue significativamente superior en aquellas cerdas inseminadas con dosis de menor calidad (ALTA: 54,47%; MEDIA 73,78%; BAJA: 83,57%,  $p < 0,05$ ). Finalmente, en el último periodo recolectado (31-60 min post-inseminación) la mayor parte de espermatozoides teñidos de los reflujos pertenecían a dosis de inseminación BAJA y MEDIA (89,85% y 84,27%, respectivamente), en comparación con las cerdas inseminadas con espermatozoides teñidos de ALTA calidad (59,37%,  $p < 0,05$ ).

Estos resultados nos muestran el efecto que el útero ejerce sobre los espermatozoides según transcurre el tiempo post-inseminación. Estos datos nos indican que inicialmente no existe un proceso selectivo como tal, sino que los espermatozoides son eliminados al exterior en el reflujo ayudados por las contracciones uterinas y con independencia de su calidad. Conforme transcurre el tiempo post-inseminación, el útero comienza a ejercer un efecto selectivo específico sobre los espermatozoides, seleccionando aquellos con mejor calidad para continuar en su trayecto por el tracto genital de la hembra y descartando aquellos menos competitivos en el reflujo (Hernández-Caravaca et al., 2012), llegando a eliminar a los 60 min post-inseminación la mayor parte de la subpoblación de espermatozoides con un bajo porcentaje de motilidad.

La retención de espermatozoides en el útero podría servir como efecto protector de los espermatozoides viables frente a su eliminación en el reflujo (Taylor et al., 2008). Se ha demostrado que espermatozoides adheridos al epitelio uterino tienen una ultraestructura normal y una mayor viabilidad que aquellos que se encuentran en el lumen (Rodríguez-Martínez et al., 2009; Taylor et al., 2008, 2009) y por tanto, estos últimos son más susceptibles de ser eliminados mediante el reflujo a través de las contracciones uterinas.

En conclusión, tras la IA se produce en el útero de la especie porcina una selección de aquellos espermatozoides más aptos para alcanzar el lugar de fecundación, desechando en el reflujo aquellos menos válidos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hernández-Caravaca, I., Izquierdo-Rico, M.J., Matás, C., Carvajal, J.A., Vieira, L., Abril, D., Soriano-Úbeda, C., García-Vázquez, F.A. 2012. Anim. Reprod. Sci. 136: 14-22.
- Rodríguez-Martínez, H., Nicander, L., Viring, S., Einarsson, S., and Larsson, K. 1990. Anatomia, Histologia, Embryologia. 19: 16–36.
- Suarez, S. S. 2007. Reprod Fertil Dev. 19: 103–110.
- Taylor, U., Rath, D., Zerbe, H., Schuberth, H.J. 2008. Reprod. Domest. Anim. 43: 166-175.
- Taylor, U., Schuberth, H. J., Rath, D., Michelmann, H. W., Sauter-Louis, C., Zerbe, H. 2009. Reprod Dom Anim. 44: 180–188.

**Agradecimientos:** Este estudio ha sido posible gracias a la colaboración de la granja Agropecuaria-La Fontana S.A. (Murcia) (especialmente su propietario D. Francisco Vera) y la Granja de la Universidad de Murcia. Nuestro agradecimiento a la empresa IMPORT-VET S.A., especialmente a D. Pedro José Llamas por su asesoramiento técnico.

**Tabla 1.** Porcentaje medio de espermatozoides teñidos en las muestras de reflujos recogidas a diferentes tiempos de cerdas inseminadas con DI obtenidas de la mezcla de espermatozoides no teñidos con dosis teñidas de ALTA, MEDIA y BAJA motilidad espermática. Diferentes superíndices (<sup>a,b,c</sup>) en una misma columna indican diferencias significativas.

Motilidad subpoblación espermática	Nº cerdas inseminadas	% espermatozoides teñidos recogidos en el reflujos tras IA		
		0-15 min	16-30 min	31-60 min
ALTA	8	48,81±2,68	54,47±2,60 <sup>a</sup>	59,37±2,46 <sup>a</sup>
MEDIA	8	55,29±5,05	72,78±2,53 <sup>b</sup>	84,27±2,29 <sup>b</sup>
BAJA	9	55,45±3,23	83,57±2,87 <sup>c</sup>	89,85±2,40 <sup>b</sup>

#### SPERM SELECTION IN UTERUS IS INFLUENCED BY SPERM QUALITY: A BACKFLOW STUDY

**ABSTRACT:** The aim was to examine the way in which spermatozoa are selected by the uterus after artificial insemination. In total, 25 sows were post-cervical inseminated (1500x10<sup>6</sup> spz/25ml) using 3 different sperm doses: 1) HIGH motility: 50% of the sperm not stained and with high motility (>70%) + 50% of the sperm stained (with Hoechst 33342) with high motility (>70%); 2) MEDIUM motility: 50% of the sperm not stained with high motility (>70%) + 50% of the sperm stained with medium motility (35-70%); 3) LOW motility: 50% of the sperm not stained with high motility (>70%) + 50% of the sperm stained with low motility (<35%). Backflow was collected at different times after insemination (0-15, 16-30 and 31-60 min) and % of stained sperm was determined using fluorescence microscope (UV). The results showed that during the first moments after insemination (0-15 min) the uterus performs an indiscriminate removal (measure in the backflow) of sperm regardless of their motility (HIGH: 48.81; MEDIUM: 55.29; LOW: 55.45%). During 16-30 and 31-60 min intervals the majority of sperm in backflow were stained in MEDIUM (73.78 and 84.27%, respectively) and LOW (83.57 and 89.85%, respectively) groups but not in the HIGH one (54.47 and 59.37%). The uterus sperm selection is not specific during the first moments after insemination, but later the uterus selects those sperm with better motility, discarding those less competitive in the backflow.

**Keywords:** Backflow, sperm, porcine, uterine selection.

## VALORACIÓN REPRODUCTIVA DE TOROS JÓVENES DE TESTAJE DE RAZA PARDA DE MONTAÑA

Quintín<sup>1</sup>, F.J., Hernández<sup>1</sup>, M., Sevilla<sup>1</sup>, E., Pastor<sup>1</sup>, F., Banzo<sup>2</sup>, P., Alabart<sup>3</sup>, J.L. y Serraller<sup>1</sup>, J.M.

<sup>1</sup> Centro de Mejora Ganadera. Avda de Movera 580 50194-Zaragoza.

<sup>2</sup> ARAPARDA Avda. Molsá 36 22467 Sesué, Huesca.

<sup>3</sup> Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria, Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza.  
fquintin@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

El convenio de colaboración entre la Asociación Aragonesa de Criadores de Ganado Bovino de Raza Parda de Montaña (ARAPARDA) y el Gobierno de Aragón para el desarrollo del esquema de valoración de sementales y del programa de mejora genética de la raza establece la realización de pruebas de testaje (prueba de valoración individual) en el Centro de Mejora Ganadera que incluye la valoración de aspectos productivos (peso vivo a los 12 meses, ganancia media diaria, índice de conversión), morfológicos y de conformación y reproductivos. En las distintas series de testaje realizadas hasta el momento actual, la valoración reproductiva se dilata en el tiempo y con resultados desalentadores porque los toros jóvenes no siempre responden a la estimulación sexual en estación ni se acostumbran a la recogida mediante vagina artificial por lo que se diseñó un protocolo preliminar de recogida de semen mediante electroeyaculación y caracterización de distintos parámetros de motilidad espermática mediante sistema CASA.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El grupo de testaje estaba integrado por 17 toros jóvenes de raza Parda de Montaña con una edad media de 12 meses a los que se sometió en dos ocasiones distintas y con un intervalo de 20 días a una recogida de semen mediante electroeyaculación, cumpliendo en todo momento los requisitos de salud y bienestar animal. Previo a la recogida, se procedía a la sedación del toro con xilacina al 20%, inmovilización del mismo en la manga de manejo, rasurado y limpieza de la zona prepucial, eliminación de heces y masaje vía rectal de glándulas anejas y recogida de semen con electroeyaculador (electrojac 5, Humeco, Huesca, España)

Una vez contrastado el eyaculado de manera tradicional determinando el volumen (c.c.), la motilidad masal (método de Blom o de las cruces) y la concentración espermática (mediante cámara de Bürker), realizamos una dilución 1:20 con diluyente comercial Andromed® (Minitüb Ibérica SL, La Selva del Camp, Tarragona, España), capturamos tres imágenes simultáneas entre porta y cubre de 10 µl de la muestra diluida y analizamos los siguientes parámetros de motilidad con el sistema ISAS® (*integrated semen analysis system*) v. 1.0.16 (Proiser, Paterna, Valencia, España): porcentaje de espermatozoides estáticos y móviles (progresivos y no progresivos); porcentaje de espermatozoides lentos (> 10µm/s), medios (>25µm/s y <50µm/s) y rápidos (>50µm/s); velocidad curvilínea (VCL), rectilínea (VSL) y lineal o media (VAP); índice de linealidad (LIN), de rectitud (STR) y de oscilación (WOB); amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de cruces (BCF). Estadísticamente se compararon los parámetros de motilidad de ambas extracciones mediante una prueba t (datos pareados y dos colas) (Microsoft Office Excel 2003).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la electroeyaculación hay o no erección y amplia emisión de secreciones genitales por lo que a la hora de realizar la recogida intentamos diferenciar las distintas fracciones emitidas para obtener un eyaculado lo más puro posible, sin contaminación de elementos extraños y que a la par nos incrementen el volumen seminal con la consecuente dilución del mismo. Los resultados de la contrastación realizada *a priori* (volumen, motilidad masal y concentración) (tabla 1) determinaron la eliminación inicial de 2 toros jóvenes por sus pésimas características seminales y están de acuerdo con Morillo et al. (2012) en cuanto que la concentración espermática va a influir la visualización de la motilidad masal, a la par

que el método de electroeyaculación proporciona eyaculados con una menor concentración espermática y consecuentemente un menor número de espermatozoides por eyaculado, aunque Palmer (2005) encuentra muy poca diferencia en la cantidad y calidad de las muestras de semen obtenidas por vagina artificial interna o electroeyaculación.

Respecto a la determinación de los parámetros cinéticos de la población espermática por métodos CASA hay que convenir con Vázquez et al. (1998) que el resultado final depende de factores dependientes de las condiciones de evaluación (temperatura, volumen, cámara), estado de la población (concentración, diluyente) y sistema de medida (valores del *set-up*, instrumentación). El porcentaje medio de espermatozoides móviles totales ha sido de  $90,2 \pm 2,6$  para la primera extracción y  $93,0 \pm 1,0$  para la segunda extracción y, consecuentemente, el porcentaje de espermatozoides estáticos resultante de  $9,8 \pm 2,6$  en la primera recogida y  $7,0 \pm 1,5$  en la segunda recogida (tabla 2), no observando diferencias significativas entre ambas ( $p < 0,05$ ). Los niveles obtenidos son similares a los reflejados por Muiño et al. (2006) para toros de menos de tres años de la raza Frisona y Rubia Gallega. El resto de parámetros (tabla 3) son dispares a los descritos por dichos autores debido a que los límites empleados en nuestro caso son diferentes e incluso las condiciones de trabajo y equipos han sido distintos por lo que conviene realizar una estandarización y optimización de los equipos y procedimientos empleados en los distintos laboratorios (Farrell et al., 1998; Muiño et al., 2005).

A la vista de los diversos factores que actúan sobre la aparición de la pubertad e inicio de la función sexual (Dumont, 1998) así como sobre la libido y la fertilidad en ganado bovino de aptitud cárnica (Petherick, 2005), a la vez que se reconoce que la aceptación de la vagina artificial suele ser dificultosa y no se consiguen las primeras eyaculaciones hasta los 14-16 meses en la raza Pirenaica bajo condiciones similares (Rincón et al., 1990) consideramos que la recogida por electroeyaculación asociada a la determinación de características seminales clásicas y de parámetros cinéticos por CASA se revelan como metodología útil a aplicar en las series de testaje de toros jóvenes de raza Parda de Montaña, dilatando al mínimo el periodo de valoración sexual.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dumont, P. (1998) *Élevage et Insémination* 283: 3-24 • Farrell, P.B.; Presicce, G.A.; Brockett, C.C.; Foote, R.H. (1998) *Theriogenology* 49: 871-879 • Morillo, M.; Salazar, S.; Castillo, E. (2012) Centro Nal de Investigaciones Agropecuarias. Maracay, Venezuela • Muiño, R.; Fernández, M.; Areán, H.; Viana, J.L.; López, M.; Fernández, A.; Peña, A.I. (2005) *ITEA Vol. 101 (3)*: 175-191 • Muiño, R.; Fernández, M.; Peña, A.I. (2006) *ITEA Vol 102 (1)*: 55-66 • Palmer C.W. (2005) *Theriogenology* 64: 469-479 • Petherick, J.C. (2005) *Applied Animal Behaviour Science* 90: 185-205 • Rincón, C.; Albarrán, L.M. (1990) *World Review of Animal Production Vol XXV nº 1*: 77-82 • Vázquez, J.M.; Martínez, E.A.; Roca, J.; Blanco, O.; Lucas, X.; Matás, C. (1998) *ANAPORC* 178: 34-43

**Tabla 1.** Características seminales de toros jóvenes de testaje de raza Parda de Montaña

Toro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
V 1	3	2	3	3	3	6	5	5	1	7	4	3	7	6	4
V 2	3	6	5	4	4	6	3	3	4	8	2	5	5	4	4
Mm 1	++	+	+	-/+	+	++	+/-	+	-	-	+	+	++	+	+
Mm 2	+	++	++	++	++	++	+/-	+	++	+/-	++	++	+	++	+
C 1	700	220	540	220	700	320	300	340	160	340	180	620	440	220	200
C 2	380	320	320	520	320	360	240	460	220	180	900	820	240	440	140

V1 y V2: Volumen eyaculado 1 y 2 (c.c.)

Mm 1 y Mm 2: Motilidad masal eyaculado 1 y 2(método de Blom)

C 1 y C 2: Concentración eyaculado 1y 2( $\times 10^9$ /c.c.)

**Tabla 2.** Valores medios de la motilidad espermática de semen de toros jóvenes de testaje de raza Parda de Montaña (media  $\pm$  error estándar, n= 15).

E	% estáticos	% móvil NP	% móvil P	% móvil total	% rápidos	% medios	% lentos
1	9,8 $\pm$ 2,6	41,4 $\pm$ 3,9	48,8 $\pm$ 3,3	90,2 $\pm$ 2,6	79,2 $\pm$ 4,4	8,4 $\pm$ 1,4	2,6 $\pm$ 1,0
2	7,0 $\pm$ 1,5	40,0 $\pm$ 3,3	53,0 $\pm$ 3,1	93,0 $\pm$ 1,0	82,3 $\pm$ 3,5	8,8 $\pm$ 1,4	1,9 $\pm$ 0,7

E: eyaculado

% móvil NP: % móvil No Progresivo      % móvil P: % móviles Progresivo

**Tabla 3.** Valores medios de los parámetros cinéticos de semen de toros jóvenes de testaje de raza Parda de Montaña (media  $\pm$  error estándar, n= 15).

E	VCL	VSL	VAP	LIN	STR	WOB	ALH	BCF
1	104,1 $\pm$ 4,7	48,0 $\pm$ 1,6	66,6 $\pm$ 1,9	47,4 $\pm$ 2,5	72,6 $\pm$ 2,3	64,8 $\pm$ 1,6	3,9 $\pm$ 0,2	8,9 $\pm$ 0,4
2	105,6 $\pm$ 3,9	48,6 $\pm$ 1,8	66,6 $\pm$ 2,0	46,8 $\pm$ 2,3	73,1 $\pm$ 2,0	63,4 $\pm$ 1,6	3,9 $\pm$ 0,2	9,3 $\pm$ 0,3

E: eyaculado

VCL: velocidad curvilínea VSL: velocidad rectilínea VAP: velocidad lineal o media

LIN: índice de linealidad STR: índice de rectitud WOB: índice de oscilación

ALH: amplitud desplazamiento lateral de cabeza BCF: frecuencia de cruces

## REPRODUCTIVE ASSESSMENT TEST OF YOUNG BULLS OF THE BREED “PARDA DE MONTAÑA”

**ABSTRACT:** Reproductive evaluation of young bulls included the individual assessment the genetic improvement program of the “Parda de Montaña” breed was performed using semen collection by electroejaculation and evaluation of different semen collection of the kinetic parameters using a CASA system. The method used to collect and semen contrasting has been useful. At difference in previous testate, the assessment of the semen has been made on total samples in a minimum time of period. The obtained data, underline need to standardize laboratory methods between different equipments with the goal to obtain comparable results.

**Keywords:** bovine, electroejaculation, semen motility, CASA

## **CORRELACIÓN ENTRE EL TEST DE ENDOSMOSIS (HOST) Y OTROS PARÁMETROS DE CALIDAD ESPERMÁTICA EN SEMEN CRIOPRESERVADO DE BÚFALOS MURRAH**

Quintero-Moreno, A., Osorio, C., González, D., Nava-Trujillo, H. y Rubio-Guillén J.  
Laboratorio de Andrología, Unidad de Investigación en Producción Animal (UNIPA)/ Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia (LUZ). Venezuela.  
[armando.quintero@fcv.luz.edu.ve](mailto:armando.quintero@fcv.luz.edu.ve)

### **INTRODUCCIÓN**

Los parámetros convencionales de calidad usados para la evaluación seminal tienen aplicaciones limitadas debido a que solo ayudan a evaluar la integridad estructural de la célula. Por lo tanto, cualquier intento que derive en la evaluación de la integridad funcional de la membrana plasmática (IFMP) del espermatozoide es notorio debido a su importancia en el proceso de fecundación. Desde que Jeyendran *et al.* (1984), desarrollaron el test de endosmosis celular (HOST) para evaluar IFMP de los espermatozoides humanos, se han realizado muchos experimentos validando su uso como herramienta eficaz para la valoración seminal. Sin embargo, en búfalos solo se han realizado pocos estudios en referencia a este tópico. El fundamento del HOST se basa en la observación de las alteraciones morfológicas que sufren los flagelos de los espermatozoides (incremento de tamaño y flagelos flectados o curvos) al ser expuestos a un medio hiposmótico, el cual ocasiona un desequilibrio osmótico entre el medio extracelular e intracelular, situación que el espermatozoide trata de vencer difundiendo agua al compartimiento intracelular, aumentando la célula su volumen, lo cual se evidencia al observar la torsión de sus flagelos en diferentes grados. El presente estudio se condujo con el objetivo de evaluar si existe una correlación significativa entre el HOST y otros parámetros rutinarios (porcentajes de vitalidad, motilidad e integridad del acrosoma) que valoren la calidad seminal.

### **MATERIALES Y METODOS**

Se utilizó semen criopreservado de 3 eyaculados de 5 búfalos (n=15) de raza Murrah con edades comprendidas entre 3 y 5 años, los cuales se procesaron en un centro especializado en la producción de semen bovino, ubicado en el estado Zulia, Venezuela, entre las coordenadas 10° 15' latitud norte y 72° 25' longitud oeste. Los eyaculados fueron colectados entre las 5:00 y 7:00 de la mañana mediante vagina artificial con temperatura entre 42-46°C. Una vez obtenido el eyaculado se realizó la evaluación seminal de rutina y las muestras clasificadas como idóneas para congelar fueron procesadas en un diluyente utilizado para bóvidos y almacenadas hasta su descongelación y evaluación (Rubio-Guillén *et al.*, 2007). Cerciorada su calidad, 3 pajuelas por cada búfalo se trasladaron al Laboratorio de Andrología de LUZ para realizar las evaluaciones complementarias que permitieron capitalizar los objetivos planteados en este experimento. Se descongeló cada pajuela de semen sumergiéndola en un baño de María (BM) a 37 °C durante 30 segundos y luego se vertió su contenido en un vial de micro centrifuga de 1,5 ml, ubicado en una gradilla colocada en BM a 37°C. Una vez descongelado el semen se tomó una alícuota de 5 µl y se colocó en una cámara desechable Leja® de 20 µm calefactada a 37°C y se cuantificó la motilidad espermática mediante un sistema de análisis computarizado de la motilidad (CASA/ Sperm Class Analyzer, S.C.A®. v 3.2.0, Microptic S.L., Barcelona, España), la cual captura los espermatozoides en movimiento con el fin de guardarlos como imágenes digitalizadas. Este análisis fragmenta la motilidad espermática según su velocidad y progresividad; sin embargo, en este ensayo se tomó en cuenta la motilidad según los porcentajes de espermatozoides rápidos (PER) y estáticos (PEE), y la motilidad individual progresiva (PMP). Para la evaluación de los otros parámetros se extrajeron 50 µl del semen descongelado y se introdujeron en un vial con 500 µl de solución salina fosfatada (PBS) temperada en el BM a 37°C. Luego se centrifugó la mezcla de PBS + semen a 600 g durante 2 min., se desechó parte del sobrenadante y se resuspendió el precipitado en PBS. La evaluación del porcentaje de vitalidad (PV) fue hecha por el método sugerido por Swanson y Bearden (1951). Se extrajo 10 µL del y se mezcló con una gota de igual volumen del colorante y se colocó en un portaobjeto temperado a 37°C, inmediatamente se

homogenizó suavemente y se hizo un extendido fino (frotis), dejando secar por 30 min. Los frotis se observaron en el microscopio con el objetivo de inmersión (1000X) y se cuantificó un total de 100 espermatozoides con el fin de valorar el porcentaje de espermatozoides vivos en la muestra seminal. La proporción de espermatozoides muertos con membranas plasmáticas permeables se tiñen, y sus cabezas se observaban de color rosado en sus diferentes tonalidades, que van desde el rojizo hasta el rosado pálido, en cambio, los espermatozoides vivos presentan las cabezas de color blanco y/o claros, lo cual es producto de que tienen sus membranas plasmáticas intactas, lo cual no permite el paso del colorante. El porcentaje de acrosomas íntegros (PAI) fue valorado mediante la tinción SpermBlue® (Van der Horst y Maree, 2009). Del mismo modo, el procedimiento empleado para realizar el HOST, además de la evaluación de sus resultados se realizó según el protocolo seguido por Quintero-Moreno et al. (2012) para espermatozoides bovinos utilizando una osmolaridad de 102 mOsm/L<sup>-1</sup>. El análisis estadístico fue realizado mediante el paquete estadístico SAS para Windows, Software 8.2 (SAS Inst. Inc.; Carry, NC. EEUU). En primera instancia se valoró la media y el error estándar de todos los parámetros de calidad seminal realizados en cada búfalo, para luego realizar una correlación de Pearson (sin discriminar por reproductor) con el fin de determinar la relación lineal existente entre la prueba HOST con los otros parámetros de valoración de la calidad seminal.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados que describen los valores medios obtenidos y la respuesta de someter la muestra seminal a la prueba HOST y su correlación con otros parámetros que califican la calidad seminal están presentados en la tabla 1 y 2, a excepción del PAI con valores que oscilaron entre 87 y 92%, no mostrando asociación con ninguno de los otros parámetros evaluados. La media de espermatozoides positivos a la prueba de HOST fue 55,8%, observando un valor numérico muy bueno en el búfalo 566 y valores aceptables para los otros cuatro búfalos restantes, tomando en cuenta que la muestra corresponde a semen criopreservado. En cuanto a la motilidad, los resultados muestran la misma tendencia observada en el HOST. La media del PV (70,6%) estuvo dentro de los valores aptos recomendados para semen criopreservado, observando dos búfalos con cifras excelentes. En referencia al estudio de correlaciones estos resultados demuestran que muestras seminales con buen PER ( $p=0,0069$ ) y bajo PEE ( $p=0,0065$ ) a la descongelación están altamente asociadas a una respuesta favorable al HOST. Sin embargo, cabe destacar que no se encontró asociación entre el test y el PMP ( $p=0,78$ ). De la misma manera, se pudo apreciar una asociación positiva entre el PV y la prueba HOST ( $P=0,0278$ ).

Los valores de esta investigación para HOST y PV son muy parecidos a los encontrados en estudios previos (Khan e Ijaz., 2008; Ijaz *et al.*, 2009). Haciendo referencia a la motilidad, sólo se encontró una investigación en semen criopreservado de búfalo donde utilizan el CASA bajo el criterio usado en esta investigación (Sohail et al., 2013) y los resultados son bastante parecidos al nuestro, sin embargo, el PMP en ese experimento fue ligeramente inferior. Estos resultados demuestran una correlación significativa entre el HOST y parámetros como el PV, PER y PEE, hecho que no se logró contrastar al no conseguir investigaciones de este tipo en semen criopreservado de búfalos; sin embargo, en semen fresco de búfalo (Lodhi et al., 2008) o semen criopreservado de toro (Sharma et al., 2012) describen que existe una correlación altamente significativa entre el HOST versus el PV y el PMP cuantificada mediante un técnico experto, lo cual sugiere que la sola medición de alguno de estos parámetros podría aportar información importante sobre el potencial reproductivo de un búfalo. Sin embargo, es importante acotar, que cuando se relaciona alguno de estos parámetros con la fertilidad los resultados son contradictorios. Quintero et al. (2011) encontraron una correlación significativa entre la fertilidad en vacas inseminadas con semen criopreservado de toros y la prueba de HOST, en contraste, Bacinoglu et al. (2008) no lograron demostrarlo.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Bacinoglu, S.; Tas, M.; Cirit, U.; Özdas, Ö. & Ak, k. Anim. Reprod. Sci. 104:38-46. 2008.



- Ijaz, A., Hussain, A., Aleem, M., Yousaf, M.S. & Rehman, H. 2009. *Theriogenology* 71: 1326-1329.
- Jeyendran, R.S., Van der Ven, H.H., Pérez-Pelaez, M. & Crabo, B.G. 1984. *J Reprod Fertil.* 70: 219-228.
- Khan, M.I.R. & Ijaz, A. 2008. *Animal* 2: 548-553.
- Lodhi, L., Zumbair, M., Qureshi, Z., Ahmad, I. & Jamil, H. 2008. *Pakistan Vet J.* 28: 186-188.
- Quintero-Moreno, A., Nava, J., Legones, A., Osorio, C., Rubio-Guillen, J. & González, D. 2012. *Rev Científ. FCV-LUZ.* XXII (Suppl. 1): 82.
- Quintero-Moreno, A., Rubio-Guillén, J., González, D., Gutiérrez, J., Madrid-Bury, N. & Garde, J. 2011. *Rev Científ FCV-LUZ.* XXI (5): 403 – 407.
- Rubio-Guillén, J., González, D., Garde, J.J., Esteso, M., Fernández, M., Rodríguez-Gil J. E., Madrid, N. & Quintero-Moreno, A. 2007. *Reprod Dom Ani.* 42: 354-357.
- Sharma, M., Singh, M., Kapoor, S. & Jasial, S. 2012. *Open Vet J.* 2: 26-31.
- Sohail, A., Andrabi, S., Anwar, M., Ali, L. & Mehmood, A. 2013. *Pakistan Vet J.* 33: 53-56.
- Swanson, E.W. & Bearden, H.J. 1951. *J Anim Sci.* 10: 981-987.
- Van der Horst, G. & Mare, L. 2009. *Biotech Histochem.* 84: 299-308.

**Tabla 1.** Valores (Media±Error Estándar) porcentuales de los parámetros evaluados

Bufalo	Host+ (%)	Motilidad (%)			Vitalidad (%)
		Progresiva	Rápidos	Estáticos	
183	47,0±1,5	34,9±0,9	26,3±0,3	28,7±0,8	59,0±1,7
566	74,2±3,7	39,9±2,6	57,9±3,4	3,4±0,4	78,5±1,9
4119	57,0±3,8	24,5±3,2	25,4±2,1	23,0±1,2	87,0±1,6
4127	49,2±1,3	21,8±0,7	22,4±0,9	32,7±1,1	58,3±1,9
5711	49,2±4,2	33,7±2,4	27,7±3,2	36,4±4,6	63,2±0,7
Media	55,8±2,6	30,5±1,7	32,6±2,8	24,4±2,5	70,6±2,4

**Tabla 2.** Correlación de Pearson entre los diferentes parámetros evaluados

Parámetros	Vitalidad Espermática (%)	HOST+ (%)
Motilidad Progresiva (%)	0,16126	0,08616
Espermatozoides Rápidos (%)	0,39190*	0,58374**
Espermatozoides Estáticos (%)	-0,56098**	-0,58730**
Vitalidad Espermática (%)	-	0,49143*

\* P<0,05. \*\*P<0,01.

## CORRELATION BETWEEN HYPO-OSMOTIC SWEELING TEST (HOST) AND OTHERS PARAMETERS OF SPERM QUALITY IN FROZEN-THAWED MURRAH BUFFALO SEMEN

**ABSTRACT:** The present study was conducted to determine the correlation of Hypo-osmotic swelling test (HOST) with routine sperm evaluation parameters of frozen-thawed semen (FTS) of Murrah buffalos. Percentages of sperm vitality (PV), acrosomal integrity (PAI), progressive motility (PMP) and rapid (PER)/ static (PEE) sperm associated with HOST positive sperm percentage were evaluated in 15 straws of 5 buffalo bulls. One part of FTS was used for the evaluation of sperm motility with Sperm Class analyzer®, while the other part was centrifugated and diluted with Phosphate buffered saline (PBS) to use in the evaluation of others parameters, and HOST preparation (osmolarity: 102 mOsm/L). Statistical analysis revealed a significant correlation between PER (positive, p<0.01), PEE (negative, p<0.01), PV (positive, p<0.05) and percentage of HOST. It was inferred that HOST could be a valuable method for routine evaluation of FTS.

**Keywords:** semen, sperm, HOST, buffalo.

## ESTATUS MITOCONDRIAL Y PRODUCCIÓN DE RADICALES SUPERÓXIDO TRAS LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA POR ANDROCOLL DE ESPERMATOZOIDES DESCONGELADOS DE CIERVO Y DE OVINO

Mata-Campuzano, M., Álvarez-Rodríguez, M., Campillo, I., Palacios-Aguado, A., Fuertes, C., Redondo-Blanco, S., Alonso-Molero, J. y Martínez-Pastor, F.

INDEGSAL, Universidad de León, 24071 León, España. felipe.martinez@unileon.es

### INTRODUCCIÓN

Los bancos de recursos genéticos son básicos tanto para la selección de razas agropecuarias como para la conservación de especies domésticas o silvestres (Roldán et al., 2006; Andrabi y Maxwell, 2007). Si bien los esfuerzos han de centrarse en conservar la mejor calidad posible de las muestras congeladas, existen alternativas de mejora seminal post-descongelación, como los gradientes de selección espermática. Tanto en animales domésticos como silvestres, la técnica se ha usado mayoritariamente para fines de diagnóstico. Otra aplicación, sin embargo, es la de seleccionar sólo espermatozoides más resistentes. Por lo tanto, el principal fin de estos gradientes es el de minimizar el efecto perjudicial de una serie de cambios sufridos por los espermatozoides durante la conservación, como daños oxidativos y envejecimiento prematuro, lo que contribuye a la muerte espermática y a la reducción de la supervivencia de los que resisten el proceso (Watson, 2000).

La utilización de estos gradientes ha supuesto la mejora de la supervivencia espermática, así como la preservación de la integridad del ADN (Morrell et al., 2009), posiblemente mediante la eliminación de radicales libres del medio y la separación de los espermatozoides susceptibles de generarlos. Hay que tener en cuenta que los daños producidos tanto en el proceso de refrigeración como en la congelación han sido relacionados con la generación de estrés oxidativo (Stradioli et al., 2007). Una producción excesiva de estos radicales, no sólo puede causar daños directos debido al estrés oxidativo, sino también por la desregulación de procesos como la capacitación. No obstante, los radicales libres son importantes para la regulación de la fisiología espermática, con lo cual podríamos esperar que los espermatozoides más adecuados fuesen capaces de mantener un cierto nivel de producción de radicales libres.

Por lo tanto, debido a que los radicales libres participan en numerosas vías de señalización intracelular, el presente estudio trata de observar la variación de la presencia del radical superóxido, así como el estatus mitocondrial en espermatozoides de carnero y ciervo rojo, llevar a cabo una centrifugación a través de un gradiente en capa simple, desarrollado específicamente para ovino (Androcoll-O™).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los reactivos generales fueron comprados a Sigma (St. Louis, MO, EE.UU.), y los fluorocromos fueron comprados a Invitrogen (Carlsbad, CA, EE.UU.). Utilizamos dosis seminales de carneros y muestras epididimarias de ciervo, congeladas en medio Tris-citrato-fructosa (20% yema de huevo y glicerol: ovino 4%, ciervo 8%), a  $10^8$  espermatozoides/ml. En cada sesión experimental se descongelaron 3 dosis (37 °C 30 s), que se mezclaron y se diluyeron a  $50 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup> con medio TALP-Hepes. La muestra se dividió entre dos tubos: 40 millones en los tubos de Androcoll-O™ (SLU, Uppsala, Sweden) para su selección y el resto ( $10^7$  ml<sup>-1</sup>) se mantuvo como control. Los tubos con Androcoll-O se centrifugaron a 600xg 20 minutos. La interfase (espermatozoides muertos y dañados) se pasó a otro tubo, y el pellet se ajustó a  $10^7$  ml<sup>-1</sup> con TALP-Hepes.

Inmediatamente después de la selección por Androcoll, se tomó una alícuota de cada tubo y se diluyó a  $10^6$  ml<sup>-1</sup> en PBS para su análisis mediante citometría de flujo. Para determinar la presencia del radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) en las mitocondrias, los espermatozoides se incubaron con 5 µM de *MitoSOX Red*, 100 nM de YOPRO1, para discriminar los espermatozoides muertos/membrana alterada, y 100 nM de *Mitotracker Deep Red*, para determinar la actividad mitocondrial. Los tubos se incubaron 15 min a 37 °C, añadiendo 2,5 µg/mL de Hoechst 33342 para identificar contaminantes (*debris*). El análisis se realizó con un citómetro de flujo CyAn ADP, provisto de tres láseres de diodos (405 nm —violeta—,

488 nm —azul— y 635 nm —rojo—). La fluorescencia fue recogida por fotodetectores provistos de filtros 450/50 (láser violeta, fluorescencia azul: Hoechst 33342), 530/40 (láser azul, fluorescencia verde: YOPRO1), 613/20 (láser azul, fluorescencia roja: ioduro de propidio y MitoSOX) y 665/20 (láser rojo, fluorescencia roja: Mitotracker). El mismo análisis se repitió tras 1 h a 37 °C. Este experimento se replicó 5 veces, y los datos se analizaron con el paquete estadístico R (<http://www.r-project.org>), utilizando modelos lineales de efectos mixtos (efectos fijos: incubación y tratamiento gradiente selección; efectos aleatorios: replicado).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio hemos utilizado dos mediciones diferentes de las funciones mitocondriales: la sonda MitoSOX (figura 1) para evaluar la generación de radical superóxido y el Mitotracker Deep Red para determinar la actividad mitocondrial.

Los espermatozoides de ovino (Tabla 1) proporcionaron una calidad baja tras la descongelación (Control 1 h) pero, gracias a la utilización del gradiente, se obtuvo un incremento significativo para este valor en los espermatozoides seleccionados. Además, la proporción de viables capaces de generar radical superóxido fue significativamente superior. En cambio, la proporción de viables con mitocondrias activas no fue superior en los espermatozoides seleccionados. Todos los parámetros valorados resultaron inferiores en la interfase, mostrando la efectividad del Androcoll para separar los espermatozoides dañados en el proceso de congelación/descongelación. Tras la incubación, las diferencias observadas entre el Control y los espermatozoides seleccionados disminuyeron, no encontrando diferencias significativas.

En las muestras de espermatozoides epididimarios de ciervo rojo (Tabla 2) obtuvimos igualmente una proporción mayor tanto de espermatozoides viables como de viables con las mitocondrias activas. No obstante, en esta especie no obtuvimos un incremento de la proporción de viables con producción alta de superóxido. Tal vez esta diferencia se deba al origen de las muestras (epidídimo) o a una mayor resistencia al proceso de congelación/descongelación, representando esa población de viables con niveles de superóxido altos una fracción estresada de los espermatozoides que han sobrevivido a la descongelación en buenas condiciones (Watson, 2000). La interfase contenía una población con mucha menos viabilidad y mitocondrias activas, aunque la proporción de viables con superóxido alto fue igualmente baja. No obstante, la viabilidad en la interfase fue superior a la observada en ovino. Esto podría indicar que las condiciones del gradiente podrían ser demasiado estrictas, pero la proporción de espermatozoides con mitocondrias activas parece descartar esa posibilidad, sugiriendo más bien que el gradiente realiza una buena separación. Tras la incubación, las diferencias se mantuvieron, pero la calidad siguió siendo superior en las muestras seleccionadas, y la producción de superóxido se mantuvo baja.

Hemos observado claras diferencias entre las dos especies analizadas en este estudio, teniendo en cuenta que los espermatozoides tienen diferente origen para cada especie y que quizá la respuesta en descongelación de los espermatozoides de ovino pueda ser diferente en caso de ser de origen epididimario. Es probable que existan daños sub-letales en los espermatozoides seleccionados de ovino, los cuales se magnifiquen al llevar a cabo la incubación durante 1 h a 37 °C. En cambio, los resultados en ciervo indican una mejor resistencia a la incubación, no solo de los seleccionados, sino también del control.

Por lo tanto, el coloide Androcoll-O™ sería una buena opción para realizar la selección de espermatozoides descongelados de pequeños rumiantes. Nuestros resultados indican un efecto muy favorable en espermatozoides epididimarios de ciervo y unos resultados ambiguos en los de ovino, atendiendo a la producción de superóxido y a la poca resistencia a la incubación. Es posible que en ovino los espermatozoides sean más vulnerables a la dilución, centrifugación e incubación, indicando que habría que mejorar los protocolos de criopreservación. En conclusión, el Androcoll-O™ permite seleccionar una subpoblación con unos parámetros fisiológicos de calidad mejorados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrabi, S. M. H., Maxwell, W. M. C. 2007. *Anim Reprod Sci* 99: 223-243.
- Morrell, J.M., Dalin, A.M., Rodríguez-Martínez, H. 2009. *Equine Vet J* 41: 53-58.
- Roldan, E. R. S., Gomendio, M., Garde, J. J., Espeso, G., Ledda, S., Berlinguer, F., del Olmo, A., Soler, A. J.,

Arregui, L., Crespo, C., González, R. 2006. *Reprod Domest Anim* 41 Suppl. 2: 82-92. • Stradioli, G., Noro, T., Sylia, L., Monaci, M. 2007. *Theriogenology* 67: 1249-1255. • Watson P.F. 2000. *Anim Reprod Sci* 60–61: 481-492.

**Agradecimientos:** Financiado en parte por AGL2010-15758 (MICINN) y LE019A10-2 (Junta de Castilla y León). F. Martínez Pastor es beneficiario de un contrato del programa Ramón y Cajal (RYC-2008-02560, MICINN, España).

**Tabla 1.** Proporción de espermatozoides descongelados de carnero en distintas poblaciones (Viabiles: YO-PRO-1-;  $O_2^-$  alto/bajo: viabiles con fluorescencia de MitoSOX alta/baja (nivel de superóxido alto/bajo); MT+/-: viabiles con fluorescencia de Mitotracker alta/baja (mitocondrias activas/inactivas). Diferentes letras indican diferencias significativas en cada fila de datos.

	0 h			1 h	
	Control	Interfase	Seleccionados	Control	Seleccionados
Viabiles	29,0±0,4a	8,0±1,3b	50,3±5,6c	11,2±1,6	15,11±3,4
$O_2^-$ alto	11,5±3,0a	2,7±1,9b	24,7±2,6c	4,4±1,6	5,13±1,6
$O_2^-$ bajo	17,4±2,6a	5,0±2,5b	25,7±8,0 <sup>a</sup>	6,8±3,1	9,98±4,7
MT+	18,8±2,7a	4,9±0,4b	28,4±7,6 <sup>a</sup>	7,5±0,9	9,86±4,3
MT-	10,0±2,4a	3,3±1,2b	21,7±2,6c	3,8±1,0	5,23±0,9

**Tabla 2.** Proporción de espermatozoides descongelados de ciervo rojo en distintas poblaciones (Viabiles: YO-PRO-1-;  $O_2^-$  alto/bajo: viabiles con fluorescencia de MitoSOX alta/baja (nivel de superóxido alto/bajo); MT+/-: viabiles con fluorescencia de Mitotracker alta/baja (mitocondrias activas/inactivas). Diferentes letras indican diferencias significativas en cada fila de datos.

	0 h			1 h	
	Control	Interfase	Seleccionados	Control	Seleccionados
Viabiles	56,7±2,95a	38,0±2,1b	86,4±1,3c	31,7±3,2 <sup>a</sup>	53,7±3,7b
$O_2^-$ alto	4,6±0,64	6,8±1,1	7,4±2,2	6,2±0,7	4,6±1,0
$O_2^-$ bajo	52,1±3,42a	31,2±2,2b	78,9±3,5c	25,5±3,8 <sup>a</sup>	49,1±4,2b
MT+	24,0±2,30a	5,9±2,3b	49,5±3,2c	20,0±1,5 <sup>a</sup>	33,7±2,6b
MT-	32,8±4,87	32,7±2,4	36,8±2,2	11,7±2,2	20,1±4,5

## MITOCHONDRIAL STATUS AND ROS PRODUCTION AFTER ANDROCOLL SELECTION OF THAWED RAM AND RED DEER SPERM

**ABSTRACT:** Genome resource banks are the base for domestic and wild species genetic selection, so it is important to focus in achieving the highest quality on the samples we preserve. Although that is not always possible we have alternatives to improve post-thawing semen quality such as sperm selection gradients. They aim to minimize the damage that cryopreservation causes in the sperm cells. In this study we have tested the Androcoll single layer centrifugation gradient with the objective of observing its utility on post-thaw semen samples of ram and red deer within an hour of incubation at 37 °C. We have also tested the presence of mitochondrial superoxide with the fluorescent probe MitoSOX. We use a pool of 3 males from each species. The gradient increased significantly the quality of the post-thawed samples, obtaining a higher number of active mitochondria on the selected population compared to the control. Regarding the incubation we found differences between the species. For red deer samples we found a significant improvement in viability and active mitochondria results that we did not found with the ram samples after 1 hour of incubation.

**Keywords:** ram, red deer, Androcoll, MitoSOX.

## **EFFECTO DEL HIDROXITOLUENO BUTILADO EN LA CRIOPRESERVACIÓN ESPERMÁTICA DE OVINOS Y CAPRINOS CON O SIN IMPLANTES DE MELATONINA**

Tabarez, A., García, W. y Palomo, M.J.

Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona. España. mariajesus.palomo@uab.cat

### **INTRODUCCIÓN**

Para contrarrestar los efectos negativos del fotoperiodo creciente es muy habitual el uso de implantes de melatonina. En el caso concreto del macho, la aplicación de este tipo de implantes incrementa el diámetro testicular (García Pastor *et al.*, 2004) y la capacidad fecundante (Palacín *et al.*, 2006), además de mejorar la congelabilidad del semen (Kaya *et al.*, 2001). De hecho, la melatonina ha sido utilizada recientemente como antioxidante en el medio de congelación de semen de búfalo, determinándose una mejora de la calidad espermática tras el proceso de congelación-descongelación (Li *et al.*, 2012). Como ya se ha descrito en numerosos trabajos, los procedimientos relacionados con la congelación producen *shock* por frío y ataque oxidativo reduciendo la calidad del semen posdescongelación (Bucak *et al.*, 2009). La membrana plasmática del espermatozoide de los mamíferos presenta altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, lo que la hace muy susceptible a la formación de radicales libres induciendo daño peroxidativo, especialmente después de la criopreservación con la subsecuente pérdida de las funciones espermáticas (Lenzi *et al.*, 2002). La suplementación del medio de criopreservación con antioxidantes puede mejorar la calidad del semen frente al daño inducido por los radicales libres (Memon *et al.*, 2012). El hidroxitolueno butilado (BHT) es un análogo sintético de la vitamina E que ha sido utilizado en los últimos años en diferentes especies demostrando su capacidad para reducir el estrés oxidativo ocasionado por el proceso de criopreservación en los espermatozoides (Memon *et al.*, 2011). En este sentido, el presente estudio pretende valorar el efecto de la adición de BHT en los medios de congelación sobre la viabilidad espermática, dentro y fuera de la época reproductiva, junto a la aplicación o no de implantes subcutáneos de melatonina en ovinos y caprinos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Este estudio se realizó en tres épocas del año 2012: invierno (2 al 25 de enero), primavera (15 de mayo al 12 de junio) y otoño (4 al 20 de diciembre) entre el IRTA de Torre Marimon, donde están alojados los sementales y la UAB, donde se procesan y analizan las muestras seminales. Para ello, se utilizaron 14 machos jóvenes: 6 machos cabríos de la raza Blanca de Rasquera y 8 moruecos (4 de la raza Aranese y 4 de la raza Xisqueta). En primavera, los animales se dividieron aleatoriamente en dos grupos en ambas especies. A los individuos de uno de los grupos se les colocaron implantes subcutáneos de melatonina 60 días antes de iniciar la recogida de semen, insertando 3 implantes en los moruecos y 2 en los machos cabríos siguiendo las instrucciones del fabricante (Melovine® CEVA Santé Animale, Francia). Al otro grupo de animales en ambas especies no se les aplicó ningún tratamiento específico. Posteriormente, se procedió a la recogida de 2 eyaculados/macho mediante vagina artificial a un ritmo de extracción de 2 días/semana. Con el fin de minimizar el efecto individual del donante, los eyaculados procedentes de cada grupo de animales se mezclaron en función del grupo experimental en ambas especies. A continuación, el semen fue diluido (1:5) en medio TGC (300 mM Tris, 28 mM glucosa, 95 mM ácido cítrico), lavado dos veces mediante centrifugación a 600 g durante 10 minutos y resuspendido (1:4) en el medio de congelación correspondiente (con o sin BHT) en un solo paso, dando lugar a 4 tratamientos. La composición de los diluyentes era la siguiente: Diluyente TGC y Diluyente TGC+5 mM BHT; ambos medios contenían una concentración final de 15% de yema de huevo en polvo y 5 % (v/v) de glicerol, penicilina sódica 1000 UI y sulfato de estreptomina 1 mg/ml. Una vez diluido, las alícuotas de semen se colocaron en un recipiente con agua a 20°C y se mantuvieron a 5°C durante 4 horas.

Transcurrido este tiempo, las muestras fueron envasadas en pajuelas de 0,25 ml y congeladas en vapores de nitrógeno a 5 cm sobre la superficie del nitrógeno líquido durante 10 minutos antes de ser sumergidas en el nitrógeno. El análisis espermático se realizó a las 4 horas de refrigeración e inmediatamente después de la descongelación (37°C durante 60 s), el cual consistió en la determinación de la viabilidad espermática mediante la tinción de eosina-nigrosina. Los resultados fueron analizados por medio del procedimiento GLM utilizando un diseño factorial y la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey (SPSS 20).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos de la adición de BHT en el medio de congelación y de la aplicación de implantes de melatonina en los donantes ovinos y caprinos sobre la viabilidad espermática se presentan en la tabla 1. No se observaron diferencias entre tratamientos (con y sin la inclusión de BHT) para la viabilidad del semen de ovino y caprino, tanto refrigerado como descongelado, en ninguna época del año, así como tampoco en ninguno de los grupos de animales (implantados y no implantados) durante la primavera. Solamente se observó un efecto negativo de la aplicación del implante de melatonina en el caso del semen de caprino refrigerado en el medio con BHT sobre la viabilidad espermática ( $P < 0,01$ ), aunque este efecto perjudicial desapareció tras la descongelación. Estos resultados son bastante desconcertantes ya que no se pudo observar el efecto beneficioso de los implantes de melatonina reportado por autores como Kaya *et al.* (2001). Tampoco la inclusión de BHT parece tener un claro efecto, a pesar de observarse una cierta mejora en la viabilidad post-descongelación en otoño, ésta no fue estadísticamente significativa. Varios autores han descrito que la inclusión de BHT en el medio de congelación mejora la viabilidad de los espermatozoides conservados, tanto refrigerados como congelados-descongelados (Khalifa *et al.*, 2008; Memon *et al.*, 2011), aunque algunos sugieren la existencia de una cierta interacción entre la concentración de BHT y la proporción de yema de huevo utilizada en los medios de conservación, lo que podría explicar nuestros pobres resultados. Sin embargo, a pesar de no observarse un efecto de los tratamientos (con o sin la inclusión de BHT), al comparar los resultados obtenidos en tres épocas distintas del año, sí se observaron diferencias ( $P < 0,0001$ ). Estas diferencias podrían deberse más a la edad de los machos que no a la época del año en sí, ya que son animales todavía jóvenes (14, 18 y 24 meses en invierno, primavera y otoño respectivamente). Lo mismo podría decirse en el caso del semen descongelado de caprino, aunque el efecto de la edad no sea tan marcado debido tal vez a una mayor precocidad para alcanzar su madurez reproductiva, junto con una menor sensibilidad al fotoperiodo o un posible efecto de la raza. No obstante, actualmente estamos analizando la motilidad espermática de estas dosis crioconservadas mediante el sistema informatizado ISAS V.1.2® (PROISER, España) para confirmar los resultados y poder determinar la utilidad o no tanto del BHT como de los implantes de melatonina en la crioconservación seminal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bucak M.N., Tuncer P.B., Sariözkan S., Ulutaş P.A., Çoyan K., Başpınar N. & Özkalp B. 2009. *Res Vet Sci.* 87: 468-472 • García Pastor, I., González, J.M., Figueras, I., Callejas, M., Cebrían, I.M. & Espada, M. 2004. *SEOC* 29, 149-151 • Kaya, A., Aksoy, M., Başpınar, N., Yıldız, C. & Ataman, M.B. 2001. *Reprod. Domest. Anim.* 36:211-215 • Khalifa, T.A.A., Lymberopoulos, A.G. & El-Saidy, B.E. 2008. *Reprod. Dom. Anim.* 43:525-530 • Lenzi, A., Gandini, L., Lombardo, F., Picardo, M., Maresca, V., Panfili, E., Tramer, F., Boitani, C. & Dondero F. 2002. *Contraception.* 65: 301-304 • Li, X.X., Yang, X.G., Lu, Y.Q., Lu, S.S., Zhang, M., Yao, H.L., Meng, L.J. & Lu, K.H. *Reprod. Dom. Anim.* 2012. 47:299-307 • Memon, A.A., Wahid, H., Rosnina, Y., Goh, Y.M., Ebrahimi, M. & Nadia, F.M. *Reprod. Dom. Anim.* 2012 • Memon, A.A., Wahid, H., Rosnina, Y., Goh, Y.M., Ebrahimi, M., Nadia, F.M. & Audrey G. *Anim. Reprod. Sci.* 2011. 129:44-49 •

Palacín, I., Abecia, J.A., Forcada, F., Casao, A., Cebrián-Pérez, J.A., Muño-Blanco, T., Palacios, C., Pontes, J.M., García, M.F. & Pontes García J.M. 2006. SEOC 31, 355-357.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado por el INIA (RZ2009-00008-00-00), la Generalitat de Catalunya (2009SGR0621 y CUR-DIUE), el Fondo social Europeo y la Fundación Carolina.

**Tabla 1.** Efecto del hidroxitolueno butilado (BHT) en el medio de congelación y la aplicación de implantes de melatonina en caprino y ovino sobre la viabilidad espermática.

		CAPRINO				OVINO			
		Refrigerado		Descongelado		Refrigerado		Descongelado	
		SM	CM	SM	CM	SM	CM	SM	CM
A	Sin BHT	76,8±2,6 <sup>a</sup>	-	40,7±4,1 <sup>a</sup>	-	52,6±4,9 <sup>a</sup>	-	23,5±2,2 <sup>a</sup>	-
	Con BHT	81,1±2,8 <sup>a</sup>	-	40,8±2,8 <sup>a</sup>	-	53,1±4,0 <sup>a</sup>	-	24,8±1,5 <sup>a</sup>	-
	Sin BHT	89,0±1,0 <sup>bde</sup>	82,4±1,5 <sup>ef</sup>	57,9±4,3 <sup>b</sup>	53,2±3,6	77,8±2,1 <sup>b</sup>	76,2±2,2	41,0±5,6 <sup>b</sup>	35,7±5,8
B	Con BHT	90,1±1,7 <sup>bd</sup>	78,9±2,7 <sup>f</sup>	60,1±2,2 <sup>b</sup>	51,9±2,4	77,6±2,5 <sup>b</sup>	76,7±1,8	40,9±4,1 <sup>b</sup>	36,9±5,1
	Sin BHT	-	-	45,5±4,7 <sup>ab</sup>	-	-	-	34,0±5,0 <sup>b</sup>	-
	Con BHT	-	-	55,1±4,7 <sup>ab</sup>	-	-	-	42,5±2,2 <sup>b</sup>	-

ab: Diferente letra en la columna indica diferencia estadística (P<0,0001)

def: Diferente letra en la columna y en la fila indica diferencia estadística (P<0,01)

A: Invierno, B: Primavera, C: Otoño; SM: Sin melatonina, CM: Con melatonina

#### EFFECT OF BUTYLATED HYDROXYTOLUENE IN CONSERVATION OF RAMS AND GOATS SEMEN WITH OR WITHOUT MELATONIN IMPLANTS

**ABSTRACT:** The aim of this study was to assess the effect of the inclusion of 5 mM of butylated hydroxytoluene (BHT) outside and inside of the breeding season and the application of melatonin implants on sperm quality in rams and goats. We used 6 Blanca de Rasquera bucks and 8 rams, 4 Aranesa and 4 Xisqueta breeds. The animals were divided into two groups with and without implants of melatonin inserted 60 days before semen collection by artificial vagina. Two ejaculates/day for 2 days/week were collected and mixed according to the experimental group, washed by centrifugation (twice for 10 min at 600g) and re-suspended in freezing medium with or without BHT (5 mM) supplemented with a final concentration of 15% powdered egg yolk and 5% glycerol in a Tris-based medium and refrigerated for 4 hours at 5 °C before freezing. Sperm viability after refrigeration and thawing was determined by eosine-nigrosine stain, no showing differences between treatments in any of the species. Curiously, only on goat sperm chilled in BHT medium, the viability was higher (P<0.01) in animals without that with melatonin implant. However, the time of year had an effect in both species possibly due to the age of the males.

**Keywords:** small ruminant, sperm, BHT, melatonin implants.

## EFFECTO DEL TIPO DE YEMA DE HUEVO, ELIMINACIÓN DEL PLASMA SEMINAL Y EDAD DEL DONANTE EN LA CRIOCONSERVACIÓN DE SEMEN OVINO DE LAS RAZAS XISQUETA, ARANESA Y CAPRINO DE LA RAZA BLANCA DE RASQUERA

García<sup>1</sup>, W., Tabarez<sup>1</sup>, A., Terre<sup>2</sup>, M., Ferrando<sup>3</sup>, A., Jordana<sup>3</sup>, J. y Palomo<sup>1</sup>, M.J.

<sup>1</sup> Dpto. Medicina y Cirugía animal. Universidad Autónoma de Barcelona

<sup>2</sup> Unidad de Rumiantes. Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentaria, (IRTA)

<sup>3</sup> Dpto. Ciencia Animal y de los Alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona, España

[Wilberg24@hotmail.com](mailto:Wilberg24@hotmail.com)

### INTRODUCCIÓN

Las razas de ovino Xisqueta y Aranesa y de caprino Blanca de Rasquera son razas en peligro de extinción, por lo que la congelación del semen sería de gran ayuda para su conservación. Sin embargo, el proceso de congelación y descongelación induce efectos perjudiciales, resultando en una reducción de la viabilidad, motilidad y capacidad fecundante de las dosis crioconservadas (Salomon y Maxwell, 2000). Durante años la yema de huevo fresca ha sido utilizada en los diluyentes para congelar semen (Salomon y Maxwell, 2000). De hecho, la inclusión de la fracción rica en lipoproteínas de baja densidad (LDL) de la yema de huevo obtenida mediante su centrifugación a alta velocidad ("Yema Clarificada") parece presentar prometedoras cualidades para la crioconservación espermática en rumiantes (Moussa *et al.*, 2002; Tonieto *et al.*, 2010). Sin embargo, la heterogeneidad de la composición entre lotes de huevos y el riesgo de contaminación microbiológica hacen que la posibilidad de utilizar un sustituto a la yema de huevo siga siendo deseable. La yema de huevo en polvo podría ser una alternativa, ya que este producto es pasteurizado (Thibier y Guerin, 2000) y los lotes tienen una composición más homogénea. El presente trabajo pretende valorar el efecto de diferentes tipos de yema de huevo (fresca, en polvo y clarificada) sobre la viabilidad de los espermatozoides tras la crioconservación, así como la eliminación del plasma seminal y la edad del donante.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 moruecos y 6 machos cabríos, a los que se les recogió semen con vagina artificial 2 días/ semana y 2 eyaculados/día en otoño durante dos años consecutivos, a la edad de uno y dos años. Los eyaculados de cada especie se mezclaron en un solo tubo (*pool*) y se dividió en dos alícuotas. Una de ellas se diluyó (1:5) con una solución compuesta por 0,3 M Tris, 27,75 mM Glucosa, 94,7 mM Acido Cítrico (TCG) y se centrifugó a 600xg durante 10 min' por dos veces, mientras que el semen de la otra alícuota no fue lavado. Las alícuotas del semen lavado y no lavado en cada especie se diluyeron con el mismo medio anterior (TGC) más glicerol a una concentración final del 5% y antibióticos (1000 UI/ml de penicilina benzatinica y 1,0 mg/ml de sulfato de estreptomicina) (Salomon y Maxwell, 2000) y un suplemento de uno de los 3 tipos de yema de huevo. En los espermatozoides ovinos lavados y no lavados, al diluyente se le agregó a una concentración final del 15 % (v/v) de yema de huevo fresco (YHF), yema de huevo en polvo (YHP) o yema de huevo clarificada (YHC), fracción sobrenadante de la yema de huevo fresco tras una doble centrifugación a 12000xg durante 45 min a 5°C. En los espermatozoides caprinos lavados, se les agregó cada uno de los 3 tipos de yema de huevo al 15% (v/v), mientras a los espermatozoides no lavados se les añadió la yema de huevo en un 2% (v/v). Una vez diluido, las alícuotas de semen se colocaron en un recipiente con agua a 20 °C y se mantuvieron a 5°C durante 4 hs. Las muestras fueron envasadas en pajuelas de 0,25 ml a una concentración de 400x10<sup>6</sup> espermatozoides/ml y congeladas en vapores de nitrógeno antes de ser sumergidas en el nitrógeno. El análisis espermático de viabilidad se realizó después de la descongelación (37°C durante 60 s), mediante la tinción de eosina-nigrosina. Los datos fueron analizados en un diseño factorial (2x2x3) en el programa SAS ver. 9.1 (2008) con GLM, comparación de medias test Duncan.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el efecto de la capacidad crioprotectora de cada tipo de yema de huevo en el diluyente, sobre la viabilidad del semen procedente de animales de 1 y 2 años de edad se



observó que en el caso de los espermatozoides ovinos, este factor (tipo de yema) y sus interacciones con los otros factores como la edad y/o el hecho de lavar no fueron significativos, mientras la edad ( $p < 0,0001$ ), el lavado ( $p < 0,0001$ ) y la interacción de ambos factores edad\*lavado ( $p < 0,01$ ) sí lo fueron. Tal y como se muestra en la tabla 1, la eliminación del plasma seminal mediante el lavado en animales de 1 año no produjo un efecto significativo, aunque se aprecia cierta tendencia, mientras que en espermatozoides procedentes de estos mismos animales a los 2 años de edad el efecto fue más evidente ( $p < 0,001$ ), a pesar de que el tipo de yema de huevo siguió sin afectar la supervivencia en el caso de los espermatozoides lavados. Así mismo al comparar el efecto edad, se observa una mayor viabilidad espermática en animales de 2 años cuando los espermatozoides son lavados y conservados en cualquiera de los 3 tipos de yema de huevo o incluso en el caso de no ser lavados pero crioconservados con yema de huevo en polvo respecto a los mismos tratamientos con espermatozoides de animales de un año. En los machos cabríos al analizar los factores como la edad ( $p < 0,005$ ) y el tratamiento ( $p < 0,001$ ) ambos fueron significativos, aunque no hubo interacción entre ellos. No obstante, el efecto de la edad sólo se observó cuando no se eliminó el plasma seminal, independientemente del tipo de yema de huevo utilizada, siendo mayor la viabilidad post-descongelación en animales de 2 años de edad (Tabla 2). De hecho, respecto al efecto del tratamiento, los mejores resultados se obtuvieron cuando el plasma seminal era eliminado y los espermatozoides fueron conservados con un 15% de yema de huevo, independientemente del tipo y en ambas edades. El análisis de los datos obtenidos en ambas especies sugiere que la yema de huevo en polvo al 15% proporciona porcentajes de viabilidad similares a los proporcionados por la yema de huevo fresco o clarificado, resultados que parecen coincidir con los de Marco-Jiménez *et al.* (2004), lo que sugiere que la yema de huevo en polvo puede substituir la yema de huevo fresca en los diluyentes para la congelación espermática en pequeños rumiantes. Por otra parte, también se ha hecho muy evidente el beneficio de eliminar el plasma seminal en la conservación espermática, tanto en ovino como especialmente en caprino, independientemente de la edad. De hecho, la eliminación o no del plasma sigue siendo un tema controvertido, ya que si bien el plasma seminal tiene efectos positivos sobre la motilidad, viabilidad y fertilidad de los espermatozoides (Watson 1981; Moore *et al.*, 2005), también parece tener efectos perjudiciales según la cantidad y naturaleza química del mismo, la cual está influenciada por las condiciones fisiológicas, patológicas y/o externas, pudiendo afectar a su vez la calidad espermática tras la congelación-descongelación (Maxwell *et al.*, 2007; Muiño-Blanco *et al.*, 2008).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Marco-Jiménez, F., Puchades, S., Moce, E., Viudes-de-Castro, M.P., Vicente, J.S. & Rodríguez M. 2004. *Reprod Domest Anim* 39:438–41. • Moussa, M., Matinet, V., Trimeche, A., Tainturier, D. & Anton, M. 2002. *Theriogenology* 57:1695–706. • Maxwell, W.M.C., El-Hajj Ghaoui, R. & Evans, G., 2007. 7th International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants 64:13–37. • Moore, A.I., Squires, E.L. y Graham, J.K., 2005. *Theriogenology* 63:2372–2381. • Muiño-Blanco, T., Perez-Pe, R. y Cebrian-Perez, J.A., 2008. *Reprod Domest Anim* 43:18–31. • Salamon, S., Maxwell, W. 2000. *Anim Reprod Sci* 62: 77–111. • Tonieto, R., Goularte, K., Gastal, G., Schiavon, R. y Deschamps, J. 2010. *Small RumRes* 93: 206–209. • Thibier, M. y Guerin, B., 2000. *Anim Reprod Sci* 62: 233–251. • Watson, P.F., 1981. Academic Press, London, pp. 189–218.

**Agradecimientos:** Este trabajo está financiado por el INIA (RZ2009-00008-00-00 y la Generalitat de Catalunya (2009SGR0621 y CUR-DIUE).

**Tabla 1.** Efecto de la edad del morueco, la eliminación o no del plasma seminal y tipo de yema de huevo como crioprotector en la viabilidad espermática durante la conservación

Tratamiento	n	1 año (media ±SEM)	n	2 años (media ±SEM)	Valor de p
YHFL	6	36,16 ± 3,5	6	54,47 ± 7,1 <sup>ab</sup>	0,05
YHPL	6	35,27 ± 5,7	6	59,94 ± 1,2 <sup>a</sup>	0,0017
YHCL	6	34,45 ± 4,3	6	59,04 ± 2,6 <sup>a</sup>	0,0007
YHFS	6	27,53 ± 4,3	6	38,35 ± 3,7 <sup>dc</sup>	0,08
YHPS	6	26,41 ± 2,5	6	45,25 ± 2,9 <sup>bc</sup>	0,0007
YHCS	6	29,72 ± 3,8	6	32,18 ± 3,9 <sup>d</sup>	0,66

<sup>a-d</sup> Letras diferentes dentro de la misma columna muestran diferencia significativa ( $p < 0,001$ )  
YHFL: espermatozoides (spz) lavados y conservados en yema de huevo (YH) fresco, YHPL: spz lavados y en YH en polvo, YHCL: spz lavados y en YH clarificado, YHFS: spz sin lavar y en YH fresco, YHPS: spz sin lavar y en YH en polvo, YHCS: spz sin lavar y en YH clarificado.

**Tabla 2.** Efecto de la edad del macho cabrío, la eliminación o no del plasma seminal y tipo de yema de huevo como crioprotector en la viabilidad espermática durante la conservación.

Tratamiento	n	1 año (media ±SEM)	n	2 años (media ±SEM)	Valor de p
YHF15%	6	48,05 ± 5,8 <sup>a</sup>	6	52,07 ± 3,8 <sup>a</sup>	0,57
YHC15%	6	45,67 ± 6,3 <sup>a</sup>	6	54,80 ± 4,8 <sup>a</sup>	0,28
YHP15%	6	42,27 ± 2,8 <sup>a</sup>	6	48,00 ± 6,4 <sup>a</sup>	0,43
YHF2%	6	5,98 ± 1,2 <sup>b</sup>	6	16,85 ± 1,6 <sup>b</sup>	0,0003
YHC2%	6	4,40 ± 1,8 <sup>b</sup>	6	16,92 ± 2,9 <sup>b</sup>	0,0045
YHP2%	6	3,02 ± 1,1 <sup>b</sup>	6	10,13 ± 3,3 <sup>b</sup>	0,0005

<sup>a-b</sup> Letras diferentes dentro de la misma columna muestran diferencia significativa ( $p < 0,001$ )  
YHF15%: espermatozoides (spz) lavados y conservados en yema de huevo (YH) fresco al 15%, YHC15%: spz lavados y en YH clarificado al 15%; YHP15% spz lavados y en YH en polvo al 15%, YHF2%: spz sin lavar en YH fresco al 2%, YHC2%: spz sin lavar en YH clarificado al 2%; YHP2%: spz sin lavar en YH en polvo al 2%.

### EFFECT OF TYPE OF EGG YOLK, PRESENCE OF SEMINAL PLASMA AND DONOR AGE ON SPERM CRYOPRESERVATION FROM XISQUETA, ARANESA OVINE AND BLANCA DE RASQUERA CAPRINE BREEDS

**ABSTRACT:** The objective was to assess the effect of type of egg yolk (EY), presence or not of seminal plasma (sperm washing) and donor age on sperm viability post-thawing. Semen was collected from 8 rams and 6 bucks for two consecutive years, at the age of 1 and 2 years, respectively. Ejaculates of each species was mixed and divided into two aliquots, one was diluted in a Tris-based medium and centrifuged twice at 600xg for 10 minutes, while the other aliquot was not washed. Washed and unwashed ram as washed goat sperm was diluted in a freezing media supplemented with a final concentration of 15% of EY (fresh, powdered or clarified) and 5% of glycerol, meanwhile unwashed goat sperm was diluted in the same media but with 2% of EY. The results showed that in ram sperm, factors such as donor age ( $p < 0,001$ ), sperm washing ( $p < 0,001$ ) and the interaction of both factors ( $p < 0,01$ ) were significant, while the type of EY factor and its interactions of age and washing were not. In goats, factors as the donor age ( $p < 0,05$ ) and sperm treatment (washed sperm+15% EY *versus* unwashed sperm+2%EY) ( $p < 0,001$ ) were significant, whereas there was no interaction between treatment and age.

**Keywords:** type of egg yolk, cryopreservation, ram, buck, sperm.

## **INTEGRIDAD DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES RECIÉN COLECTADOS DE OVINOS EN CONDICIONES DE TRÓPICO SECO**

Rubio-Guillén, J., Portillo-Guevara, O., Montero, M., Velásquez, A., Zalahne W., González-Villalobos, D., Torres-Rodríguez, P. y Quintero-Moreno, A.

Unidad de Investigación en Producción Animal (UNIPA). Facultad de Ciencias Veterinarias-LUZ. Apdo. 15252, Maracaibo 4005-A, Venezuela. jorge.rubio@fcv.luz.edu.ve

### **INTRODUCCIÓN**

La integridad de la membrana plasmática (MP) es fundamental para el metabolismo espermático e imprescindible para la fecundación (Rubio et al., 2009). Esta participa en el reconocimiento y transporte de moléculas, con funciones que permiten la adaptación metabólica del espermatozoide al medio circulante, proporcionándole, un sistema molecular para el reconocimiento del oocito. De aquí deriva que la evaluación estructural del espermatozoide hace énfasis en la valoración de la integridad de su MP, así como también la membrana acrosomal (MA); pudiendo en algunos casos evaluarlas juntas o por separado mediante tinciones sencillas en microscopio óptico (Zhu y Liu, 2000).

Es bien sabido también que la criopreservación seminal afecta la integridad de estas membranas, produciendo efectos deletéreos que menoscaban la funcionalidad espermática (Rubio et al., 2009). Por tal razón, la integridad estructural y funcional de la MP y MA antes del proceso criogénico debe mostrarse incólume en ejemplares destinados a Inseminación Artificial (IA), para no sumar al daño subletal producido por la congelación un efecto previo por falta de adaptabilidad a condiciones de manejo del semen recién colectado, para que éste pueda predecir eficientemente la congelabilidad de muestras destinadas a IA.

Particularmente, razas de ovinos tropicales como la West African (WA), y mestizos como el Santa Inés-West African (SI-WA) han mostrado adaptación a las condiciones extensivas de sistemas productivos y reproductivos de Venezuela, obteniéndose eyaculados frescos con aceptable calidad espermática desde la pubescencia (Villasmil et al., 2011). Sin embargo, la validación del rendimiento reproductivo en ovinos bajo condiciones de trópico seco no está bien documentada, más aún si se habla de animales mestizos utilizados comúnmente en Centros de IA ovino. Por la razón antes citada, en este estudio se pretende caracterizar la integridad estructural y funcional de la MP y MA de espermatozoides ovinos, valorando para tal fin: la vitalidad (%Vivos), los acrosomas alterados (DAR) y la respuesta a las pruebas HOS-t y HOST/Eosina-Nigrosina (Inclusión de tinción supra-vital al test original).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

En este ensayo fueron colectados seriadamente, mediante vagina artificial, los eyaculados de 10 ovejoes adultos (5 WA y 5 mestizos SI-WA) mantenidos en condiciones de trópico seco y pertenecientes al Centro Experimental de Producción Animal (CEPA) de la Universidad del Zulia, en Venezuela. Se efectuaron pruebas de valoración de la integridad estructural (Eosina-Nigrosina: EN, y DAR) y funcional (HOS-t) de la MP con el objetivo de contrastar los resultados de valoración seminal entre estos dos grupos raciales del trópico venezolano. Para esta evaluación, se tomaron 10 µl de semen fresco sobre una platina termorregulable (Osaka, OK 51, España) a 37°C, se mezclaron suavemente con 10 µl del colorante EN para realizar un frotis donde se evaluó el %Vivos y %DAR. Para la valoración de la funcionalidad de la MP, se utilizó el test HOS-t y HOST-EN. En ambas pruebas se incubó en un Baño María (YCW-035, Taiwán) a 37°C una alícuota de 50 µl de semen diluido en 500 µl de cloruro de sodio a 154 mOsm/l durante 30 minutos. En el primer caso (HOS-t), se observaron las reacciones positivas al test, verificando los flagelos espermáticos enrollados parcial o totalmente. Para el segundo caso, se hizo una pequeña modificación del test original y se tomó 10 µl para realizar la tinción de EN (Quintero et al., 2012), luego en un microscopio óptico y utilizando el objetivo de inmersión se contabilizaron 200 espermatozoides por muestra que presentaran la condición de no teñidos (Vivos) y

reaccionados a la hiposmosis. Las variables evaluadas (Vivos, DAR, HOS-t, HOST-EN), se analizaron utilizando el Procedimiento GLM del SAS. Cuando se hallaron diferencias, se cuantificó el efecto con el Test de separación de medias Duncan.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La integridad estructural y funcional de MP y MA se observa notoriamente en cuatro parámetros de valoración de estas membranas (%Vivos, %DAR, %HOS-t, %HOST-EN) (Tabla 1). Aunque retrospectivamente se conoce que los resultados de estos cuatro parámetros de evaluación seminal no siempre están correlacionados con la predicción de congelabilidad o inclusive con la fertilidad (Rubio et al., 2009), a menos que el daño que presenten los espermatozoides sea muy importante (Rodríguez-Martínez, 2003).

Los resultados demostraron que los grupos raciales evaluados presentaron características similares al valorar la integridad estructural y funcional de la MP. Para la funcionalidad de la MP mediante HOS-t, ambos grupos fueron similares en respuesta al cambio osmótico (WA: 58,89% vs SI-WA: 55,86%.  $P>0,05$ ). La integridad de la MP y MA reflejan viabilidad espermática, y en el semen recién colectado es idóneo que las muestras posean una excelente calidad e integridad de estas membranas, ya que sumado a la exteriorización del semen hay que adicionar el daño por la criopreservación que afecta estas estructuras, ocasionando fallas como hinchamiento y disrupción de las mismas, que pueden inducir una capacitación espermática anticipada y/o reacción acrosómica, produciéndose un daño subletal que afectará la fertilidad de muestras destinadas a IA (Tartaglione y Ritta, 2004). Así mismo, en cuanto a la integridad estructural valorada mediante EN (%Vivos) y contabilizando los DAR, al comparar los ejemplares WA con los mestizos SI-WA no se encontraron diferencias ( $P>0,05$ ) en ambas variables estudiadas. Aunque al contabilizar sus DAR, hubo una tendencia numérica a favor de los WA frente a sus coetáneos SI-WA ( $P=0,06$ ). Se conoce que cambios osmóticos pueden producir efectos perjudiciales sobre las muestras seminales incubadas en anisomosis, reflejándose en un aumento del porcentaje de espermatozoides con cambios muy parecidos a los ocurridos en un proceso de capacitación *in vivo* (Leahy et al., 2010). La determinación de la presencia del acrosoma en semen fresco y descongelado se considera un buen indicador de calidad seminal óptima (Rubio et al., 2009). Por esta razón, resulta tan importante valorar adecuadamente esta estructura, que en este caso no mostró falta de integridad morfológica, si se considera el 15% de DAR como límite máximo admisible para IA (Rodríguez-Martínez, 2003).

Al realizar dos pruebas de evaluación de la funcionalidad espermática, en dos distintas partes (MP y MA), se pretendió mejorar la predictividad de los resultados, como lo sugieren otros autores (Zhu y Liu, 2000). Empero, un porcentaje de espermatozoides reaccionados al HOS-t por debajo del 60% en ambos grupos raciales, sugiere que quizás la MP no respondió adecuadamente a la hiposmosis en un intento por equilibrar ambos ambientes, similar a lo conseguido por otros autores (Nava et al., 2011). También pudiera ser que la presión de 154 mOsm/l usada en el test no fue lo suficientemente baja para inducir que los espermatozoides reaccionaran adecuadamente, debido a que, algunos investigadores han sugerido para el semen de rumiantes, una presión osmótica de 100 mOsm/l (Rota et al., 2000). En contraparte, existen reportes que al comparar estas dos condiciones osmolares de 100 y 154 mOsm/l no han conseguido diferencias significativas (Quintero et al., 2012).

El valor del test HOST-EN muestra que el porcentaje de espermatozoides vivos con integridad funcional de la MP para ambos grupos raciales están cercanos al 42%, lo que hace inferir la resistencia osmótica que presentan estas células de animales adaptados a ambientes adversos, y condición está, tan necesaria para una fertilidad óptima a nivel de campo. La resistencia al estrés anisomótico producto de una hiposmosis de incubación en muestras seminales destinadas a criopreservación puede ser un importante factor predictivo de congelabilidad y fertilidad si se evalúa minuciosamente la calidad espermática mediante

técnicas de medición de la fosforilación proteica que indiquen la generación de aniones superóxidos producto del estrés oxidativo concomitante a la hiposmosis (Burnaugh et al., 2010). En resumen, se evidenció que los espermatozoides de ambos grupos raciales presentaron características semejantes de vitalidad y resistencia a cambios osmóticos, lo que hace inferir su adaptación a condiciones de trópico seco inherente al rendimiento reproductivo del ovino, sobretodo, si tomamos al grupo WA como control adaptado.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Burnaugh, L., Ball, B., Sabeura, K., & Meyers, S.A. 2010. *Ani. Reprod. Sci.* 117: 249-260.  
 Leahy, T., Martí, J., Mendoza N., Pérez R., & Evans G. 2010. *Ani. ReprodSci.* 119: 137-146.  
 Nava, H., Quintero A, Rubio J., & Finol G. 2011. *Rev. Científ FCV-LUZ XXI (3):* 211-214.  
 Quintero, A., Nava, A, Osorio, C, Rubio, J. & González, D. 2012. *Rev. Científ. LUZ 12(1):* 21.  
 Rodríguez-Martínez, H. 2003. *Reprod Dom Anim.* 38: 312–318.  
 Rota, A., Penzo, N., Vicenti, L., & Mantovani, R. 2000. *Theriogenology.* 53: 1415-1420.  
 Rubio, J., González, D., & Quintero, A. 2009. *Rev. Científ. FCV-LUZ XIX(4):* 382-389.  
 Tartaglione, C.M., & Ritta, M.N. 2004. *Theriogenology.* 62: 1245-1252.  
 Villasmil, Y., Aranguren, J., Madrid N., González, D., & Rubio, J. 2011. *Actas AICA:* 419-422  
 Zhu, W., & Liu, X. 2000. *Asian J Androl.* 2: 135-138.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por la LOCTI-PEII (Proyecto N° 2012000851).

*Tabla 1. Valoración de integridad de la membrana plasmática en ovinos tropicales*

Grupos Raciales	Pruebas de Valoración Estructural		Pruebas de Valoración Funcional	
	%Vivos	%DAR	%HOS-t	%HOST-EN
West-African	87,44	7,14 <sup>a</sup>	58,89	39,26
Mestizos SI-WA	83,92	14,53 <sup>a</sup>	55,86	40,26

SI-WA: Mestizos Santa Inés–West African. %Vivos y %DAR: Porcentaje de espermatozoides vivos y con acrosoma reaccionado. %HOS-t y %HOS-EN: Porcentaje de espermatozoides reaccionados a la hiposmosis. a: Tendencia numérica con diferencia a P= 0,06.

### PLASMA MEMBRANE INTEGRITY OF SPERMATOZOA IN FRESH SEMEN OF RAM KEPT UNDER DRY TROPICAL CONDITIONS

**ABSTRACT:** With the aim of contrasting the results of plasma membrane functional integrity in fresh semen, were collected serially 5 ejaculates from 10 fertile rams, five West African (WA) and five Santa Ines-WA crossbred. Tests were performed for evaluating the structural integrity (Eosin-Nigrosin stain: EN) and functional (HOS-t) of the plasma membrane (MP) individually (EN and HOS-t) and combined (HOST-EN). The data were analysed by GLM procedure. Results showed that genotype had relatively similar characteristics concerning structural and functional integrity of MP. Structural integrity was assessed using EN, comparing specimens WA y SI-WA crossbreds, differences were not statistically significant (P>0.05) in the percentage of viability: 87.44% vs 83.92%, respectively. Also, to assess the functionality of MP with HOS-t, both genotypes were similar in response to osmotic change (WA: 58.89% vs SI-WA: 55.86%. P>0.05). Interestingly, it was evident that both genotypes had similar characteristics of vitality and resistance to osmotic changes in fresh semen, deducing adaptation to dry tropic conditions inherent in the reproductive performance of ram, especially if WA is taken as control group adapted.

**Keywords:** Plasma membrane, acrosome, ram.

## **EVIDENCIAS DE LA RUTA DE LAS PENTOSAS FOSFATO EN EL ESPERMATOZOIDE OVINO**

Luna-Valiente, C., Serrano-Blesa, E., Pérez-Pé, R., Domingo-Sanz, J., Arruga, D., Casao, A., Cebrián-Pérez, J.A. y Muño-Blanco, T.

Dpto. Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Facultad de Veterinaria, Zaragoza. España.

[caroluna@unizar.es](mailto:caroluna@unizar.es)

### **INTRODUCCIÓN**

El metabolismo energético juega un papel clave en la funcionalidad espermática. Los espermatozoides de mamíferos requieren energía, en forma de ATP, para mantener la motilidad, realizar modificaciones proteicas y todo el conjunto de cambios bioquímicos y biofísicos que permiten su capacitación y la fecundación del ovocito. El ATP puede obtenerse a través de la glucólisis o mediante la cadena de transporte electrónico en la fosforilación oxidativa mitocondrial. Ambas rutas metabólicas son capaces de proporcionar esta energía de forma independiente, y los espermatozoides, en función de la especie, utilizarán preferiblemente una u otra. Así, mientras la glucólisis parece ser el principal mecanismo de obtención de energía en espermatozoides de ratón, la fosforilación oxidativa sería la vía predominante en el toro, y los espermatozoides ovinos parecen mantener su motilidad utilizando paralelamente los dos mecanismos de obtención de energía (Storey, 2008). Además, para cada evento específico se requiere un sustrato y una ruta metabólica diferente. Así, la reacción acrosómica necesita lactato o piruvato para la producción de ATP por fosforilación oxidativa, mientras que la fusión de gametos requiere glucosa para producir NADPH a través de la ruta de las pentosas fosfato (RPP) (Miki, 2007).

En la RPP, la glucosa-6-fosfato (G6P) se oxida a 6-fosfogluconato (6PG) por la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), produciendo NADPH en una relación estequiométrica 1:1. Seguidamente, el 6PG se transforma a ribulosa-5-fosfato por acción de la 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGDH). Se obtiene así la segunda molécula de NADPH, además de la liberación de una molécula de CO<sub>2</sub> debido a la descarboxilación oxidativa del ácido libre. La ribulosa-5-fosfato resultante puede posteriormente convertirse en ribosa-5-fosfato y ser así usada para la síntesis de nucleótidos. El NADPH producido proporciona poder reductor y tiene gran importancia en muchos sistemas celulares, incluyendo sistemas antioxidantes.

La relación entre la producción de NADPH (vía RPP) y la capacitación (Miraglia, 2011) y fecundación (Urner, 2005) se ha descrito en espermatozoides de algunas especies, lo cual podría implicar la existencia de una enzima dependiente de NADPH reguladora de los procesos redox en esta célula. La generación de una cantidad controlada de especies reactivas de oxígeno (ROS) es esencial para la viabilidad y la funcionalidad espermática, incluido el proceso de capacitación. Sin embargo, cuando el nivel de ROS excede las defensas antioxidantes de la célula, se produce estrés oxidativo que puede causar daño en el DNA y alterar las funciones celulares. De ahí que la RPP no sea únicamente una vía de metabolismo de la glucosa, sino que juega un papel crítico en el balance de ROS y la supervivencia celular (Riganti, 2012). La RPP ha sido evidenciada en espermatozoides de diferentes especies (humano, conejo, ratón y búfalo, entre otras), pero por el momento no hay referencias de la existencia de una vía RPP funcional en la especie ovina.

El objetivo del presente estudio se centra en confirmar la presencia y localización de las dos principales enzimas de la RPP (G6PDH y 6PGDH) en espermatozoides ovinos. El NADPH generado en la RPP y su poder antioxidante, así como las evidencias de la participación de esta ruta en los procesos de fecundación y capacitación en espermatozoides de diferentes especies, sugieren que esta vía podría tener también un papel clave en la capacitación de espermatozoides en el morueco.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El semen utilizado se obtuvo mediante vagina artificial a partir de moruecos pertenecientes a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado selecto de la raza Rasa Aragonesa (ANGRA), estabulados en la Facultad de Veterinaria de Zaragoza en condiciones nutricionales uniformes. Con el objetivo de eliminar las diferencias individuales, 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). Se utilizaron muestras de espermatozoides libres de plasma seminal mediante la técnica de *swim-up*/dextrano con un medio sin  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{NaHCO}_3^-$  (Pérez-Pé et al., 2002).

Posteriormente las células se cavitaron a una presión de 1000 PSI de  $\text{N}_2$  durante 20 min. El contenido resultante de la cavitación se centrifugó a 16800 x g durante 5 min y el sobrenadante obtenido fue la muestra utilizada en análisis de *western blotting*.

Para la inmunofluorescencia indirecta, alícuotas de  $2 \times 10^6$  células/ml del *swim-up* se fijaron con paraformaldehído (0,25%, v/v) durante 20 min a temperatura ambiente (TA). Tras el lavado de las células con PBS se pipetearon 40  $\mu\text{l}$  sobre portaobjetos poli-lisinados (*Superfrost Plus*, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EE.UU.), se permeabilizaron con Tritón X-100 al 0.5% y se realizó una segunda fijación de 5 min. con paraformaldehído al 12,2%. Los sitios de unión del anticuerpo no específicos se bloquearon incubando con 5% BSA en PBS (p/v) toda la noche a 4°C. Posteriormente se incubó con un anticuerpo policlonal de conejo anti-glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PDH) o anti-6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGDH) (Prestige Antibodies®, Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EE.UU.) diluidos ambos 1/20 como anticuerpos primarios, y un anticuerpo anti-conejo sintetizado en pollo conjugado con el fluorocromo Alexa-Fluor488 (Molecular Probes Inc., Eugene, OR, EE.UU.) a una dilución 1/600, como anticuerpo secundario. Finalmente, a la preparación se le añadió DABCO para preservar la fluorescencia celular y se visualizó en un microscopio de fluorescencia (Nikon Eclipse E400, Tokio, Japón) con el objetivo 100x y un filtro B-2A.

Para la detección de las enzimas por western blotting, se realizó una electroforesis SDS-PAGE de las proteínas en geles del 10% de acrilamida y las proteínas separadas se transfirieron a membranas de PVDF utilizando el sistema de transferencia *TransBlot Turbo* (Biorad, Hercules, CA, EE.UU.; 2,5 A, 25 V, 10 min). La inmunodetección de las enzimas se llevó a cabo incubando las membranas con los mismos anticuerpos primarios utilizados para la inmunocitoquímica (durante toda la noche a 4 °C, dilución 1/500), seguido de 1 h de incubación con un anticuerpo secundario anti-conejo sintetizado en burro, conjugado con el fluorocromo IRDye® 800-CW (Li-Cor Biosciences, Lincoln, NE, EE.UU.). En la misma membrana se incluyó además un lisado de células hepáticas como control positivo y la proteína recombinante *Fur*, reguladora de la captación de hierro, aislada de un extracto de *E. coli* BL21-Gold DE3, como control negativo (Hernández et al., 2002). Finalmente, las membranas se escanearon con el sistema de detección de fluorescencia Odyssey® (Li-Cor Biosciences).

La PCR se realizó sobre 1  $\mu\text{l}$  de cDNA obtenido por transcripción reversa (RT) con el kit SuperScript III de Invitrogen (Carlsbad, CA, EE.UU.) usando como muestra RNA aislado mediante homogenización en TriReagent (Sigma) según el método de Chomczynski y Sacchi (1997). Los cebadores para G6PDH fueron los descritos por Laliotis et al. (2006), G6PDH directo: 5'-TAC GAT GAC ACT GCC TCC TAC-3' y G6PDH inverso: 5'-CGA AGG GCT TCT CCA CAA TG-3'. Los cebadores para 6PGDH fueron 6PGDH directo: 5'-CAT CGC CGC CAT GGC CCA AG-3' y 6PGDH inverso: 5'-GAA CGC TGC CTC GGG CAG CTG-3'. Las condiciones de PCR fueron un ciclo a 94 °C-3 min, 30 ciclos a 94 °C-30 seg, 60 °C-30 seg, 72 °C-30 seg (1,5 min para 6PGDH) y una extensión final a 72 °C-4 min.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

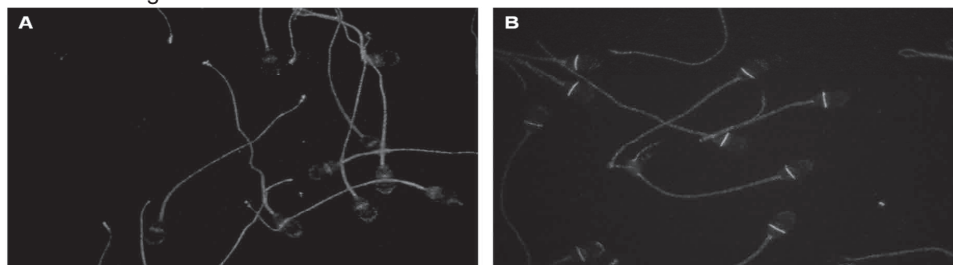
La inmunofluorescencia indirecta reveló la presencia de G6PDH en el flagelo y post-acrosoma de todos los espermatozoides, mientras que el marcaje para la enzima 6PGDH quedaba restringido a una estrecha e intensa banda de la región ecuatorial (Figura 1). Los análisis mediante *western blotting* confirmaron la presencia de ambas enzimas, con sendas bandas de 51 kDa y 56 kDa (Figura 2) compatibles con el peso molecular teórico supuesto para la G6PDH y el 6PGDH, respectivamente. En el control positivo (lisado de células hepáticas) se observó igualmente una banda del mismo peso molecular que la del lisado de espermatozoides, y además esta banda no apareció en el control negativo (proteína *Fur* de unión a DNA, reguladora de la transcripción). La expresión de ambas enzimas también se evidenció mediante retrotranscripción y posterior PCR, mostrando los productos amplificadas el peso molecular esperado en ambos casos (Figura 3). Con objeto de elucidar el papel de la RPP en la capacitación espermática ovina, actualmente se están realizando estudios cinéticos de ambas enzimas, para estandarizar y caracterizar sus actividades y

analizar posibles cambios relacionados con la capacitación *in vitro*, así como la importancia del NADPH generado en la RPP en el sistema de defensa antioxidante del espermatozoide ovino.

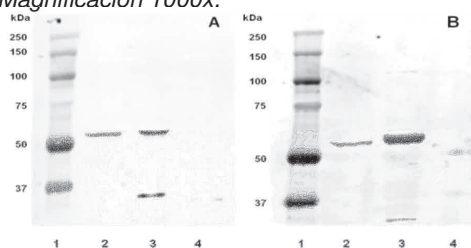
### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chomczynski, P., 1993. *Biotechniques* 15(532-4, 536-7) • Hernández J.A., Bes M.T., Fillat M.F., Neira J.L., Peleato M.L., 2002. *Biochem. J.* 366:315-322 • Laliotis, G.P., Argyrokastritis, A., Bizelis, I., Rogdakis, E., 2007. *Gene* 388:93–101 • Miki, K., 2007. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 65:309-25 • Miraglia E., Lussiana C., Viarisio D., Racca C., Cipriani A., Gazzano E., Bosia A., Revelli A., Ghigo D., 2010. *Fertil Steril.* 93(7):2437-40 • Ollero, M., Muiño-Blanco, T., Lopez-Perez, M.J., Cebrián-Pérez, J.A. 1996. *Int J Androl* 19:287-292 • Pérez-Pé, R., Grasa, P., Fernández-Juan, M., Peleato, M.L., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T. 2002. *Mol Reprod Dev* 61:226-33 • Riganti C., Gazzano E., Polimeri M., Aldieri E., Ghigo D., 2012. *Free Radic. Biol. Med.* 53(3):421-36 • Storey, B.T., 2008. *Int. J. Dev. Biol.* 52(5-6):427-37 • Umer F., Sakkas D., 2005. *Mol Reprod Dev.* 70(4):494-503.

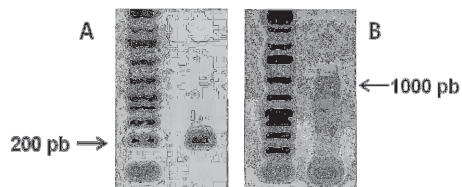
**Agradecimientos:** CICYT-FEDER AGL2011-25850, DGA/A26-2010FSE y FPU 2009-1298. Los autores agradecen a ANGRA el suministro de sementales.



**Figura 1.** Inmunolocalización de G6PDH (A) y 6PGDH (B) en espermatozoides ovinos. Magnificación 1000x.



**Figura 2.** Localización mediante western blotting de G6PDH (A) y 6PGDH (B). (1) Marcador de pesos moleculares. (2) Lisado de espermatozoides (3) Control positivo. (4) Control negativo.



**Figura 3.** Resultado de la amplificación por RT-PCR, correspondiente a la G6PDH (A) y al 6PGDH (B).

### EVIDENCES OF THE PENTOSE PHOSPHATE PATHWAY OPERATING IN RAM SPERMATOZOA

**ABSTRACT:** The oxidative stress induced by reactive oxygen species (ROS) is one of the causes of sperm cryopreservation injury. It has been shown that *in vitro* capacitation results in increased ROS levels, which are dependent of the antioxidant defense system that can use the NADPH generated by the pentose phosphate pathway (PPP). However, the functioning of the PPP has not been demonstrated in ram spermatozoa, although its involvement in sperm capacitation has already been shown in mouse spermatozoa. The aim of this study was to investigate whether the PPP is operative in ram spermatozoa. We have evidenced the presence of G6PDH and 6PGDH in ram spermatozoa by western blotting, indirect immunofluorescence and RT-PCR. Additional assays to evaluate possible changes in the activity of these enzymes during *in vitro* capacitation are currently in progress.

**Keywords:** pentose phosphate pathway, capacitation.



## RECEPTORES DE PROGESTERONA Y ESTRÓGENO $\beta$ EN EL ESPERMATOZOIDE OVINO Y SU CORRELACIÓN CON LA CAPACITACIÓN

González-Arto, M., Casao, A., Pérez-Pé, R., Muño-Blanco, T. y Cebrián-Pérez, J.A.  
Dpto. Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Facultad de Veterinaria, Zaragoza. España.  
[martagonzalezarto@hotmail.com](mailto:martagonzalezarto@hotmail.com)

### INTRODUCCIÓN

La progesterona y los estrógenos juegan un papel fundamental en la diferenciación, maduración y funcionalidad espermática, sobre todo en la capacitación (Baldi et al., 2009). Trabajos previos de nuestro grupo pusieron de manifiesto la presencia del receptor de estrógeno  $\beta$  (ER $\beta$ ) en el espermatozoide ovino, distinguiéndose tres inmunotipos relacionados con la distribución celular de este receptor (Casao et al., 2011). Por otra parte, el receptor de progesterona (PR) se ha identificado en algunas especies (Wu et al., 2005; De Amicis et al., 2012), aunque no en la especie ovina. Dado que los procesos de capacitación y reacción acrosómica involucran cambios en la membrana y redistribución molecular, se puede hipotetizar que la distribución de los receptores para dichas hormonas varíe, lo que explicaría los distintos inmunotipos identificados previamente. Para comprobar esta hipótesis, el primer objetivo de este estudio fue determinar la presencia del receptor de progesterona en la membrana del espermatozoide ovino, para, posteriormente estudiar la posible variación en la distribución de dicho receptor, junto con el ER $\beta$ , en los distintos estados fisiológicos ligados a la capacitación en el espermatozoide de esta especie.

### MATERIAL Y METODOS

En todas las experiencias se empleó semen ovino obtenido mediante vagina artificial a partir de moruecos adultos, pertenecientes a la Asociación Nacional de Ganaderos de la raza *Rasa Aragonesa* (ANGRA), mantenidos en las instalaciones del Servicio de Apoyo a la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza. Los espermatozoides se separaron del plasma seminal por el método de swim-up/dextrano, grupo S (García-López et al., 1996). La capacitación espermática *in vitro* (grupo C) se indujo diluyendo muestras ( $1,6 \times 10^8$  células/ml) en medio TALP completo, con 5 mg/ml de BSA, al que se añadió un *cocktail* para la capacitación *in vitro* de espermatozoides ovinos (Colás et al., 2008). Las muestras se incubaron en 5% de CO<sub>2</sub> y 100% de humedad relativa, a 39°C durante 3 h. La reacción acrosómica (grupo R) se indujo añadiendo lisofosfatidilcolina (LPC, 300  $\mu$ g/ml) (Gómez et al., 1997) a las muestras previamente capacitadas, incubando durante 20 min más en las mismas condiciones. El estado de capacitación se evaluó mediante la tinción con clorotetraciclina (CTC) combinada con homodímero de etidio (Pérez-Pé et al., 2002).

La inmunolocalización de los receptores de progesterona y la determinación de los inmunotipos de ER $\beta$  en los distintos grupos experimentales se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta. Para ello, alícuotas de las muestras de espermatozoides ( $2 \times 10^6$  células/ml) se fijaron con 3,7% paraformaldehído (v/v) durante 20 min a temperatura ambiente (TA), y posteriormente se bloquearon incubándolas 2 h con 5% BSA (peso/volumen) a temperatura ambiente (TA) en PBS. Posteriormente, las muestras se incubaron con anticuerpos "rabbit anti-PG" y "rabbit anti-ER $\beta$ " (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, U.S.A), diluidos 1/50 en PBS con 1% BSA durante toda la noche a 4°C en cámara húmeda. A continuación, las muestras se lavaron tres veces con PBS y se incubaron de nuevo con un anticuerpo secundario (Alexa Fluor 488 chicken-antirabbit, en dilución 1/800 en PBS con 1% BSA) durante 1 h y 15 min a TA y en oscuridad. Finalmente, las muestras se montaron en portaobjetos y se observaron con un microscopio de fluorescencia (Nikon Eclipse E400, Tokio, Japón). Los resultados se expresaron en porcentaje y se analizaron mediante el test de chi-cuadrado, mientras que la correlación entre los inmunotipos respecto a ER $\beta$  y el estado de capacitación espermática se realizó mediante el test de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS (SPSS software, versión 15.0).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos de inmunofluorescencia mostraron por primera vez la presencia del receptor de progesterona en espermatozoides ovinos. Se observó un único patrón de marcaje con

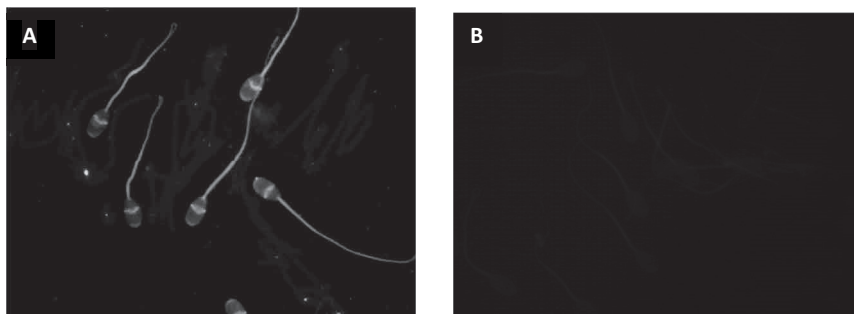
fluorescencia en la región ecuatorial que no presentó el control negativo sin anticuerpo primario (Figura 1). Este patrón se encontró en todas las células y se mantuvo invariable independientemente del estado de capacitación. Sin embargo, la distribución del Er $\beta$  mostró una marcada variación en función de los distintos grupos experimentales (Tabla 1); en concreto, su presencia en la región apical fue disminuyendo tras la capacitación y la reacción acrosómica ( $P < 0,001$ ). Debido a estas diferencias, analizamos la posible correlación entre la distribución del Er $\beta$  y los diferentes estados de capacitación determinada por la tinción con CTC/EtHd. El análisis estadístico mostró una elevada correlación positiva entre la presencia del Er $\beta$  en la zona apical del espermatozoide y el porcentaje de espermatozoides no capacitados ( $r = 0,848$ ;  $P < 0,001$ ) (Figura 2). En la introducción comentan que ya habían detectado Er $\beta$  en espermatozoides ovinos y habían relacionado distintos inmunitipos con la localización celular (Casao, 2011).

En los últimos años se han descrito gran cantidad de efectos no genómicos de las hormonas esteroideas llevados a cabo a través de receptores de membrana (Luconi et al., 2004). Una de las posibles acciones de la progesterona sería estimular diferentes funciones del espermatozoide, tales como motilidad hiperactivada, capacitación, quimiotaxis y la reacción acrosómica, mientras que el 17- $\beta$  estradiol podría tener un efecto inhibitor sobre la inducción de la reacción acrosómica por parte de la progesterona, favoreciendo de ese modo una correcta sincronización del proceso. Hay especies en que la capacitación puede ser inducida por la progesterona (Baldi et al., 2009), mientras que en otras es el estradiol el agente responsable (Ded et al., 2013). Los resultados de este estudio evidencian que la presencia del Er $\beta$  en la región apical del espermatozoide ovino se relaciona con un menor grado de capacitación, lo cual sugiere que podría ser el estradiol la hormona que mediase en el proceso de capacitación del espermatozoide ovino, aunque todavía son necesarios más estudios para confirmarlo.

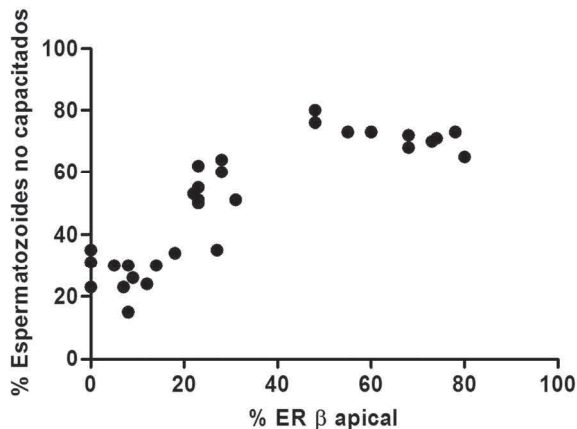
#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

• Baldi, E., Luconi, M., Muratori, M., Marchiani, S., Tamburrino, L. Forti, G. 2009. *Mol. Cell. Endocrinol.* 308: 39-46. • Casao, A., Gallego, M., Perez-Pe, R., Muino-Blanco, T. Cebrian-Perez, J. 2011. *Reprod. Domest. Anim.* 46: 93-93. • Colás, C., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T. Cebrián-Pérez, J. A. 2009. *Reprod. Domest. Anim.* 44: 221-227. • De Amicis, F., Santoro, M., Guido, C., Sisci, D., Bruno, R., Carpino, A. Aquila, S. 2012. *Anim. Reprod. Sci.* 135: 75-84. • Ded, L., Sebkova, N., Cerna, M., Elzeinova, F., Dostalova, P., Peknicova, J. Dvorakova-Hortova, K. 2013. *Reproduction.* • Garcia-Lopez, N., Ollero, M., Muino-Blanco, T. Cebrian-Perez, J. A. 1996. *Theriogenology* 46: 141-151. • Gómez, M. C., Catt, J. W., Gillan, L., Evans, G. Maxwell, W. M. C. 1997. *Reprod. Fertil. Dev.* 9. • Luconi, M., Francavilla, F., Porazzi, I., Macerola, B., Forti, G. Baldi, E. 2004. *Steroids* 69: 553-559. • Perez-Pe, R., Grasa, P., Fernandez-Juan, M., Peleato, M. L., Cebrian-Perez, J. A. Muino-Blanco, T. 2002. *Mol. Reprod. Dev.* 61: 226-233. • Wu, J., Tsai, P., Lee, S. Cheng, F. 2005. *Reprod. Fertil. Dev.* 17: 733-741.

**Agradecimientos:** CICYT-FEDER AGL2010-18975, DGA A26FSE y Gobierno Vasco (BFI-2010-229 MOD:AE). Los autores agradecen a ANGRA el suministro de sementales.



**Figura 1.** Inmunolocalización del receptor de progesterona en el espermatozoide ovino por inmunofluorescencia indirecta (A) y control negativo. (B).



**Figura 2.** Correlación entre la presencia del ER $\beta$  en la zona apical del acrosoma del espermatozoide ovino, determinada por inmunofluorescencia y el porcentaje de espermatozoides no capacitados vivos, evaluada por la tinción con clorotetraciclina(CTC)

**Tabla 1.** Porcentaje de espermatozoides que presentan marcaje apical para ER $\beta$  y los distintos estados de capacitación en espermatozoides procedentes de un swim-up (grupo S), sometidos a una capacitación in vitro (grupo C) y posteriormente a una reacción acrosómica (grupo R). Resultados expresados como media  $\pm$  SEM (n=10). Letras distintas en la misma columna indican P<0,05.

	% ER $\beta$	Estado de capacitación		
		No capacitados	Capacitados	Reaccionados
Grupo S	65,20 $\pm$ 3,74% <sup>a</sup>	72,10 $\pm$ 1,30% <sup>a</sup>	18,40 $\pm$ 1,48% <sup>a</sup>	9,20 $\pm$ 1,03% <sup>a</sup>
Grupo C	24,60 $\pm$ 1,20% <sup>b</sup>	51,50 $\pm$ 3,22% <sup>b</sup>	30,90 $\pm$ 3,06% <sup>b</sup>	18,1 $\pm$ 0,67% <sup>b</sup>
Grupo R	6,30 $\pm$ 1,59% <sup>c</sup>	26,70 $\pm$ 1,80% <sup>c</sup>	27,90 $\pm$ 0,86% <sup>c</sup>	45,4 $\pm$ 1,26% <sup>c</sup>

## PROGESTERONE RECEPTOR AND ESTROGEN RECEPTOR $\beta$ IN RAM SPERMATOZOA AND THEIR CORRELATION WITH THE CAPACITATION STATE

**ABSTRACT:** Progesterone and estradiol play an important role in sperm function, especially in sperm capacitation, and these actions are likely receptor mediated. We have previously shown the presence of estrogen receptor $\beta$  (ER $\beta$ ) in ram spermatozoa, with three different immunotypes. However, there are no reports on progesterone receptor (PR) in this species. Given that capacitation and the acrosome reaction involve sperm membrane changes and molecular redistribution, it can be hypothesized that the receptor distribution of these hormones can be modified. Thus, in this study we investigated the presence of progesterone receptor (PR) in ram spermatozoa, and analyzed the distribution of both PR and ER $\beta$  in different physiological states associated with ram sperm capacitation. Using immunofluorescence techniques, we identified for the first time PR in ram spermatozoa, located in the equatorial region. Moreover, our results showed that PR distribution remained independent of the samples' capacitation state. However, ER $\beta$  distribution varied depending on the capacitation state. A high positive correlation between the presence of ER $\beta$  in the acrosomal apical zone and the rate of non-capacitated spermatozoa ( $r=0.848$ ;  $P<0.001$ ) was found. These results suggest that ER $\beta$  could be involved in ram sperm capacitation.

**Keywords:** Spermatozoa, capacitation, progesterone receptor, estrogen receptor $\beta$

## ESTUDIO COMPARATIVO DE LA MORFOMETRÍA DE LAS SUBPOBLACIONES ESPERMÁTICAS EN LA ESPECIE) BOVINA, CAPRINA, OVINA Y PORCINA UTILIZANDO EL MÉTODO CASMA-F

Vicente-Fiel, S., Palacín, I., Santolaria, P. y Yániz, J.L.  
Escuela Politécnica Superior de Huesca, Universidad de Zaragoza, Ctra. Cuarte S/N  
22071 Huesca, España. 526035@unizar.es.

### INTRODUCCIÓN

El desarrollo de sistemas de análisis de la morfometría del espermatozoide asistidos por ordenador (CASMA) ha permitido el uso de los parámetros morfométricos para identificar subpoblaciones espermáticas en diferentes especies (Esteso et al, 2009; Martí et al, 2011; Maroto Morales et al., 2012). Teóricamente, la heterogeneidad de los espermatozoides garantiza un mayor potencial para fecundar un oocito en algún intervalo después de la eyaculación (Curry, 2000). Los métodos utilizados hasta la fecha para el procesamiento, captura y análisis de subpoblaciones espermáticas son diversos. Recientemente, hemos desarrollado un método automático de evaluación de la morfometría del núcleo espermático (CASMA-F), que combina la microscopía de fluorescencia con el análisis de imágenes con software libre (Yániz et al., 2012). Con el uso de CASMA-F, los núcleos espermáticos de distintas especies pueden ser teñidos con éxito con la misma sonda de fluorescencia, permitiendo una comparación directa entre las especies (Vicente-Fiel et al., 2013). El objetivo de este estudio fue aplicar el método CASMA-F para comparar las subpoblaciones espermáticas morfométricas de cuatro especies de artiodáctilos domésticos, vacuna (*Bos taurus taurus*), ovina (*Ovis orientalis aries*) y caprina (*Capra hircus aegagrus*) y porcina (*Sus scrofa domestica*).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 20 machos para cada especie. Los diferentes eyaculados fueron tomados con una vagina artificial para moruecos adultos de Rasa Aragonesa, toros frisonos, machos cabríos Murciano-Granadinos y manualmente en verracos Pietrain. Las muestras se conservaron en fresco en un frigorífico a 15°C, dentro de las primeras 24 h las muestras se diluyeron a  $200 \times 10^6$  espermatozoides/ml con una solución de Tris-base (Yániz et al., 2012). Para el CASMA-F (Vicente-Fiel et al., 2013) se prepararon los frotis de semen colocando 5  $\mu$ l de las muestras en el extremo libre de un portaobjetos y arrastrando la gota a través del portaobjetos con el borde de otro portaobjetos. Los frotis se dejaron secar al aire durante un mínimo de 2 h y se fijaron con glutaraldehído al 2% en PBS durante 3 min, se lavaron con agua destilada y se marcaron colocando 2 gotas de 5  $\mu$ l entre el frotis y el cubreobjetos de una solución de 20  $\mu$ l de Hoechst 33342 en Tris-base, que se incubó durante 20 min en la oscuridad a temperatura ambiente (Yániz et al., 2012). Los cubreobjetos se retiraron, se lavó el frotis con agua destilada y se dejó secar. Las imágenes digitales de los núcleos espermáticos se registraron utilizando un microscopio de epifluorescencia (DM4500B, Leica, Alemania) con un objetivo apocromático de 63X al que iba acoplado una cámara Canon Eos 400D digital. La cámara se controló mediante un ordenador con software DSLR Remote Pro (Breeze Systems, Reino Unido). De cada especie, se capturaron automáticamente 200 núcleos espermáticos y se analizaron usando el software libre Image J (versión 1.45e), con un *plug-in* creado para este fin (Yániz et al., 2012). En cada núcleo espermático se midieron cuatro parámetros primarios (Área en  $\mu\text{m}^2$  (A), perímetro (P), longitud (L) y anchura (W) todos ellos en  $\mu\text{m}$ ) y cuatro parámetros secundarios (Elipticidad ( $L/W$ ), rugosidad ( $4\pi A/P^2$ ), elongación ( $(LW)/(L+W)$ ) y regularidad ( $\pi LW/4A$ ). Se analizaron un total de 16.000 núcleos espermáticos utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

El nivel de significación estadística se fijó en  $P < 0,05$ . Se llevó a cabo un análisis *cluster* en dos pasos. En el primer paso se realizó un análisis de componentes principales (PCA) de los datos de morfometría. En el segundo paso se realizó un análisis de conglomerados en dos fases con los índices de espermatozoides obtenidos después de la PCA. Las diferencias de los parámetros morfométricos del núcleo del espermatozoide entre los grupos dentro y entre especies se estudiaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Para estudiar la distribución de las subpoblaciones dentro de las especies (entre animales), se utilizó la prueba de  $\chi^2$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis estadísticos revelaron 4 subpoblaciones espermáticas para el toro y 3 para el morueco, verraco y macho cabrío. La distribución de las subpoblaciones dentro de las especies fue significativamente diferente en las cuatro especies estudiadas. Como se puede observar en la tabla 1 al comparar las subpoblaciones espermáticas en estas cuatro especies, el toro y el verraco tenían dos subpoblaciones claramente diferenciadas por el tamaño: grande y pequeña. Sin embargo, las subpoblaciones espermáticas finales para el toro eran 4 (grande, grande y alargada, pequeña y redondeada, alargada y pequeña) y sólo tres en el verraco (grande, pequeña y alargada, pequeña y redondeada). Para el morueco se establecieron tres subpoblaciones por el tamaño: grande, media y pequeña, mientras que para el macho cabrío se describieron como: redondas, pequeñas y alargadas. En experimentos recientes (Vicente-Fiel et al., 2013), se comparó la morfometría del núcleo espermático en las mismas especies, pero sin una distinción entre subpoblaciones espermáticas. En el macho cabrío, se describió el núcleo espermático más pequeño (Vicente-Fiel et al., 2013) que se corresponde con un tamaño más pequeño de las subpoblaciones que se describen para en este ensayo. Del mismo modo, el tamaño más grande de núcleo espermático se obtuvo para toro (Vicente-Fiel et al., 2013) coincidiendo con la subpoblación 1 en este ensayo. De los resultados obtenidos se desprende que la combinación de la tecnología CASMA-F con análisis de *cluster* multivariante proporciona información sobre las características biológicas de los eyaculados en las cuatro especies estudiadas y entre las distintas especies, mostrando variaciones importantes que pueden existir entre especies. Esta variabilidad de las subpoblaciones espermáticas también se identificó dentro de las especies, con posibles implicaciones funcionales. Algunos autores han obtenido mayores tasas de fertilidad en toro cuando la proporción de espermatozoides con cabeza pequeña se ha incrementado en las muestras (Gravance et al., 1996). En conclusión la utilización de CASMA-F unida al análisis de subpoblaciones podrían complementar los análisis clásicos de calidad seminal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Curry, M.R. 2000. Rev. Reprod. 5: 46-52.
- Estes, M.C., Fernández-Santos, M.R., Soler, A.J., Montoro, V., Martínez-Pastor, F., Garde, J.J. 2009. Reprod Domest Anim.44: 206-211.
- Gravance, C.G., Liu, I.K., Davis, R.O., Hughes, J.P., Casey, P.J.1996. J Reprod Fertil. 108:41-46.
- Maroto-Morales, A., Ramón, M., García-Álvarez, O., Soler, A.J., Fernandez-Santos, M.R., Roldan, E.R.S., Gomendio, M., Pérez-Guzmán, M.D., Garde, J.J. 2012. Therio. 77: 1529-1539.
- Martí, J.I., Aparicio, I.M., García-Herreros, M. 2011. Therio. 76: 97-109.
- Martínez-Pastor, F., Cabrita, E., Soares, F., Anel, L., Dinis, M.T., 2008. Reprod. 135: 449-459.
- Vicente-Fiel, S., Palacín, I., Santolaria, P., Hidalgo C.O., Silvestre, M.A., Arrebola, F., Yániz J.L. 2013. Therio. 79: 436.
- Yániz, J.L., Vicente-Fiel, S., Capistrós, S., Palacín, I., Santolaria, P. 2012. Therio. 77: 1343-1350.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen al CITA (DGA), SERIDA (Asturias), Explotaciones Ganaderas Estiche SL, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (CITA-IVIA) y al IFAPA (Córdoba) por su ayuda con la adquisición de muestras de semen. Este trabajo fue apoyado por el MINECO (concesiones IPT-010000-2010-33 y AGL2011-30353-C02-01) y la DGA-FSE (subvención A40).

**Tabla 1.** Medidas morfométricas del núcleo espermático (media  $\pm$  desviación estándar) para cada subpoblación en las cuatro especies estudiadas.

Subpoblaciones detectadas	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	Longitud ( $\mu\text{m}$ )	Anchura ( $\mu\text{m}$ )
<b>Toro</b>				
1-Grande	34,10 $\pm$ 1,79 <sup>a</sup>	24,07 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>	9,00 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>	4,81 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>
2-Pequeña y redondeada	30,08 $\pm$ 1,32 <sup>bc</sup>	22,80 $\pm$ 0,50 <sup>bc</sup>	8,59 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	4,44 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>
3-Pequeña y alargada	30,33 $\pm$ 2,23 <sup>b</sup>	23,59 $\pm$ 0,87 <sup>d</sup>	9,04 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	4,38 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>
4-Grande y alargada	33,03 $\pm$ 1,60 <sup>d</sup>	24,30 $\pm$ 0,62 <sup>a</sup>	9,31 $\pm$ 0,27 <sup>c</sup>	4,47 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>
<b>Verraco</b>				
1-Pequeña y alargada	26,58 $\pm$ 2,25 <sup>ef</sup>	22,11 $\pm$ 0,92 <sup>e</sup>	8,43 $\pm$ 0,42 <sup>b</sup>	3,93 $\pm$ 0,18 <sup>c</sup>
2-Grande	29,22 $\pm$ 1,38 <sup>c</sup>	22,47 $\pm$ 0,57 <sup>ce</sup>	8,46 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>	4,27 $\pm$ 0,18 <sup>d</sup>
3-Pequeña y redondeada	26,58 $\pm$ 1,44 <sup>ef</sup>	21,26 $\pm$ 0,49 <sup>f</sup>	7,93 $\pm$ 0,22 <sup>de</sup>	4,16 $\pm$ 0,18 <sup>e</sup>
<b>Morueco</b>				
1-Grande	32,53 $\pm$ 1,51 <sup>d</sup>	23,08 $\pm$ 0,57 <sup>b</sup>	8,52 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	4,81 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>
2-Mediana	30,32 $\pm$ 1,09 <sup>b</sup>	22,19 $\pm$ 0,45 <sup>e</sup>	8,13 $\pm$ 0,16 <sup>f</sup>	4,72 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
3-Pequeña	27,38 $\pm$ 1,21 <sup>f</sup>	21,45 $\pm$ 0,58 <sup>f</sup>	7,95 $\pm$ 0,22 <sup>e</sup>	4,38 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>
<b>Macho cabrío</b>				
1-Redonda	25,91 $\pm$ 1,33 <sup>e</sup>	20,72 $\pm$ 0,54 <sup>g</sup>	7,77 $\pm$ 0,22 <sup>d</sup>	4,15 $\pm$ 0,13 <sup>e</sup>
2-Alargada	24,69 $\pm$ 1,21 <sup>g</sup>	20,73 $\pm$ 0,46 <sup>g</sup>	7,94 $\pm$ 0,19 <sup>de</sup>	3,87 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>
3-Pequeña	22,68 $\pm$ 1,12 <sup>h</sup>	19,66 $\pm$ 0,43 <sup>h</sup>	7,42 $\pm$ 0,18 <sup>g</sup>	3,83 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>

<sup>a-h</sup> - Denotan diferencias dentro de las columnas de  $P < 0,05$ .

## A COMPARATIVE STUDY OF SPERM MORPHOMETRIC SUBPOPULATIONS IN CATTLE, GOAT, SHEEP AND PIGS USING THE CASMA-F METHOD

**ABSTRACT:** This study was designed to compare the sperm nuclear morphometric subpopulations of four species of domestic artiodactyls (cattle, sheep, goat and pigs). Samples from 20 males of each species were collected. Smears were fixed with 2% glutaraldehyde, stained with Hoechst 33342 and photographed. At least 200 spermatozoa per sample were processed using the Image J analysis open software. Clustering procedures were performed to identify sperm subpopulations using the morphometric data obtained from each species. Our results show that, applying the CASMA-F technology and multivariate cluster analyses, it was possible to determine the subpopulations of spermatozoa with different morphometric characteristics in the four species studied. When comparing sperm subpopulations in these four species, the bull and the boar had two clearly differentiated size categories: large and small. However, in small ruminant species, 3 sperm nucleus size categories were established: large, average size and small. Male variability was identified in the distribution of sperm subpopulations described in the four species studied. It was concluded that the combination of CASMA-F technology with multivariate cluster analyses allow the study of morphometric sperm subpopulations and that there are important variations in the subpopulations among the four species studied.

**Keywords:** artiodactyls, sperm morphometry, sperm subpopulations, ASMA.

## **LOS ESPERMATOZOIDES BOVINOS CON CROMATINA ALTERADA ESTÁN DISTRIBUIDOS MORFOMÉTRICAMENTE EN DISTINTAS SUBPOBLACIONES**

Nava-Trujillo, H. y Quintero-Moreno, A.

Laboratorio de Andrología, Unidad de Investigación en Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

[armando.quintero@fcv.luz.edu.ve](mailto:armando.quintero@fcv.luz.edu.ve)

### **INTRODUCCIÓN**

La asociación entre el Análisis Computarizado de la Morfometría Espermática (CASMA) y los programas de análisis estadístico ha permitido agrupar los espermatozoides bovinos en subpoblaciones espermáticas (SP) en función de sus dimensiones (Rubio-Guillén et al., 2007). Por otro lado, desde hace tiempo, la tinción nuclear “azul de toluidina” (AT) usada para evaluar la integridad de la cromatina espermática en semen de toro (Melo, 1982, Beletti et al., 2005, Nava-Trujillo et al., 2011) fue implementada para realizar el análisis morfométrico mediante el CASMA (Beletti et al., 2005, Oliveira et al., 2011), lo cual hace posible evaluar simultáneamente las dimensiones de la cabeza espermática y la integridad de la cromatina, así como la relación entre estos parámetros. Esta combinación podría aportar información relevante que mejore los resultados del espermiograma. De esta inquietud deriva el propósito de este estudio, el cual se basa en determinar las dimensiones de la cabeza de los espermatozoides en semen criopreservado bovino y agruparlas en SP, para luego establecer el estatus de la cromatina (normal/ dañada) en función de cada SP.

### **MATERIALES Y METODOS**

Para la realización del experimento se utilizó semen criopreservado de 3 eyaculados de 5 toros (n=15) de raza Brahman con edades comprendidas entre 5 y 8 años, los cuales se procesaron en un centro especializado en la producción de semen bovino, ubicado en el estado Zulia, Venezuela, entre las coordenadas 10° 15' latitud norte y 72° 25' longitud oeste. Esta zona se clasifica agro-ecológicamente como bosque seco tropical. Los eyaculados fueron colectados entre las 5:00 y 7:00 de la mañana mediante vagina artificial con temperatura entre 42-46°C. Una vez obtenido el eyaculado se realizó la evaluación seminal de rutina y las muestras clasificadas como idóneas para congelar fueron procesadas en un diluyente diseñado para bóvidos y almacenadas hasta su descongelación y evaluación (Rubio-Guillén et al., 2007). Cerciorada su calidad, 3 pajuelas por cada toro, que contienen 30 x 10<sup>6</sup> espermatozoides se trasladaron al Laboratorio de Andrología de Universidad de Zulia (Venezuela) para realizar las evaluaciones complementarias que permitan capitalizar los objetivos planteados en este experimento. Se descongeló cada pajuela de semen sumergiéndola en un baño de María (BM) a 37 °C durante 30 segundos y luego se vertió su contenido en un vial de micro centrífuga de 1,5 ml, ubicado en una gradilla colocada en BM a 37°C.

La integridad de la cromatina espermática se determinó mediante la coloración con AT siguiendo el procedimiento empleado por Nava-Trujillo et al. (2011). Para evaluar los frotis teñidos previamente con AT se utilizó el CASMA de un programa disponible comercialmente (Spem-class Analyzer, Update SCA® v.3.4, Microptic, Barcelona, España). Los frotis teñidos con AT se observaron con un aumento de 400X y se evaluó en forma simultánea la integridad de la cromatina y las dimensiones de la cabeza de cada espermatozoide. Se clasificaron como espermatozoides con cromatina normal, aquellos teñidos de color azul claro, mientras que los teñidos de color azul oscuro o violeta, se consideraron como células con cromatina dañada; las cuales generalmente tienen una apariencia granular fina, lo que facilita su identificación (Barth y Oko, 1989).

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). Los espermatozoides evaluados fueron seleccionados de acuerdo a sus dimensiones (largo, ancho, área y perímetro) usando un programa “k-means” que agrupa las observaciones en SP (1, 2, 3) mediante un análisis discriminante. Una vez establecidas las SP se realizó un Análisis de la Varianza para

determinar si existen diferencias entre éstas y se estableció un Chi-cuadrado para ver la relación entre la integridad de la cromatina (normal/dañada) y las SP.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 2.273 cabezas espermáticas teñidas con AT fueron evaluadas para determinar simultáneamente sus dimensiones y la integridad de la cromatina espermática mediante el sistema CASMA; 70,35% presentaron su cromatina normal y 29,65% estaba dañada. El análisis de agrupamiento en función de la biometría de la cabeza espermática (longitud, ancho, área y perímetro) estableció tres SP. La SP<sub>1</sub> estuvo compuesta por los espermatozoides con las cabezas más pequeñas y representó el 6,29% de la población total. La SP<sub>2</sub> con un representación importante del 60,54% se caracterizó por espermatozoides con cabezas de tamaño intermedio; mientras que la SP<sub>3</sub> representada por el 33,17% contenía los espermatozoides de mayor tamaño.

El eyaculado de toro no está compuesto por una población homogénea de espermatozoides. Este conocimiento ha permitido agrupar los espermatozoides de un eyaculado en SP en función de su morfometría (Rubio-Guillén et al., 2007). Avalando aquellos resultados, este experimento verifica de nuevo que es factible agrupar tres SP morfométricamente distintas, la de dimensiones de cabeza pequeña (SP<sub>1</sub>), intermedia (SP<sub>2</sub>) y la de mayor tamaño (SP<sub>3</sub>), además de observar diferentes proporciones en cada una de ellas, siendo la intermedia la de mayor porcentaje (60,54%). Esta información concuerda con los datos publicados por Rubio-Guillén et al. (2007) quienes describen una población intermedia predominante (50,45%) con similares características y concluyendo que la distribución es afectada por la criopreservación, la cual reduce también el tamaño de los espermatozoides. Este último hecho fue avalado dos años después (Gravance et al., 2009). Es interesante enfatizar que la SP predominante del eyaculado presenta la más baja proporción de espermatozoides con daño de la cromatina espermática. Al igual que en bóvidos, Nuñez-Martínez et al. (2007) describieron en cánidos una población intermedia predominante (SP<sub>2</sub>) con una baja proporción de cromatina dañada y un 50% de espermatozoides pequeños (SP<sub>1</sub>) con cromatina dañada. De igual manera, en este experimento, en la SP<sub>1</sub> (con menores dimensiones) el 53% de los espermatozoides presentaron la cromatina dañada, lo cual podría deberse a fallas en la compactación de la cromatina (Beletti et al., 2010). En los espermatozoides de mayor dimensión (SP<sub>3</sub>), el 42,31% presentan cromatina dañada, lo cual es una cifra elevada y no hay evidencias científicas que lo expliquen; sin embargo, se podría sugerir que un incremento de las dimensiones de la cabeza espermática se pudiese deber a la pérdida extensiva de protaminas que causaría una mayor descondensación de la cromatina. En semen humano, el porcentaje de espermatozoides teñidos positivamente con cromomicina A3, un indicador de deprotaminación, estuvo positivamente correlacionado con el porcentaje de espermatozoides macrocefálicos (Iranpour et al. 2000).

En conclusión, la tinción de azul de toluidina parece ser una técnica adecuada para la evaluación simultánea de la integridad de la cromatina y la morfometría de la cabeza espermática. Además, el análisis estadístico permitió identificar tres SP morfométricamente distintas y en las que el porcentaje de espermatozoides con cromatina dañada varió, siendo menor en la SP de cabeza intermedia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barth, A.D.; Oko, R.J. In: Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Ames: Iowa State University Press. Pp 130-192. 1989.
- Beletti, M.E., Costa, L. & Mendes, M. 2005. Braz J Mophol Sci. 22: 85-90.
- Beletti, M.E., Lemos, M.S., Gama-Campos, M.N., Pinto, D.A. & Moraes, A.S. 2010. In: Proceedings of 15<sup>th</sup> Meeting of the Brazilian Society for Cell Biology (Abstract 57). São Paulo, Brazil.
- Gravance, C.G., Casey, M.E., Casey, P.J. 2009. Anim Reprod Sci. 114: 81-88.
- Iranpour FG, Nasr-Esfahani MH, Valojerdi MR, Al-Taraihi TM, 2000. J Assist Reprod Genet. 1, 60-6.
- Melo, M.S.L.1982. Histochemistry. 74: 387-392.



Nava-Trujillo, H., Quintero-Moreno, A., Finol-Parra, G., Vilchez-Siu, V., Osorio-Meléndez, C., Rubio-Guillén, J. & Valeris-Chacín, R. 2011. *Rev Colomb Cien Pec.* 24: 116-122.  
 Núñez-Martínez, I., Moran J.M. & Peña, F.J. 2007. *Zygote* 15: 257-266.  
 Oliveira, L.Z., Dos Santos, R.M., Hoseepian De Lima, V.F.M., Arruda, R.P., Andrade, A.F.C., Junior, V.G., Beletti, M.E. 2011. *Livestock Sci.* 141: 267-271.  
 Rubio-Guillén, J., González, D., Garde, J., Esteso, M., Fernández, M., Rodríguez-Gil, J.E., Madrid, N. & Quintero-Moreno, A. 2007. *Reprod Domest Anim.* 42:354-357.

**Tabla 1.** Distribución de las subpoblaciones en semen criopreservado de toros de acuerdo a las dimensiones de la cabeza espermática (Media  $\pm$  Error estándar).

Parámetros morfológicos	SP <sub>1</sub>	SP <sub>2</sub>	SP <sub>3</sub>
Longitud ( $\mu\text{m}$ )	6,97 $\pm$ 0,54 <sup>c</sup>	7,77 $\pm$ 0,007 <sup>b</sup>	8,30 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
Anchura ( $\mu\text{m}$ )	3,86 $\pm$ 0,31 <sup>c</sup>	4,18 $\pm$ 0,004 <sup>b</sup>	4,44 $\pm$ 0,008 <sup>a</sup>
Área ( $\mu\text{m}^2$ )	23,69 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>	28,51 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	32,10 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	19,03 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>	21,05 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	22,57 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
Distribución porcentual, % (n)	6,29 (143)	60,54 (1376)	33,17 (754)

Valores con diferentes letras en la misma fila (a>b>c) implican diferencias significativas (P<0,0001).

La proporción de espermatozoides con daño en la cromatina estuvo incrementada en los espermatozoides con cabezas de menor (53,15%) y mayor tamaño (42,31%). La SP<sub>2</sub> (intermedia) que es la porcentualmente predominante del eyaculado presentó un porcentaje inferior (20,28%) y con diferencia estadísticamente significativa con las SP<sub>1</sub> y SP<sub>3</sub> (Tabla 2).

**Tabla 2.** Distribución proporcional de los espermatozoides en cada subpoblación en función del estatus de integridad de la cromatina espermática ( $\chi^2$ , P<0,0001)

Subpoblaciones espermáticas	Integridad de la cromatina (%)	
	Normal	Dañada
SP <sub>1</sub> (n = 143)	46,85	53,15
SP <sub>2</sub> (n = 1376)	79,72	20,28
SP <sub>3</sub> (n = 754)	57,69	42,31

## BULL SPERM WITH DAMAGED CHROMATIN ARE DISTRIBUTED DIFFERENTLY IN MORPHOMETRICALLY DISTINCT SUBPOPULATIONS

**ABSTRACT:** The aim of this study was to identify and characterize the morphometrically distinct sperm subpopulations (SP) stained with toluidine blue (AT) and to determine how sperm with damaged chromatin (DC) are distributed in each SP. To this, sperm of fifteen cryopreserved ejaculates from Brahman bulls were stained with AT, chromatin integrity status was determined to each sperm and simultaneously sperm head morphometry was determined using a CASMA software. Posteriorly statistical analysis to determine the number of sperm morphometrically distinct SP according to morphometric parameters (length, width, area and perimeter) was carried-out and the distribution of sperm with DC in each SP was evaluated. A total of 2273 sperm were analyzed, 70.35% with normal chromatin and 29.65% with DC. CLUSTER analysis identified three SP, smallest sperm-head (SP<sub>1</sub>) with 6.29%, intermediate sperm-head (SP<sub>2</sub>) with 60.54% and biggest sperm-head (SP<sub>3</sub>) with 33.17%. Percentage of sperm with damaged chromatin was lower (P<0.05) in SP<sub>2</sub> (20.58%) in comparison with SP<sub>1</sub> (53.15%) and SP<sub>3</sub> (42.31%). In conclusion, cluster analysis identified three morphometrically SP in bull semen, and sperm with DC were presented in these SP, but SP<sub>2</sub> had lowest percentage of sperm with DC, suggesting that this SP has more stable chromatin.

**Keywords:** sperm subpopulation, morphometry, chromatin, toluidine blue.

## **PERFIL ELECTROFORÉTICO BIDIMENSIONAL DE PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA ESPERMÁTICA DE TOROS SANMARTINERO**

Restrepo-Rubio<sup>1</sup>, N., Herrera-León<sup>1</sup>, R.F., Rueda-Alfonso<sup>1</sup>, F.L., Velásquez-Penagos<sup>1</sup>, J.G., Cebrián-Pérez<sup>2</sup>, J.A., Muiño-Blanco<sup>2</sup>, T. y Cardozo-Cerquera<sup>1</sup>, J.A.

<sup>1</sup>Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Colombia.

<sup>2</sup>Universidad de Zaragoza, España.

jcardozoc@gmail.com

### **INTRODUCCIÓN**

El desarrollo de la proteómica ha evidenciado que la fertilidad del macho está fuertemente ligada a la presencia o ausencia de proteínas específicas (DeJarnette et al., 2009). Se conoce que las proteínas de la membrana espermática juegan un papel decisivo en la fecundación y están implicadas en diversas funciones, como la motilidad, la unión a células del epitelio oviductal en el tracto reproductor femenino, la capacitación, la reacción acrosómica, la unión a zona pelúcida, penetración y unión con la membrana plasmática del ovocito para su posterior fusión (Calvete, 1995). El estudio de las proteínas de la membrana espermática permite explicar aspectos de la fisiología de la célula desde la perspectiva molecular, además de evidenciar interacciones entre diversas proteínas y su influencia en la funcionalidad del espermatozoide en las diferentes etapas de su vida.

Trabajos anteriores de nuestro grupo de investigación evidenciaron la superior fertilidad de los toros Sanmartinero, criollos colombianos, descendientes de las razas españolas, frente a toros de razas foráneas como el Cebú Brahman. El objetivo de este trabajo fue establecer por medio de electroforesis bidimensional, el perfil de las proteínas de la membrana espermática de toros Sanmartinero, la concentración de las mismas, y determinar su correlación con parámetros de calidad seminal, tales como motilidad individual, concentración y viabilidad espermáticas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El experimento se realizó con semen de 10 toros de la raza Sanmartinero, pertenecientes al Banco de germoplasma animal y ubicados en el centro de Investigación (CI) La Libertad de CORPOICA (departamento del Meta, Colombia). La determinación de los parámetros de calidad seminal y la extracción de las proteínas de membrana, se realizó en el laboratorio de Reproducción Integral Animal (CRIA) del mismo centro. La cuantificación de las proteínas de las muestras y la separación por electroforesis bidimensional de las proteínas, se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología Molecular (LMM) del Centro de Biotecnología y Bioindustria (departamento de Cundinamarca, Colombia). Las proteínas de membrana se obtuvieron por el Método N-Octyl L-Glucopiranoside (Pixton et al., 2004). La concentración de proteínas de membrana se determinó por el método de Bradford (1976). La 2D-PAGE se realizó de acuerdo al método descrito por O'Farrel et al. (1975). La tinción del gel se realizó con Sypro Ruby (Bio Rad, Rockville Centre, NY, EE.UU.) y las imágenes de los geles se analizaron con el software PDQuest de (Bio Rad, Rockville Centre, NY, EE.UU.). Todos los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico SAS ®. La correlación entre los puntos de proteína y las variables de calidad seminal se realizó por la prueba de Pearson.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La calidad espermática evidenció valores de 82,4±105 para viabilidad espermática, 85,5±11,7 para motilidad individual y concentración espermática de 1,528±424 x 10<sup>6</sup> espermatozoides/mL, similares a los reportados por Rueda 2010.

Se detectaron un total de 485 puntos de proteína, con pesos moleculares entre 10,5 y 163,6 kDa, y puntos isoeléctricos (Pis) entre 3,3 y 9,5. En el 2006, Roncoletta identificó 391 puntos de proteína en la membrana espermática de toros Nelore. En espermatozoides de moruecos de la raza Rasa Aragonesa, Cardozo (2011) detectó 150 puntos de proteína. Es importante destacar que este es el primer estudio del proteoma de la membrana espermática de toros Criollo Sanmartinero. El análisis evidenció que diez puntos de proteína se correlacionaron con las variables de calidad seminal mencionadas (Tabla 1). El punto de proteína de 14,25

kDa y pl de 5,43, podría corresponder a la SM246 descrita por Roncoletta (2006), la cual aparece en altas concentraciones en toros de baja fertilidad. Este hecho podría explicar en parte la correlación inversa encontrada con la viabilidad espermática en este trabajo. Es posible que esta proteína pertenezca al grupo de las BSP (*Bovine seminal plasma*) con un peso molecular de 14,3 kDa; pl 5 (SM246). Las BSP, son proteínas del plasma seminal, que se adsorben a la membrana espermática en el momento de la eyaculación, y desempeñan inicialmente un papel importante en la estabilización de la membrana (proceso conocido como decapitación espermática), impidiendo que ocurra la reacción acrosómica.

El punto de 40,05 kDa y pl 5,86 presentó correlación negativa con la viabilidad espermática; este podría corresponder a la proteína reguladora de la unión entre la cadena alfa de la proteína G y el GTP (Guanosin trifosfato) descrita por Pate (2008). De acuerdo a la función de regulación de esta proteína, es posible que para este caso, la proteína esté permitiendo la unión de la cadena alfa de la proteína G con la GTP, ocasionando la inestabilidad de la membrana o alteraciones en su morfología, lo que explicaría de esta forma la correlación negativa con la viabilidad espermática encontrada para ella en este estudio.

El punto de 50,97 kDa y pl 6,46, presentó correlaciones negativas con la viabilidad y la motilidad espermática, y podría corresponder a la tektina-2, descrita por Mariappa (2010), la cual es una proteína de membrana localizada a nivel flagelar, que contribuye a la estabilización de la compleja estructura de los micro túbulos del axonema. Mariappa (2010) demostró que la inhibición de la fosforilación en los residuos de tirosina de esta proteína resulta en el deterioro de la flexión del flagelo, por lo que su deficiencia puede desembocar en la infertilidad del macho, por la incapacidad del espermatozoide para moverse.

El punto de 42,03 kDa y pl 6,39, presentó correlación positiva con la concentración espermática. A este respecto, en la literatura internacional no se encontraron estudios de proteína alguna que incida sobre la concentración espermática y que corresponda con el peso molecular y punto isoelectrico mencionados, lo que hace suponer que se esté frente a una proteína aún no identificada. De otra parte, el punto de 163,6 kDa y pl 6,1, presentó correlación positiva con la concentración espermática; sin embargo tampoco se ha reportado proteína alguna con este peso molecular, relacionada con este parámetro.

Los resultados encontrados permiten entender la importancia del estudio del proteoma de la membrana espermática, para comprender la razón de la superior fertilidad encontrada en los toros de las razas bovinas criollas colombianas, cuando se comparan con reproductores de razas foráneas (Rueda, 2010). En esta investigación se evidenciaron relaciones entre diversas proteínas y funciones importantes del espermatozoide en la raza Sanmartinero.

Es necesario sin embargo, llevar a cabo la secuenciación de las proteínas que presentaron correlación con los parámetros de calidad seminal evaluados, con el fin de identificarlas y tener una aproximación más clara acerca de su funcionalidad en el espermatozoide.

Los resultados aquí presentados justifican la realización de futuras investigaciones que lleven a establecer marcadores moleculares de fertilidad, con miras a elevar los índices de eficiencia reproductiva de los hatos bovinos del país.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Calvete, J.J., Sanz, L., Enßlin, M., Töpfer, E., 1995. Sperm Surface Proteins. *Reproduction in Domestic Animals* 31, 101-105.
- Cardozo, J.A. 2011. Proteínas seminales ovinas protegen el esperma de los daños del frío, Ed. Agrícola Española, Zaragoza, España.
- DeJarnette, J.M., Nebel, R.L. Marshall, C.E., 2009, Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. *Theriogenology* 71(1), 49-58.
- Mariappa, D., Aladakatti, R.H., Dasari, S.K., Sreekumar, A., Wolkowicz, M., van der Hoorn, F., Seshagiri, P.B., 2010. Inhibition of tyrosine phosphorylation of sperm flagellar proteins, outer dense fiber protein-2 and tektin-2, is associated with impaired motility during capacitation of hamster spermatozoa. *Mol. Rep. Dev.* 77, 182-193.
- O'Farrell, P.H., 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 250, 4007 - 4021.
- Pate, B.J., White, K.L., Chen, D., Aston, K.I., Sessions, B.R., Bunch, T.D., Weimer, B.C., 2008. A novel approach to identify bovine sperm membrane proteins that interact with

receptors on the vitelline membrane of bovine oocytes. *Mol. Rep. Dev.* 75(4), 641-649. • Roncoletta, 2006. Fertility-associated proteins in Nelore bull sperm membranes. *Animal Reproduction Science* 91, 77-87. • Rueda, F., 2010. Proteínas del plasma seminal de toros sanmartinero y cebú y su relación con la integridad de la membrana del espermatozoide sometido a procesos de criopreservación. Maestría. Universidad Nacional de Colombia Bogotá.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Agricultura, Fedegan, IICA (código de proyecto: 2010-1284) y CORPOICA.

**Tabla 1.** *Peso molecular (Mr) en kiloDaltons (kDa), punto isoeléctrico (pI), y correlación de los puntos de proteína de la membrana espermática de toros de raza Sanmartinero con los parámetros de calidad seminal.*

Punto (Mr (kDa); pI)	SANMARTINERO		
	Motilidad	Concentración	Viabilidad
(14,25; 5,43)			-0,74 p<0,01
(22,28; 5,68)		0,78 p<0,002	
(40,05; 5,86)			-0,44 p<0,04
(42,03; 6,39)		0,55 p<0,01	
(50,21; 5,66)		0,67 p<0,01	
(50,97; 6,46)	-0,60 p< 0,05		-0,62 p<0,04
(55,97; 5,48)			-0,69 p<0,02
(57,55; 6,70)	-0,75 p<0,01	-0,76 p<0,01	
(58,94; 5,57)			-0,61 p<0,01
(163,66; 6,13)		0,51 p<0,02	

## TWO-DIMENSIONAL ELECTROPHORETIC PROTEIN PROFILE OF THE SPERM MEMBRANE FROM SANMARTINERO BULLS

**ABSTRACT:** This study was conducted to analyze the bovine sperm membrane proteins composition using two-dimensional polyacrilamide gel electrophoresis (2D-PAGE) with a polyacrilamide linear gradient gel and the correlation between specific protein and semen characteristics. Semen samples from 10 Sanmartinero bulls, 3 to 4 yrs of age, were assessed for semen quality in terms of spermatozoa motility viability and sperm concentration. Spermatozoa extracts were separated using 2D-PAGE followed by staining with sypro ruby. Three ejaculates per bull were analyzed. Semen was analyzed for percentages of motility and viability and for sperm concentration. In the present work 2D-PAGE of proteins extracted from Sanmartinero bull spermatozoa led to the resolution of 485 protein spots, with pIs ranging from 3.3 to 9.5, and molecular weight from 10.5 to 163.6 kDa. Ten protein spots were negatively or positively correlated with some semen quality parameters (motility, viability, concentration). Thus, this study indicates that bovine sperm membrane contains specific proteins that are associated with semen characteristics. It may be that these protein patterns can be used as markers for improving bovine reproduction. The present data provide new and important information on reproduction Colombian creole cattle bull and opens up the possibility to perform additional experiments.

**Key words:** Electrophoresis, sperm membrane proteins, proteomic, seminal viability.

## **EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE GLICEROL Y DE LA TASA DE DILUCIÓN SOBRE LA CALIDAD *IN VITRO* Y LA CAPACIDAD FECUNDANTE DEL SEMEN CRIOCONSERVADO DE GALLOS DE RAZA GALLINA VALENCIANA DE CHULLILLA**

Tomás<sup>1</sup>, C., Blanch<sup>1</sup>, E., Casares<sup>2</sup>, L., Gómez<sup>1</sup>, E.A., Sansano<sup>2</sup>, S., Giménez<sup>2</sup>, I. y Mocé, E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CITA-IVIA. Apdo. 187. 12400-Segorbe (Castellón). España. <sup>2</sup>Rara Avis Biotec S.L. Valencia. España. [moce\\_eva@gva.es](mailto:moce_eva@gva.es)

### **INTRODUCCIÓN**

Para la congelación del semen de gallos se utiliza mayoritariamente el glicerol (G), ya que algunos autores observaron que este crioprotector es el mejor para líneas subfértiles (Blesbois, 2007). No obstante, es necesaria su eliminación como paso previo a la inseminación por su efecto anticonceptivo sobre la hembra si su concentración excede el 1% (Lake et al., 1980).

La concentración de G más utilizada en los protocolos actuales es del 11% (Long et al., 2010; Mocé et al., 2010; Purdy et al., 2009) y la tasa de dilución (TD) para su eliminación es de 1:4 (Seigneurin y Blesbois, 1995). No obstante, los protocolos más antiguos utilizaban 8% G y TD de 1:8 (Lake et al., 1981). Por otra parte, existen grandes diferencias en la resistencia a la congelación entre razas, tanto en calidad *in vitro* (Long, 2006) como en fertilidad *in vivo* (Blesbois et al., 2007). Esto tiene gran importancia en el establecimiento de los bancos de semen, ya que determinará el número de pajuelas que será necesario guardar para el restablecimiento de las poblaciones.

La Gallina Valenciana de Chulilla es una raza autóctona de la Comunidad Valenciana, catalogada como raza en peligro de extinción. Por ello, se estableció un programa de conservación de esta raza en el que se contemplaba la creación de un banco de semen.

El objetivo de este trabajo fue comparar la calidad *in vitro* y la fertilidad *in vivo* del semen crioconservado de gallos de la raza Gallina Valenciana de Chulilla procesado con dos concentraciones de G (8 y 11%) y dos TD (1:4 y 1:8) para eliminar el G.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los reactivos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich (Madrid, España), excepto el yoduro de propidio (PI) y el SYBR-14, que fueron adquiridos en Invitrogen (Barcelona, España). Para la valoración del semen fresco se utilizó el diluyente BPSE-I y para la congelación con glicerol (G) el LPC. Para la dilución del semen post-descongelación se utilizó el medio Lake centri (LC). El diluyente Lake 7.1 (L7.1) se utilizó para resuspender los espermatozoides después de eliminar el G y para valorar las muestras congeladas. La composición de los diluyentes está detallada en Mocé et al. (2010) y Lake y Ravie (1979). La motilidad en las muestras frescas se valoró con BPSE suplementado con BSA (0,3 %) y para el análisis por citometría de flujo (EPICS XL, Coulter Corporation Inc., Miami, FL, EE.UU.) se utilizó el BPSE. En el caso de las muestras congeladas, para evaluar la motilidad se utilizó el medio L7.1 suplementado con G (11 % u 8%; Purdy et al., 2009) y BSA, y para la citometría se usó L7.1-G (durante la incubación con las tinciones) y L7.1 para la dilución final y el análisis de las muestras. Para la evaluación de la motilidad de las muestras descongeladas tras la eliminación del glicerol se utilizó L7.1 suplementado con BSA.

Los gallos (n = 26) pertenecían a la raza Gallina Valenciana de Chulilla. Para las inseminaciones se utilizaron gallinas ponedoras (n = 40) de la línea Lohmann Brown Classic. El semen fue extraído y almacenado según el protocolo descrito en Blanch et al., (2011). Los eyaculados válidos se mezclaron para constituir un *pool* (n = 9) y cada *pool* fue dividido y cada mitad congelada con una concentración de G distinta, siguiendo el protocolo descrito por Blesbois et al., (2008), detallado en Blanch et al., (2011).

La descongelación se realizó en baño de agua a 5 °C, en 3 min. Para preparar las dosis de inseminación se descongelaron un total de 450 x 10<sup>6</sup> espermatozoides/gallina. Cada una de las concentraciones de glicerol se subdividió en dos alícuotas, siendo cada una diluida con un protocolo distinto. Para eliminar el G se realizaron diluciones seriadas con LC (1:4 y 1:8) según protocolos descritos previamente (Lake et al., 1981; Mocé et al., 2010). Después de la última dilución el contenido total de cada uno de los tratamientos se dividió en tubos que contenían el volumen necesario para una dosis de inseminación y se centrifugaron a 550 g

durante 15 min a 5 °C. El sobrenadante fue eliminado y cada pellet se resuspendió con 75 µl de L7.1 (dilución 1:1, aproximadamente).

Cada gallina fue inseminada por vía intravaginal con una pipeta automática (Microman® M250, Gilson, Grupo Taper S.A., Alcobendas, Madrid, España). Cada gallina recibió dos inseminaciones artificiales (IA; 300 x 10<sup>6</sup> espermatozoides/IA en 150 a 160 µl) separadas 48 h (d 0 y d 2). Se inseminaron 10 gallinas por cada tratamiento (concentración G x TD), en 15 min desde la eliminación del sobrenadante. Los huevos se recogieron desde el día 2 hasta el día 5, fueron incubados y a los 7 días se evaluaron en el ovoscopio. La tasa de fertilidad (%) se calculó como número de huevos fecundados/número de huevos incubados x 100.

La evaluación de la motilidad y de la viabilidad se realizaron según los protocolos descritos en Blanch et al., (2011).

Los datos de calidad de semen fueron analizados con el programa SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU). El ajuste Tukey-Kramer se utilizó para evaluar las diferencias entre medias (P<0,05). Para el análisis de los parámetros de calidad seminal, se usó un modelo mixto en el que se incluyó el *pool* como efecto aleatorio. Para el análisis de los datos de calidad de semen nada más descongelar se incluyó la concentración de G como efecto fijo y en el análisis de la calidad del semen tras la eliminación del G se incluyeron la concentración de G, la TD y su interacción como efectos fijos. Los datos de tasa de fertilidad se analizaron con un GLM incluyendo la concentración de G, la TD y su interacción como efectos fijos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad del semen fresco fue elevada (90%, 80% y 96% espermatozoides móviles totales, móviles progresivos y vivos, respectivamente; datos no mostrados en tablas). La calidad del semen descongelado fue elevada y similar para las dos concentraciones de glicerol antes (Tabla 1) o después de eliminar el glicerol con las dos TD (Tabla 2). De hecho, estos resultados de calidad *in vitro* son más elevados que los de otros autores (Long, 2006; Mocé et al., 2010; Purdy et al., 2009; Seigneurin y Blesbois, 1995).

Es difícil realizar comparaciones con otros trabajos en los resultados de fertilidad, por las diferencias que existen en el número de IA realizadas, dosis de IA o días de recogida de huevos. Además, no tenemos constancia de que existan trabajos similares en los que se hayan comparado estas dos concentraciones de G y estas dos TD. Sorprende la escasa fertilidad que presentaron nuestras dosis congeladas con 11% G para las dos TD utilizadas (Tabla 2), ya que es un protocolo ampliamente contrastado (Blesbois et al., 2008; Chalah et al., 1999; Seigneurin y Blesbois, 1995) que ha dado también buenos resultados en otras poblaciones de gallinas subfértiles o en peligro de extinción (del 25 al 59% de fertilidad; Blesbois et al., 2007). En el caso de la TD 1:4, la baja fertilidad podría deberse al nivel de G tras la centrifugación y dilución del pellet (1,1%), aunque con la TD 1:8 la fertilidad debería haber mejorado (G en la dosis de inseminación: 0,44%). Por lo tanto, los bajos resultados obtenidos con 11% G parecen deberse a la concentración de partida. Los resultados mejoraron al congelar con 8% G y, a pesar de que los resultados fueron inferiores a los obtenidos por otros autores con TD1:8 (90% fertilidad; Lake et al., 1981), son similares a los de otros autores que utilizaron líneas de gallinas en peligro de extinción (2-9%; Fontgibell y Francesch, 1998). No obstante, nuestros resultados de fertilidad mejoraron al usar 8% G y TD 1:4, aunque no nos consta que esta combinación haya sido utilizada previamente. Probablemente las diferencias de fertilidad entre tratamientos sean debidas a los daños osmóticos que se producirían en los espermatozoides durante el proceso de dilución del G (mayores a más G y mayor TD), como sugieren Hammersted y Graham (1992).

En conclusión, la calidad *in vitro* del semen congelado de los gallos de la raza Gallina Valenciana de Chulilla es elevada con las dos concentraciones de G, aunque los mejores resultados de fertilidad se obtienen al congelar con 8% G y eliminar el G con TD 1:4. Estos resultados pueden ser útiles para otras poblaciones de gallinas en peligro de extinción en las que no se obtengan buenos resultados de fertilidad al utilizar protocolos estándar de congelación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blanch, E., Tomás, C., Sansano, S., Gómez, E.A., Casares, L., Giménez, I. & Mocé, E. 2011. AIDA I: 407-409.
- Blesbois, E. 2007. Worlds Poult. Sci. J. 63: 213-222.
- Blesbois, E.,

Seigneurin, F., Grasseau, I., Limouzin, C., Besnard, J., Gourichon, D., Coquerelle, G., Tixier-Boichard, M. 2007. *Poult. Sci.* 86: 555-564. • Blesbois, E., Grasseau, I., Seigneurin, F., Mignon-Grasteau, S., Saint Jalme, M. & Mialon-Richard, M.M. 2008. *Theriogenology* 69: 252-261. • Chalah, T., Seigneurin, F., Blesbois, E. & Brillard, J.P. 1999. *Cryobiology* 39: 185-191. • Fontgibell, A. & Francesch, A. 1998. *Arch. Zootec.* 47: 335-341. • Hammersted, R.H. & Graham, J.K. 1992. *Cryobiology* 29: 26-38. • Lake, P.E. & Ravie, O. 1979. *J. Reprod. Fert.* 57: 149-155. • Lake, P.E., Buckland, R.B. & Ravie, O. 1980. *Cryo-Letters* 1: 299-304. • Lake, P.E., Ravie, O. & McAdam, J. 1981. *British Poult. Sci.* 22: 71-77. • Long, J.A. 2006. *Poult. Sci.* 85: 232-236. • Long, J.A., Bongalhardo, D.C., Peláez, J., Saxena, S. Settar, P., O'Sullivan, N.P. & Fulton, J.E. 2010. *Poult. Sci.* 89: 966-973. • Mocé, E., Grasseau, I. & Blesbois, E. 2010. *Anim. Reprod. Sci.* 122: 359-366. • Purdy, P.H., Song, Y., Silversides, F.G. & Blackburn, H.D. 2009. *Poult. Sci.* 88: 2184-2191. • Seigneurin, F. & Blesbois, E. 1995. *Theriogenology* 43: 1351-1358.

**Agradecimientos:** financiado por INIA RZ2008-00027-00-00 y co-financiado por fondos FEDER. Agradecemos la financiación del MICINN (C. Tomás, FPI Ref. BES-2007-17063; E. Mocé; ref. RYC-2010-06162; Madrid) and CAPA (E. Blanch, CAPA, DOGV5324; Valencia).

**Tabla 1.** *Parámetros de calidad in vitro de pools de semen congelado-descongelado (n = 9) de gallos de la raza Gallina Valenciana de Chulilla antes de la eliminación del glicerol*

Concentración de glicerol	Móviles totales (%)		Móviles progresivos (%)		Vivos (%)	
	l.s.m.	e.e.	l.s.m.	e.e.	l.s.m.	e.e.
8%	68,2	3,7	39,0	4,1	70,2	3,1
11%	70,0	3,7	40,1	4,1	70,3	3,1

l.s.m.: medias por mínimos cuadrados; e.e.: error estándar.

**Tabla 2.** *Calidad in vitro y de fertilidad in vivo de pools de semen crioconservado de gallos de la raza Gallina Valenciana de Chulilla, después de la eliminación del glicerol*

		Móviles totales (%)		Móviles progresivos (%)		Fertilidad (%)	
		l.s.m.	e.e.	l.s.m.	e.e.	l.s.m.	e.e.
Glicerol	8%	60,3	2,2	48,6	2,6	21,4 <sup>a</sup>	1,7
	11%	56,0	2,2	43,6	2,6	1,6 <sup>b</sup>	1,7
Dilución	1:4	59,5	2,2	47,8	2,6	15,7 <sup>a</sup>	1,7
	1:8	56,8	2,2	44,4	2,6	7,3 <sup>b</sup>	1,7
Glicerol x dilución	8%, 1:4	62,3	3,0	49,8	3,1	31,4 <sup>A</sup>	2,4
	8%, 1:8	58,3	3,0	47,4	3,1	11,5 <sup>B</sup>	2,4
dilución	11%, 1:4	56,7	3,0	45,8	3,1	0 <sup>C</sup>	2,4
	11%, 1:8	55,3	3,0	41,4	3,1	3,1 <sup>BC</sup>	2,4

l.s.m.: medias por mínimos cuadrados; e.e.: error estándar; <sup>a,b</sup>: indican diferencias entre concentraciones de glicerol (P < 0,05); <sup>α,β</sup>: indican diferencias entre diluciones (P < 0,05); <sup>A,B,C,D</sup>: medias con letras no comunes indican diferencias entre grupos (P < 0,05).

## EFFECT OF GLYCEROL CONCENTRATION AND DILUTION RATE ON THE QUALITY *IN VITRO* AND THE FERTILIZING ABILITY OF CRYOPRESERVED SPERM FROM ROOSTERS BELONGING TO THE 'GALLINA VALENCIANA DE CHULILLA' BREED

**ABSTRACT:** The "Gallina Valenciana de Chulilla" is an endangered autochthonous chicken breed from the Comunidad Valenciana which is currently being preserved. The objective of this study was to compare the *in vitro* quality and fertilizing ability of sperm cryopreserved with two different glycerol (G) concentrations (8 and 11%) and two dilution rates (DR; 1:4 and 1:8) for the G removal. The quality was similar form both G concentrations and DR (55 to 62% total motile sperm). However, the fertilizing ability of the sperm cryopreserved with 11% G was close to zero while the group 8% G and DR 1:4 exhibited the highest fertilizing ability (31% of fertilized eggs). In conclusion, the combination 8% G and DR 1:4 is recommended for the cryopreservation of the semen from this breed.

**Keywords:** freezing, glycerol, dilution rate, chicken.

## **EFFECTO DE LA LINEA GENÉTICA DEL MACHO SOBRE LA ACTIVIDAD ALANINA AMINOPEPTIDASA DEL PLASMA SEMINAL DE CONEJO**

Viudes de Castro, M.P. y Mocé, E.

CITA-IVIA. Polígono la Esperanza, nº 100, 12400. Segorbe (Castellón).

viudes\_mar@gva.es

### **INTRODUCCIÓN**

En conejo, al ser una especie de ovulación inducida, la inseminación artificial requiere un control efectivo de la ovulación, por lo que en el momento de la aplicación de la dosis seminal hay que inducir la ovulación. Por ello, en el momento de la aplicación de la dosis seminal se induce la ovulación con un análogo sintético de la GnRH, que habitualmente es administrado por vía intramuscular. El procedimiento de inseminación artificial puede simplificarse sustituyendo la aplicación intramuscular de la GnRH mediante su incorporación en el diluyente (Quintela et al., 2004; Viudes de Castro et al., 2007; Vicente et al., 2008; Ondrusca et al., 2008; Quintela et al., 2009; Vicente et al., 2011), lo que reduce el tiempo de aplicación de la dosis seminal a la vez que evita el riesgo asociado al uso de jeringuillas del personal que aplica la dosis y el estrés animal asociado al pinchazo. No obstante, se ha descrito la presencia de enzimas proteolíticas en el plasma seminal de distintas especies (Morton, 1977; Thurston et al., 1993), por lo que la eficacia de la hormona en el diluyente dependerá tanto de la absorción del compuesto por la mucosa vaginal como de la degradación del análogo por parte de las enzimas presentes en el plasma seminal (Vicente et al., 2011). Por ello, la concentración necesaria del análogo de GnRH cuando se aplica en el diluyente es muy superior a la que se utiliza intramuscularmente.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el posible efecto de la línea genética del macho de conejo sobre la actividad alanina aminopeptidasa del plasma seminal.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron machos pertenecientes a dos líneas genéticas distintas, 12 machos de la línea A, seleccionada por tamaño de camada al destete, y 12 machos de la línea R, seleccionada por velocidad de crecimiento en el periodo de engorde (Estany et al., 1989; 1992). Los machos fueron alojados en la granja experimental del Centro de Investigación y Tecnología Animal de Segorbe (CITA-IVIA, Castellón, España). El semen fue recuperado mediante vagina artificial. Los eyaculados fueron evaluados individualmente y aquellos que presentaron una calidad apta para inseminación (70% de motilidad y menos del 15% de formas anormales o acrosomas dañados) se utilizaron para constituir la mezcla heteroespérmica de cada una de las líneas genéticas. En total, se usaron 10 mezclas heteroespérmicas de la línea A y 14 de la línea R. El plasma seminal se obtuvo mediante centrifugación a 10.000 g durante 10 min a 20 °C, el sobrenadante obtenido se volvió a centrifugar en las mismas condiciones para eliminar espermatozoides residuales, y fue finalmente almacenado a -80 °C hasta su posterior análisis.

La actividad de la enzima alanina aminopeptidasa en el plasma seminal se determinó mediante fluorometría de acuerdo con el método de Greenberg (1962), con algunas modificaciones. Este ensayo se basa en la fluorescencia de la  $\beta$ -naftilamida que es generada en la reacción de hidrólisis del sustrato L-Ala- $\beta$ -naftilamida que es hidrolizada por la enzima. Cada determinación enzimática se llevó a cabo por triplicado, utilizándose placas blancas de 96 pocillos. Las muestras fueron incubadas con el sustrato durante 30 min a 37 °C, tras los cuales se detuvo la reacción con tampón acetato 0,1 M (pH 4,2). La  $\beta$ -naftilamida liberada como consecuencia de la actividad enzimática se cuantificó fluorimétricamente a 460 nm de emisión, con una excitación de 355 nm. Los valores de fluorescencia obtenidos con las muestras experimentales se transformaron en picomoles de  $\beta$ -naftilamida liberada mediante la extrapolación de sus valores en una recta de calibración previamente obtenida. La cuantificación de proteína total de las muestras seminales se llevó a cabo mediante el método del ácido bicinónico (BCA) utilizando BSA como patrón de proteínas (Smith et al., 1985). Las medidas de actividad enzimática se expresaron finalmente como



pmoles de  $\beta$ -naftilamida liberados por miligramo de proteína contenida en la muestra y por minuto de incubación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo se muestran en la tabla 1. En ella podemos observar que existe un efecto significativo ( $P < 0,001$ ) de la línea genética del macho sobre la actividad alanina aminopeptidasa del plasma seminal. La línea A mostraba una menor actividad enzimática que la línea R (141,332 vs 180,151 pmoles/mg de proteína/min). Estos resultados demostrarían la existencia de actividad aminopeptidasa en el plasma seminal del conejo que podría afectar a la actividad del análogo sintético de la GnRH cuando es adicionado al diluyente y que además varía en función de la línea genética de los machos. Esto explicaría las diferencias encontradas entre distintos autores utilizando el mismo análogo sintético pero con machos que pertenecían a diferente línea genética. Así, Quintela et al., (2004), con machos Hyplus precisaban añadir al diluyente acetato de buserelina en una concentración de 16  $\mu\text{g}$ /dosis de inseminación para obtener una fertilidad y prolificidad comparable a la obtenida por aplicación de la hormona intramuscularmente (0,8  $\mu\text{g}$ ), mientras que Viudes-de-Castro et al., (2007) con machos R, utilizando 5  $\mu\text{g}$  de acetato de buserelina por dosis de inseminación en el diluyente, obtuvieron tasas de fertilidad y tamaños de camada similares al grupo control (aplicación intramuscular de 1  $\mu\text{g}$  de acetato de buserelina). Además, Vicente et al., (2008), utilizando la misma concentración de análogo sintético, observaron diferencias entre granjas que utilizaban diferentes líneas de machos (R e Hyplus). Por otra parte, Vicente et al., (2011) demostraron la importancia de la concentración de espermatozoides en los resultados de fertilidad obtenidos al utilizar un diluyente suplementado con 5  $\mu\text{g}$  de acetato de buserelina por dosis de inseminación. Así, la fertilidad era superior cuanto menor era el número de espermatozoides en la dosis de inseminación ( $6 \times 10^6$  vs. 24, 50 y  $100 \times 10^6$  espermatozoides). Además, estos autores observaron que la inducción de la ovulación mejoraba significativamente cuanto mayor era la dilución del plasma seminal, es decir, que la eficacia del análogo de GnRH para inducir la ovulación estaba determinada por la tasa de dilución del plasma seminal. En este caso, a diluciones del semen 1/20 la eficacia del diluyente suplementado hormona para inducir la ovulación era similar a la del grupo control (inyección intramuscular de la hormona). Las aminopeptidasas presentes en el plasma seminal pueden afectar tanto al metabolismo como a la funcionalidad del espermatozoide. De los resultados obtenidos en el presente trabajo podemos concluir que la cantidad de alanina-aminopeptidasa presente en el plasma seminal del conejo varía en función de la línea del macho que se utilice, lo que podría afectar a la eficacia del análogo hormonal de GnRH cuando éste se añada al diluyente de inseminación. Por ello, sería necesario estudiar si es posible inhibir la actividad aminopeptidasa del plasma seminal sin que se vea afectado el metabolismo y la viabilidad espermática, la fertilidad de la hembra o el tamaño de la camada. Por otra parte, también sería necesario estudiar la resistencia a la degradación enzimática de los distintos análogos sintéticos de la GnRH utilizados en los diluyentes de inseminación artificial en conejo, ya que la actividad enzimática del plasma seminal determinará la concentración óptima del análogo sintético en el diluyente para que los resultados de inseminación sean similares a los que se obtienen aplicando la hormona intramuscularmente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Greenberg, L.J. 1962. Fluorimetric measurements of alkaline phosphatase and aminopeptidase activities in the order of  $10^{-14}$  mole. *Biochem Biophys Res Commun*;9:430–435.
- Estany, J., Baselga, M., Blasco, A., Camacho, J. 1989. Mixed model methodology for estimation of genetic response to selection in litter size in rabbits. *Livest Prod Sci*;21:67–75.
- Estany, J., Camacho, J., Baselga, M., Blasco, A. 1992. Selection response of growth rate in rabbits for meat production. *Genet Sel Evol*;24:527–37.
- Quintela, L., Peña, A., Vega, M., Gullón, J., Prieto, C., Barrio, M., Becerra, J., Maseda, F. Herradón, P. 2004. Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial insemination by adding buserelin to the seminal dose. *Reprod*

Nutr Develop;44:79–88. ●Viudes de Castro M.P., Lavara, R., Marco-Jiménez, F., Cortell, C., Vicente, J.S. 2007. Ovulation induced by mucosa vaginal absorption of buserelin and triptorelin in rabbit. *Theriogenology*;68:1031–36. ●Vicente, J.S., Lavara, R., Marco-Jiménez, F., Viudes de Castro, M.P. 2008. Rabbit reproductive performance after insemination with buserelin acetate extender. *Livestock Sci* ;115:153–7. ● Ondruška, L., Parkányi, V., Rafay, J., Chlebec, I. 2008. Effect of LHRH analogue included in seminal dose on kindling rate and prolificacy of rabbits artificially inseminated. 9th WRC. ● Quintela, L.A., Peña, A.I., Vega, M.D., Gullón, J., Prieto, C., Barrio, M., Becerra, J.J., Herradón, P.G.. 2009. Reproductive performance of rabbit does artificially inseminated via intravaginal administration of [des-Gly 10, D-Ala6]-LHRH Ethylamide as ovulation inductor. *Reprod Dom Anim*;44:829–33. ●Vicente, J.S., Lavara, R., Marco-Jiménez, F., Viudes de Castro. M.P. 2008. Rabbit reproductive performance after insemination with buserelin acetate extender. *Livestock Sci*;115:153–7. ● Vicente, J.S., Lavara, R., Marco-Jiménez, F., Viudes de Castro, M.P. 2011. Detrimental effect on availability of buserelin acetate administered in seminal doses in rabbits. *Theriogenology* 76: 1120–25. ●Morton, D.B. 1977. The occurrence and function of proteolytic enzymes in the reproductive tract of mammals. In: Barret AJ (ed.), *Proteinases in Mammalian Cells and Tissues*. Amsterdam: Elsevier North Holland Biomedical Pres. pp:445-500. ●Thurston, R.J., Korn, N., Froman, D.P., Bodine, B.D. 1993. Proteolytic enzymes in seminal plasma of domestic turkey (*Meleagris gallopavo*). *Biol Reprod* 48, 393-402.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto RTA2010-00117-00-00 del INIA y los fondos europeos FEDER y mediante fondos del Subprograma Ramón y Cajal del MICINN (E. Mocé; ref. RYC-2010-06162; Madrid).

**Tabla 1.** Efecto de la línea genética del macho sobre la actividad alanina aminopeptidasa

Línea	N	Actividad (pmoles/mg de proteína/min)
A	10	141,332 <sup>a</sup>
R	14	180,151 <sup>b</sup>

N= número de mezclas heteroespérmicas utilizadas

a, b: valores con distinto superíndice en la misma columna difieren significativamente al 99%(P<0,01)

### EFFECT OF THE GENETIC LINE ON THE ALANINE AMINOPEPTIDASE ACTIVITY IN RABBIT SEMINAL PLASMA

**ABSTRACT:** In rabbits, artificial insemination requires an effective control of ovulation. The most frequent method used for ovulation induction in rabbits artificially inseminated is the intramuscular administration of GnRH, but there are clear breeding advantages using the GnRH analogue on seminal dose. In this respect, several authors reported the possibility of ovulation induction after supplementation of semen extender with a GnRH synthetic analogue. Therefore, the concentration of GnRH analogue needed when it is included in the extender is much higher than that used intramuscularly. On the other hand, seminal plasma from several species has an important aminopeptidase activity, and this proteolytic activity could alter the effective concentration of GnRH analogue available to be absorbed via vaginal mucosa. The aim of this study was to evaluate the effect of the genetic line on the alanine aminopeptidase activity in the seminal plasma of male rabbits. Results showed that A line, selected for maternal characteristics, showed a significantly lower aminopeptidase activity than R line, selected for growth rate from weaning to slaughter. This result suggests that the genetic line of the male could determine the concentration of GnRH analogues needed in supplemented extenders to obtain similar reproductive performance than that obtained after intramuscular administration.

**Keywords:** aminopeptidase, seminal plasma, rabbit

## **CAMBIOS ESTACIONALES EN LA CALIDAD SEMINAL DE NEOMACHOS DE TRUCHA ARCOIRIS (*Oncorhynchus mykiss*): INTEGRIDAD DE LA CROMATINA**

Fernández-Díez, C., González-Rojo, S., Robles, V., Martínez-Pastor, F. y Herráez, M.P.

Dpto. Biología Molecular, Área Biología Celular, Universidad de León, 24071, León.  
paz.herraez@unileon.es

### **INTRODUCCIÓN**

El uso de gametos de buena calidad es imprescindible para asegurar la descendencia y satisfacer la demanda del mercado de la acuicultura. Durante los últimos años ha cobrado importancia la evaluación del estado de la cromatina espermática, ya que se ha demostrado una relación entre su integridad y la capacidad fecundante (Evenson *et al.*, 1999). Además, estudios recientes demuestran la importancia de algunos genes paternos en el control del desarrollo embrionario temprano (Delbés *et al.*, 2010), de forma que las modificaciones de la cromatina podrían provocar efectos deletéreos, aumentando la tasa de abortos (Lin *et al.*, 2008). Se considera que el daño en el DNA es causado en gran medida por la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), debida a la actividad celular y acrecentada en diferentes situaciones (Dietrich *et al.*, 2005).

La producción de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) se basa en la cría de progenies monosexo “todo hembras”. Las técnicas empleadas para feminizar la población consisten en la utilización como reproductores de neomachos, hembras transformadas sexualmente en machos. Estos neomachos no desarrollan espermiductos por lo que los espermatozoides han de obtenerse sacrificando al animal y triturando el testículo. La suspensión obtenida contiene una mezcla de células somáticas y germinales en diferente fase de la espermatogénesis, carece de plasma seminal y no contiene las secreciones que se incorporan en los espermiductos (Robles *et al.*, 2003). El esperma obtenido puede ser más susceptible de sufrir daños oxidativos, tanto por la ausencia de las secreciones antioxidantes, como por la presencia de células inmaduras, con mayor actividad mitocondrial (Pérez-Cerezales *et al.*, 2009). Por otra parte, los lotes de reproductores se encuentran sometidos a diferentes regímenes de fotoperiodo con el fin de conseguir maduración gonadal a lo largo del año. Hay datos que sugieren que la modificación del periodo de puesta modifica la calidad seminal (Robles *et al.*, 2003) y también afectará, posiblemente, a la estabilidad de la cromatina espermática. Nuestro objetivo es evaluar los posibles cambios estacionales en la integridad de la membrana y la cromatina a lo largo del año.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se recogieron muestras de neomachos de trucha arco iris, sometidas a fotoperiodo artificial, en diferentes momentos del año: diciembre, marzo, junio y septiembre. Los animales se sacrificaron siguiendo los procedimientos de la planta de producción y tras la limpieza del testículo se trituró y diluyó 1:10 (v:v) en solución maduradora DIMAT<sup>®</sup>. Tras 2h se evaluó, mediante citometría de flujo, la viabilidad y apoptosis, utilizando los marcadores Ioduro de propidio (IP) y YO-PRO1, así como el grado de fragmentación de la cromatina mediante el ensayo del cometa, siguiendo los procedimientos de lisis, electroforesis, tinción y cuantificación de la cromatina fragmentada que fueron puestos a punto en estudios previos (Pérez-Cerezales *et al.*, 2009). Para cada muestra se analizó el porcentaje de células cuyo ADN no presentaba fragmentación (0-15% DNAt), el de células con un nivel medio de fragmentación, posiblemente compatible con la capacidad de fecundar (5-15% DNAt), y el de células alto grado de fragmentación ( $\geq 15\%$  DNAt), probablemente incompatible con la capacidad de fecundar. Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS 20 para Windows y el test SNK para la comparación de medias ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

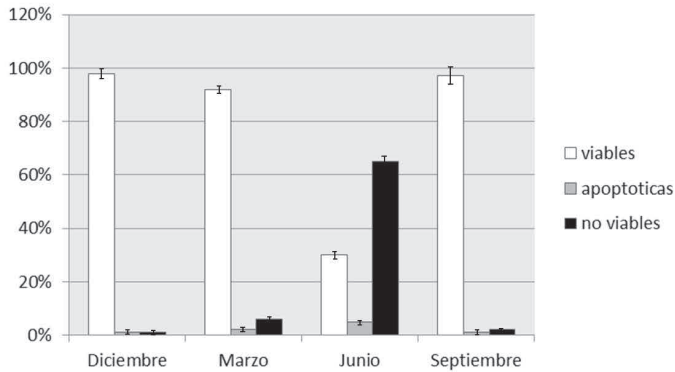
El análisis de los resultados obtenidos a las 2 h de la recogida de muestras, refleja que la calidad seminal es óptima en los meses de diciembre y marzo, al principio y final del periodo natural de puesta, respectivamente, reduciéndose de forma muy acusada en el mes de junio, fuera del periodo natural de puesta. Así, en el mes de marzo la viabilidad fue superior al 90% (Figura 1) y el 85% de las células mostraron un grado de fragmentación inferior al 5% ADNt (Figura 2), grado que se considera compatible con la capacidad de fecundar y proporcionar una progenie sana y un reducido número de abortos (Pérez-Cerezales *et al.*, 2010). Sin embargo, las muestras de junio presentaron baja viabilidad y altas tasas de fragmentación de la cromatina, reduciéndose el porcentaje de células no fragmentadas hasta menos del 50%. Las consecuencias de esta pérdida de calidad espermática pueden ser diversas. Por una parte es previsible que la reducción de las células viables disminuya la capacidad fecundante del semen, de forma que se requiera un mayor número de espermatozoides/huevo para conseguir altas tasas de fertilidad. Por otra parte hay que valorar la posibilidad de que una parte de los espermatozoides capaces de fecundar sean portadores de cromatina dañada, lo que incrementará las tasas de abortos y podrá tener consecuencias en el crecimiento y desarrollo de los embriones obtenidos (Pérez-Cerezales *et al.* 2011).

Este es el primer estudio en el que se analiza la integridad de la cromatina a lo largo del año, revelando un importante efecto estacional. Los cambios observados en la membrana y el material genético podrían reflejar un aumento de los daños oxidativos, provocado por el incremento de temperatura del agua fuera del periodo natural de puesta. Las consecuencias para el desarrollo de la progenie deberán ser valoradas.

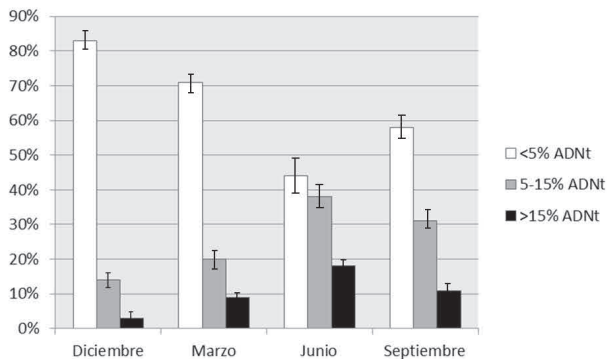
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Evenson, D.P., Jost, L.K., Marshall, D., Zinaman, M.J., Clegg, E., Purvis, K. 1999. Hum Reprod. 14: 1039-1049.
- Delbes, C., Hales, B.F., Robaire, B. 2010. Molecular Human Reproduction, 16: 14–22.
- Dietrich, G.J., Szpyrka, A., Wojtczak, M., Dobosz, S., Goryczko, K., Zakowski, L., Ciereszko, A. 2005. Theriogenology. 64: 1809-1822.
- Lin, M.H., Kuo-Kuang., Lee, R., Li, S.H., Lu, C.H., Sun, F.J., Hwu, Y.M. 2008. Fertil Steril. 90: 352-359.
- Pérez-Cerezales, S., Martínez-Páramo, S., Cabrera, E., Martínez-Pastor, F., de Paz, P., Herráez, M.P. 2009. Theriogenology. 71: 605-613.
- Pérez-Cerezales, S., Martínez-Paramo, S., Beirao, J., Herráez, M.P. 2010. Reproduction. 139: 989-997.
- Pérez-Cerezales, S., Gutiérrez-Adán, A., Martínez-Páramo, S., Beirão, J., Herráez, M.P. 2011. Theriogenology. 71: 605-613.
- Robles, V., Cabrera, E., Cuñado, S., Herráez, M.P. 2003. Aquaculture. 224: 203 - 212

**Agradecimientos:** El presente estudio ha sido financiado por la Junta de Castilla y León (proyecto LE365A11-2) y el MINECO (proyecto AGL2011-27787). V. Robles y F. Martínez Pastor son beneficiarios de contratos del programa Ramón y Cajal (RYC2008-02339, RYC-2008-02560).



**Figura 1.** Porcentajes de células viables, no viables y apoptóticas a lo largo del año



**Figura 2.** Porcentajes de espermatozoides con diferente grado de fragmentación de la cromatina (ADNt) a lo largo del año.

### SEASONAL CHANGES OF QUALITY IN THE SPERM OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) NEOMALES: CHROMATIN INTEGRITY

**ABSTRACT:** The use of good quality gametes is of utmost importance in aquaculture. Commercial farming of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is frequently based on the use of sex reverted females (neomales) as breeders, kept under artificial photoperiod in order to avoid seasonality. Neomales sperm has a low antioxidant capacity and maturation at different thermal regimes could affect the sperm quality. Our objective was to analyze the seasonal variation on the integrity of plasma membrane and chromatin.

Sperm was sampled through a year (December, March, June and September) and cell viability and apoptosis were evaluated by flow cytometry using the probes Propidium Iodide (PI) and Yo-PRO1. Chromatin fragmentation was analyzed using the Comet assay and the percentage of cells showing ranges of fragmentation (DNAt) from <5%, 5-15% and >15% where evaluated. Seasonality significantly affects the quality of samples. Sperm from December, at the natural reproductive season, showed more than 90% of viable cells and 85% of cells with non-fragmented chromatin, whereas in June the lower rates of cell viability and the higher rates of chromatin fragmentation where noticed. Data showed us that the quality of samples obtained out of season could compromise their fertilization ability and the success of further embryo development.

**Keywords:** rainbow trout, sperm quality, neomale, chromatin

## LA SUPLEMENTACIÓN DE SEMEN PORCINO DESCONGELADO CON PLASMA SEMINAL HETERÓLOGO NO MODIFICA LA PRODUCCIÓN DE RADICALES LIBRES

Fernández-Gago, R., Mata-Campuzano, M., Besa, A., Peñacoba, M., Lorenzo, C., Domínguez, J. C. y Martínez-Pastor, F.

INDEGSAL, Universidad de León, 24071 León, España. felipe.martinez@unileon.es

### INTRODUCCIÓN

La utilización de tecnologías de reproducción asistida ha supuesto un gran avance para la ganadería porcina. La conservación de semen mediante refrigeración y la inseminación artificial se utilizan rutinariamente, pero la criopreservación necesita ser mejorada. La utilización de semen congelado facilitaría la gestión productiva, la selección genética, y la utilización de otras técnicas de reproducción asistida (como el sexado espermático). Los espermatozoides de cerdo son muy sensibles al proceso de criopreservación (Grossfeld et al., 2008) y, aunque es posible obtener buenos resultados de fertilidad, el momento de ovulación debe ser estimado con gran precisión (Roca et al., 2003), obteniendo malos resultados si esto no es posible (Bolarín et al., 2009).

Los daños producidos por la criopreservación seminal son muy variados, destacándose los daños en las membranas, en orgánulos como el acrosoma y la mitocondria y en la cromatina. Las causas de estos daños son igualmente variados: choque frío, choque osmótico y radicales libres (Vadnais y Althouse, 2011). La producción de radicales libres es de gran interés, ya que estos participan en la regulación de numerosas vías de señalización intra-celular. Una producción excesiva no sólo puede causar daños directos debido al estrés oxidativo, sino también por la desregulación de procesos como la capacitación. La adición de plasma seminal o de alguno de sus componentes podría evitar o revertir estos efectos negativos (Vadnais et al., 2005). En la mayor parte de los trabajos realizados en cerdo, se ha ensayado una concentración del 10% de plasma seminal, con resultados variables en cuanto a fertilidad (Okazaki y Shimada, 2012).

García et al. (2010) obtuvieron resultados de fertilidad prometedores tras suplementar semen descongelado con un 50% de plasma seminal. En este trabajo presentamos resultados sobre la presencia de radicales libres (superóxido en la mitocondria y especies reactivas de oxígeno en el citoplasma) tras añadir un 50% de plasma seminal a semen descongelado de cerdo. Nuestra intención es determinar si los efectos de esta suplementación podrían estar mediados por una variación de la presencia de distintos tipos de radicales libres en el espermatozoide de cerdo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los reactivos generales fueron comprados a Sigma (St. Louis, MO, EE.UU.), y los fluorocromos fueron comprados a Invitrogen (Carlsbad, CA, EE.UU.). Utilizamos dosis seminales de tres verracos de la raza Landrace y Large White. En cada sesión experimental se descongelaron 3 dosis (50 °C 12 s), que se mezclaron y se diluyeron a  $50 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup> con medio MR-A (Kubus S.A., Madrid, España). La muestra se dividió entre dos tubos y uno de ellos se suplementó con 50% de plasma seminal heterólogo (procedente de varios machos), dejando ambos a 37 °C. Inmediatamente tras añadir el plasma seminal, se tomó una alícuota de cada tubo y se diluyó a  $10^6$  ml<sup>-1</sup> en PBS para su análisis mediante citometría de flujo (marca). La presencia de especies reactivas del oxígeno intracelulares se detectó usando CM-H<sub>2</sub>DCFDA (1 µM), con yoduro de propidio (2,5 µg/mL) para discriminar los espermatozoides muertos. Para determinar la presencia del radical superóxido en las mitocondrias, los espermatozoides se incubaron con 5 µM de *MitoSOX Red*, 100 nM de YO-PRO1 para discriminar los espermatozoides muertos/membrana alterada y 100 nM de *Mitotracker Deep Red* para determinar la actividad mitocondrial. Los tubos se incubaron 15 min a 37 °C, añadiendo 2,5 µg/mL de Hoechst 33342 para identificar contaminantes (*debris*). El análisis se realizó con un citómetro de flujo CyAn ADP, provisto de tres láseres de diodos (405 nm —violeta—, 488 nm —azul— y 635 nm —rojo—). La fluorescencia fue recogida por fotodetectores provistos de filtros 450/50 (láser violeta, fluorescencia azul: Hoechst 33342), 530/40 (láser azul, fluorescencia verde: YO-PRO1 y CM-H<sub>2</sub>DCFDA), 613/20

(láser azul, fluorescencia roja: yoduro de propidio y MitoSOX) y 665/20 (láser rojo, fluorescencia roja: Mitotracker). El mismo análisis se repitió tras 1 h a 37 °C. La especificidad del MitoSOX por el radical superóxido se comprobó utilizando MnTBAP (ácido 5,10,15,20-benzoico manganoso tetrakis porfirina) a 100 μM, que elimina específicamente el radical superóxido. MnTBAP causó una disminución considerable de la fluorescencia del MitoSOX. Este experimento se replicó 5 veces, y los datos se analizaron con el paquete estadístico R (<http://www.r-project.org>), utilizando modelos lineales de efectos mixtos (efectos fijos: incubación y plasma seminal; efectos aleatorios: replicado).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio hemos utilizado la sonda MitoSOX para evaluar la generación de radical superóxido en la mitocondria, siendo tal vez el primer informe sobre su uso en espermatozoides de cerdo. Pudimos observar que la viabilidad, relativamente baja tras la descongelación (55,3%±4,5, media±desv. est.), se redujo a la mitad durante la incubación (18,7%±6,9), mostrando la vulnerabilidad de los espermatozoides de porcino descongelados (Grossfeld et al., 2008). La suplementación con plasma seminal no modificó esta tendencia (Figura 1A). El porcentaje de espermatozoides con mitocondrias activas disminuyó igualmente (Figura 2A, % considerando sólo los espermatozoides viables). Estos resultados difieren de los que obtuvimos en un estudio anterior (Fernández-Gago et al., 2012), con un 69%±2 (media±C.I. 95%) de viabilidad tras descongelar, y un 54%±3 a 4 h (35% de los espermatozoides viables mostrando mitocondrias activas). Estos datos muestran la gran variabilidad de las muestras de cerdo tras la descongelación, incluso utilizando un *pool* para reducir las diferencias individuales.

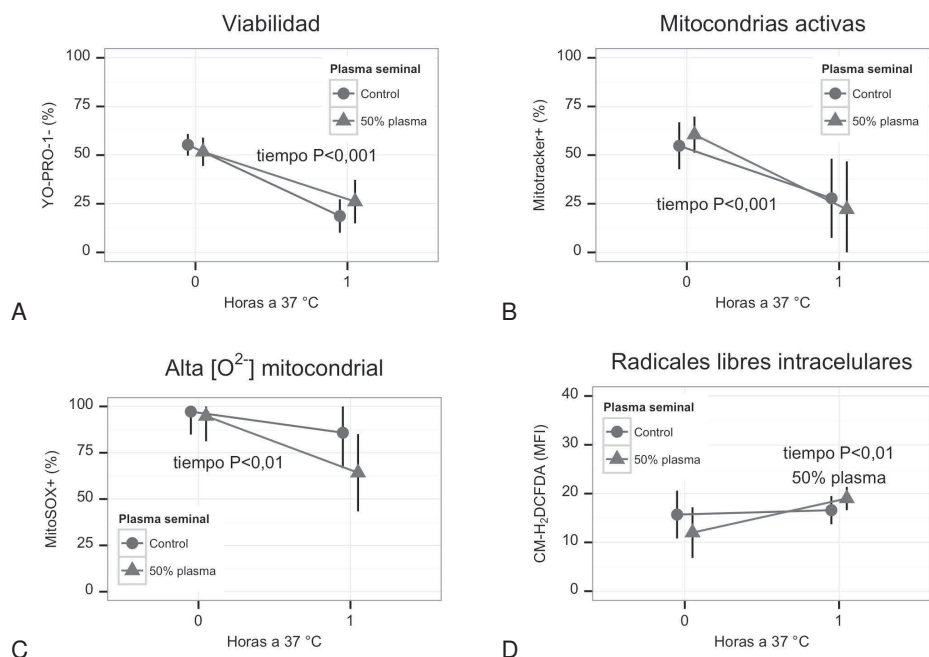
Justo después de descongelar, la mayor parte de los espermatozoides presentó una fluorescencia alta con el MitoSOX, indicando una alta producción de superóxido en la mitocondria (Figura 1C, % de MitoSOX+, solo viables). Encontramos una disminución significativa con el tiempo, sin diferencias entre tratamientos. Respecto a los radicales libres intracelulares (Figura 1D), aunque no obtuvimos diferencias entre los tratamientos, el plasma seminal produjo un incremento significativo con el tiempo, mientras que en el control no encontramos ninguna variación.

Nuestros resultados sugieren una cierta estimulación de la producción de radicales libres distintos al superóxido cuando se suplementan las muestras con un 50% de plasma seminal, sin un claro efecto protector sobre la membrana o las mitocondrias. Estos resultados, aunque difieren con algunos estudios (Vadnais y Althouse, 2011), apuntan a un posible efecto estimulador sobre el espermatozoide mediado por un incremento de radicales libres citoplásmicos, los cuales podrían mediar en rutas de señalización (O'Flaherty y De Lamirande, 2006). Este tipo de efectos podrían ser la causa del incremento de fertilidad detectado anteriormente (García et al., 2010), indicando que el semen descongelado de cerdo podría beneficiarse de la suplementación con una proporción alta de plasma seminal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bolarín A., Hernández M., Vázquez J.M., Rodríguez-Martínez H., Martínez E.A. & Roca J. 2009. J. Anim. Sci. 87:3967–75.
- Fernández-Gago, R., González-Urdiales, R., Martín, D., Alegre, B., Domínguez, J. C. & Martínez-Pastor, F. 2012. Reprod. Domest. Anim. 47: Suppl. 3:92.
- García, J.C., Domínguez, J.C., Pena, F.J., Alegre, B., González, R., Castro, M.J., Habing, G.G., Kirkwood, R.N., 2010. Anim. Reprod. Sci 119:160–165.
- Grossfeld R, Sieg, B., Struckmann, C., Frenzel, A., Maxwell, W.M.C. & Rath, D. 2008. Theriogenology 70:1225–33.
- O'Flaherty, C., De Lamirande, E. & Gagnon, C., 2006. Free Radic. Biol. Med. 41, 528–540.
- Okazaki, T. & Shimada, M. 2012. Anim. Sci. J. 83:623–9.
- Roca, J., Rodríguez-Martínez, H., Vázquez, J.M., Bolarín, A., Hernández, M., Saravia, F., Wallgren, M. & Martínez, E.A. 2006. Soc. Reprod. Fertil. Suppl. 62:261–75.
- Vadnais, M.L. & Althouse, G.C. 2011. Theriogenology 76:1508–16.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto DPI2009-08424 (Diputación de León, España), por el PIRTU (Junta de Castilla y León) y por el programa Ramón y Cajal (RYC-2008-02560, MICINN, España). Los autores agradecen a CENTROTEC (León, España) por proporcionar las muestras de semen.



**Figura 1.** Efecto del tiempo de incubación y del plasma seminal en espermatozoides descongelados de cerdo. Las gráficas muestran la proporción de espermatozoides en la población correspondiente (viabiles: 1A; mitocondrias activas, solo viabiles: 1B; alto nivel de superóxido solo viabiles: 1C) o la intensidad media de la fluorescencia (MFI, nivel de radicales libres intracelulares, solo viabiles: 1D). Las barras indican C.I. 95%.

### SUPPLEMENTATION OF THAWED BOAR SEMEN WITH HOMOLOGOUS SEMINAL PLASMA DOES NOT CAUSE A SHORT-TERM MODIFICATION OF INTRACELLULAR FREE RADICALS

Supplementation with seminal plasma could improve the quality of cryopreserved boar semen. We have tested if a short incubation of post-thawed boar spermatozoa with 50% of homologous seminal plasma modify the levels of free radicals. We obtained five semen pools from frozen semen doses (three males) and evaluated the sperm viability (YO-PRO1 or propidium iodide), the mitochondrial activity (Mitotracker deep red), the production of mitochondrial superoxide (MitoSOX) and the intracellular free radicals (CM-H<sub>2</sub>DCFDA) using flow cytometry. Samples were assessed just after thawing (control and adding 50% seminal plasma) and after 1 h of incubation at 37 °C. Incubation decreased viability, mitochondrial activity and mitochondrial superoxide production, with no significant effect of seminal plasma. The levels of intracellular free radicals did not change in the control, but they increased at 1 h in the 50% seminal plasma treatment. We could not detect a protective effect of seminal plasma in this study, but our results suggest an increase of intracellular free radicals with time. This could be associated to the stimulation of signalling pathways, which could be associated to the positive effects found in previous studies.

**Keywords:** boar semen, seminal plasma, flow cytometry, MitoSOX.



## ACTIVACIÓN DE LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA DE VERRACO POST-DESCONGELACIÓN

Gómez-Fernández<sup>1</sup>, J., Tomás<sup>2</sup>, C., Gómez-Izquierdo<sup>1</sup>, E. y de Mercado<sup>1</sup>, E.

<sup>1</sup> Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL. Ctra. Riaza-Toro s/n, 40353 Hontalbilla (Segovia). <sup>2</sup> CITA-IVIA. Apdo. 187. 12400- Segorbe (Castellón). España. ita-merpened@itacyl.es

### INTRODUCCIÓN

Entre los principales parámetros utilizados para determinar la calidad espermática, se encuentran la evaluación de la integridad de la membrana y la motilidad. Uno de los problemas observados en el semen de verraco post-descongelación, es que en ocasiones no existe una relación entre el porcentaje de espermatozoides con la membrana plasmática intacta y el porcentaje de espermatozoides móviles, observándose un número más bajo de espermatozoides móviles que de espermatozoides vivos. Esta pérdida de motilidad de algunos de los espermatozoides viables, es potencialmente reversible, pero las causas no están del todo establecidas. Algunos autores lo atribuyen a una reducción del agua intracelular, que podría incrementar la fricción en la cola causando una inhibición del deslizamiento de los microtúbulos o de otros elementos estructurales en el flagelo (Gao et al., 1993; Wolders et al., 1997), mientras que otros autores consideran que puede ser debida a un fallo metabólico temporal que causa cambios en el contenido de ATP y un aumento del calcio intracelular (Januskauskas y Rodríguez-Martínez, 1995; Fraser et al., 2001).

Dicha pérdida de motilidad es reversible, porque Corcuera et al., (2007) demostraron que mediante el uso de cafeína se podía recuperar gran parte de la motilidad perdida post-descongelación en la especie porcina, pero las causas de cómo actúa dicha cafeína tampoco están del todo establecidas. Un componente esencial para que se pueda llevar a cabo la motilidad es el bicarbonato. Muchos estudios determinaron que el aumento de este compuesto desencadena un aumento de la motilidad de la célula (Satake et al., 2006; Garzón et al., 2008). Recientemente se ha demostrado que la producción de bicarbonato en estas células viene determinada por la glicolisis, la cual a su vez está mediada por el pH (Mannowetz et al., 2012), y ya que el pH básico aumenta la motilidad espermática (Gatti et al., 1993; Garzón et al., 2008), es posible que el pH del medio influya notablemente en la recuperación o activación de la motilidad espermática.

Por todo esto, el objetivo de este trabajo fue comparar la cafeína y el pH básico, solos o en conjunto, sobre la recuperación de la motilidad espermática de aquellos espermatozoides de verraco inmóviles pero vivos post-descongelación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se han utilizado los eyaculados de 3 verracos de raza Pietrain (Prosepor S.A., Segovia, España) recuperados durante 5 semanas consecutivas. Los eyaculados fueron diluidos 1:1 en una solución comercial de *Beltsville Thawing Solution* (BTS, Minitube, Alemania) y transportados a 15 °C hasta el laboratorio donde fueron procesados, presentando valores mínimos de 80 % de espermatozoides vivos y 75 % de espermatozoides móviles. La congelación se realizó siguiendo el protocolo desarrollado por Westendorf et al. (1975) y modificado por Thurston et al. (1999) y Carvajal et al. (2004), usando como medio de congelación el diluyente Lactosa-yema de huevo-Glicerol. Las pajuelas se descongelaron en un baño de agua a 37 °C durante 20 s.

Se realizaron un total de 8 tratamientos ordenados de forma factorial: 4 diluyentes para la descongelación, y presencia o ausencia de cafeína, para cada una de las 5 semanas de extracción de semen. Así, en el tratamiento A fueron descongeladas en BTS con pH 7, en el tratamiento B en BTS a pH 8, en el tratamiento C en BTS a pH 9 y el tratamiento D a pH 10. A su vez de cada tratamiento se analizó la motilidad con o sin cafeína, incubando las muestras 10 minutos en BTS solo (tratamientos, A, B, C y D) o en BTS con 2 mM de cafeína (Sigma-Aldrich Quimica, S.A. (Madrid, Spain) durante 10 minutos (Tratamientos Ac, Bc, Cc y Dc). La calidad espermática fue determinada a los 30 minutos de incubación.

La calidad del movimiento espermático fue analizada mediante un sistema CASA (*Computer-Assisted Sperm Analysis System*; ISAS version 1.0.17, Proiser; Valencia, España). Para cada análisis se depositaron 3  $\mu$ l de las muestras diluidas ( $25 \times 10^6$  espermatozoides/ml) sobre una cámara Makler atemperada a 39 °C y se analizaron un mínimo de 3 campos con al menos 150 células/campo. En los resultados obtenidos se tuvieron en cuenta la proporción de espermatozoides móviles totales (% EMT) y móviles progresivos (% EMP). Además se midieron los parámetros cinéticos de velocidad curvilínea (VCL,  $\mu$ m/s), velocidad rectilínea (VSL,  $\mu$ m/s), velocidad media (VAP,  $\mu$ m/s), índice de linealidad (LIN, %), índice de rectitud (STR, %), índice de oscilación (WOB, %), amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (ALH,  $\mu$ m) y la frecuencia de batida de la cabeza (BCF, Hz). La viabilidad de los espermatozoides fue analizada por microscopía de fluorescencia mediante una doble tinción fluorescente con Ioduro de propidio (Molecular Probes Europe BV, Leiden, Países Bajos) (espermatozoides con membrana dañada/muertos) y SYBR-14 (Molecular Probes Europe BV, Leiden, Países Bajos) (espermatozoides con membrana intacta/vivos): un mínimo de 200 células fueron contadas y solo se tuvo en cuenta el porcentaje de espermatozoides vivos totales (% VT). Las diferencias entre las variables de calidad post-descongelación entre tratamientos fueron contrastadas mediante un análisis GLM con el paquete estadístico SAS (Version 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al observar resultados (Tabla 1) teniendo en cuenta solo el pH del BTS, la mayor motilidad total y progresiva se observó a pH 9 (aunque sin diferencias significativas respecto al control (Tratamiento A). La combinación de pH con la cafeína mostró que el de pH 8 tenía mayores valores de motilidad, siendo diferente significativamente del control ( $P < 0,05$ ). Como observó Corcuera et al. (2007) la cafeína es capaz de recuperar parte de la motilidad inhibida post-descongelación. Además como han observado otros autores (Gatti et al., 1993; Garzón et al., 2008), el pH básico aumenta la motilidad, y en este caso permite recuperar, al igual que la cafeína, esa motilidad inhibida. Pero por encima de pH 9 el efecto sobre los espermatozoides es deletéreo afectando a la viabilidad e inhibiendo casi por completo la motilidad.

La consecuencia de combinar la cafeína y el pH básico parece tener un efecto beneficioso cuando el pH es de 8, pero al aumentar el pH el efecto es perjudicial, disminuyendo el porcentaje de espermatozoides móviles totales y progresivos. Además se puede observar que las velocidades (VSL, VCL y VAP) al aumentar el pH y combinar con la cafeína también descienden notablemente. Sin embargo las variables de linealidad (LIN, STR y WOB) así como ALH y BCF no se ven afectadas salvo en el pH 10 donde todas las variables con o sin cafeína se ven drásticamente reducidas. El que el aumento de pH cambie el efecto de la cafeína sobre la motilidad puede ser debido a que las metilxantinas (grupo al que pertenece la cafeína) tienen un efecto diferente según el pH sobre ciertas enzimas como la fosfatasa alcalina (Glogowski et al., 2002), por tanto su actividad está notablemente influida por el pH. El que el pH básico mejore las variables de calidad espermática tiene su explicación en que es fisiológicamente necesario aumentar dicho pH para que se lleve a cabo la activación enzimática del espermatozoide (Akama et al., 1994), para la correcta pre-implantación del embrión (Ben-Yosef et al., 1996) y también para fomentar la glicólisis que conllevará un aumento del bicarbonato y con ello de la motilidad (Mannowetz et al., 2012).

En conclusión, se puede determinar que la cafeína en un medio con pH 8 es capaz de recuperar casi por completo la motilidad inhibida de algunos espermatozoides vivos después del proceso de congelación-descongelación, pero es necesario realizar estudios futuros para determinar la capacidad fecundante de estos espermatozoides.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akama, K., Terao, K., Tanaka, Y., Noguchi, A., Yonezawa, N., Nakano, M. & Tobita, T. 1994. Epididymal Sperm. *J. Biochem.* 116: 464-470.
- Ben-Yosef, D., Oron, Y. & Shalgi, R. 1996. *Biol. Reprod.* 55: 461-468.
- Carvajal, G., Cuello, C., Ruiz, M., Vázquez, J. M.,

Martínez, E. A. & Roca, J. 2004. *J. Androl.* 25: 389-396. • Fraser, L., Gorszczaruk, K. & Strzezek, J. 2001. *Reprod. Dom. Anim.* 36: 325-329. • Gao, D. Y., Ashworth, E., Watson, P. F., Kleinhans, F. W., Mazur, P. & Critser, J. K. 1993. *Biol. Reprod.* 49: 112-123. • Garzón, D. L., Peñaranda, D. S., Pérez, L., Marco-Jiménez, F., Espert, X., Müller, T., Jover, M. & Asturiano, J. F. 2008. *Reprod. Dom. Anim.* 43: 99-105. • Gatti, J. L., Chevrier, C., Paquignon, M. & Dacheux, J. L. 1993. *J. Reprod. Fertil.* 98: 439-449. • Januskauskas, A. & Rodriguez-Martinez H. 1995. *Acta Vet. Scand.* 36: 571-574. • Glogowski, J., Danforth, D. R., & Ciereszko, A. 2002. *J. Andro.* 23: 783-792. • Mannowetz, N., Wandernoth, P. M. & Wennemuth, G. 2012. *PLoS One.* 7: 1-15. • Satake, N., Elliott, R. M. A., Watson, P. F. & Holt, W. V. 2006. *J. Exp. Biol.* 209: 1560-1572. • Thurston, L. M., Watson, P. F. & Holt, W. V. 1999. *Cryobiology.* 39: 335. • Westendorf, P., Richter, L., & Treu, H. 1975. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 82: 261-267. • Wolders, H., Matthijs, A. & Angel, B. 1997. *Cryobiology.* 35: 93-105.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León; Ref. 2010/1282).

**Tabla 1.** Calidad espermática post-descongelación de los diferentes tratamientos.

	A	Ac	B	Bc	C	Cc	D	Dc	EEM
% VT	52,7 <sup>a</sup>		54,9 <sup>a</sup>		54,9 <sup>a</sup>		39,2 <sup>b</sup>		2,43
% EMT	42,76 <sup>ac</sup>	47,82 <sup>a</sup>	53,3 <sup>ab</sup>	61,3 <sup>b</sup>	59,88 <sup>ab</sup>	27,94 <sup>c</sup>	2,68 <sup>d</sup>	1,72 <sup>d</sup>	3,85
% EMP	37,48 <sup>ac</sup>	42,16 <sup>abc</sup>	46,82 <sup>ab</sup>	55,06 <sup>b</sup>	52,16 <sup>ab</sup>	24,56 <sup>c</sup>	1,32 <sup>d</sup>	1,12 <sup>d</sup>	3,65
VCL	68,06 <sup>ab</sup>	74,25 <sup>a</sup>	69,94 <sup>ab</sup>	67,52 <sup>ab</sup>	65,08 <sup>ab</sup>	56,66 <sup>b</sup>	32,1 <sup>c</sup>	24,98 <sup>c</sup>	4,45
VSL	48,76 <sup>ab</sup>	55,33 <sup>a</sup>	51,06 <sup>a</sup>	49,56 <sup>ab</sup>	45,02 <sup>ab</sup>	39,72 <sup>b</sup>	16,54 <sup>c</sup>	12,42 <sup>c</sup>	2,92
VAP	56,36 <sup>ab</sup>	63,23 <sup>a</sup>	59,18 <sup>a</sup>	57,38 <sup>ab</sup>	55,34 <sup>ab</sup>	56,78 <sup>b</sup>	20,84 <sup>c</sup>	17,24 <sup>c</sup>	3,45
LIN	71,64 <sup>a</sup>	71,94 <sup>a</sup>	73 <sup>a</sup>	73,44 <sup>a</sup>	69,32 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	41,22 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	5,81
STR	86,44	84,32	86,3	86,46	81,56	84,6	62,54	58,04	7,91
WOB	82,8 <sup>a</sup>	82,25 <sup>ab</sup>	84,58 <sup>a</sup>	84,94 <sup>a</sup>	84,98 <sup>a</sup>	82,54 <sup>ab</sup>	52,1 <sup>c</sup>	54,52 <sup>bc</sup>	7,21
ALH	2,34 <sup>a</sup>	2,28 <sup>a</sup>	2,26 <sup>a</sup>	2,1 <sup>a</sup>	2,1 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>	1,64 <sup>ab</sup>	0,9 <sup>b</sup>	0,22
BCF	8,02 <sup>a</sup>	7,85 <sup>a</sup>	8,22 <sup>a</sup>	8,06 <sup>a</sup>	8,36 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	7,34 <sup>a</sup>	2,76 <sup>b</sup>	0,81

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). EEM: Error estándar de la media. Tratamientos: A: Control (BTS pH 7); Ac: A + Cafeína (2 mM); B: BTS pH 8; Bc: B + Cafeína (2 mM); C: BTS pH 9; Cc: C + Cafeína (2 mM); D: BTS pH 10; Dc: D + Cafeína (2 mM);

## POST-THAWING ACTIVATION OF BOAR SPERM MOTILITY

**ABSTRACT:** The aim of this study is to determinate if the basic pH and the caffeine, factors that increase the velocity of sperm, are able to recover the latent motility. The effect of the pH in the thawing extender (BTS) to values of 7, 8, 9 and 10, on sperm motility and on sperm viability was evaluated. And for each pH the effect of the use of caffeine (2 mM) or not, on the sperm motility was also evaluated. The results showed that pH above 9, is harmful for the sperm motility and viability. Without caffeine the sperm motility is recovered in more proportion at pH 8 and 9 than control sperm (pH 7 and without caffeine), but without significant difference ( $P > 0,05$ ). And the combination of basic pH (above 8; pH 9 and 10) and caffeine, was harmful for the sperm motility and viability. However, the thawing extender at pH 8 and with caffeine showed greater motility values than control sperm (percentage of total motile sperm): 42.76 vs 61.3; percentage of progressively motile sperm: 37.48 vs 55.06;  $P < 0,05$ ). In conclusion, the thawing extender at pH 8 with caffeine (2 mM) is able to recover almost completely the post-thawing latent motility.

**Keywords:** boar sperm, motility, pH, caffeine.

## EVALUACIÓN DEL *CHEMSENSOR* COMO HERRAMIENTA DE DISCRIMINACIÓN PRECOZ DE EYACULADOS DE CERDO IBÉRICO EN FUNCIÓN DE SU CONGELABILIDAD

Gómez-Fernández<sup>1</sup>, J., Tomás<sup>2</sup>, C., Gómez-Izquierdo<sup>1</sup>, E., Carrasco<sup>3</sup>, J.A. y de Mercado<sup>1</sup>, E.

<sup>1</sup> Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL. Ctra. Riaza-Toro s/n, 40353 Hontalbilla (Segovia). <sup>2</sup> CITA-IVIA. Apdo. 187. 12400- Segorbe (Castellón). España. <sup>3</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN), C/José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, España. ita-merpened@itacyl.es.

### INTRODUCCIÓN

Las diferencias existentes en congelabilidad, entre individuos de una misma raza, parecen tener un origen genético (Thurston et al., 2002). Sin embargo, se desconoce cómo dichas diferencias genéticas se pueden relacionar con la congelabilidad. El poder conocer de antemano si el eyaculado de un verraco congelará bien o mal, sería un punto vital para el uso de la técnica de crioconservación espermática a nivel comercial. Por ello, es necesario encontrar métodos que permitan la determinación precoz de la congelabilidad de los eyaculados, evitando el coste de congelar y descongelar muestras para estimar su calidad espermática. El “ChemSensor” es una técnica basada en la cromatografía de gases – masas que unida a un *software* específico, puede ser utilizado como equipo de discriminación de un conjunto de muestras. Se utiliza en numerosas aplicaciones en la industria alimentaria y química en general (Radovic et al., 2001; Landaud, 2008; Rodríguez-Bencomo et al., 2009). Esta técnica utiliza los compuestos volátiles de las muestras y mediante un software propio obtiene las fracciones másica y su abundancia, para cada una de las muestras. El conjunto de fracciones másicas se comporta como una huella digital de cada muestra y mediante el oportuno programa de quimiometría se llega a una perfecta discriminación entre muestras. Así el objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad del ChemSensor como herramienta de discriminación de eyaculados en función de su congelabilidad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se utilizaron 37 eyaculados de diferentes verracos de raza Ibérica. Fueron recuperados de forma manual, diluidos 1:1 en una solución comercial de *Beltsville Thawing Solution* (BTS, Minitube, Alemania) y transportados a 15 °C hasta el laboratorio donde fueron procesados. Antes de ser diluidos se tomó una muestra de 1 ml de semen puro, que se congeló a -80°C hasta su posterior análisis con el ChemSensor. Los eyaculados procesados presentaron valores mínimos de 80% de espermatozoides vivos y 75% de espermatozoides móviles.

Para la determinación de la congelabilidad de los eyaculados, éstos fueron congelados y evaluados post-descongelación para su clasificación. El método de congelación utilizado se basó en el procedimiento descrito originalmente para pajuelas de 5 ml por Westendorf et al., (1975) y modificado por Thurston et al., (1999) y Carvajal et al., (2004), utilizando el medio de congelación Fructosa-yema de huevo (Thilmant, 1997). Las muestras fueron descongeladas en un baño de agua a 37°C durante 20 segundos y diluidas 1:1 en BTS. Pasados 30 minutos de incubación, se analizó el porcentaje de espermatozoides móviles totales (% MT), mediante el sistema SCA (Sperm Class Analyzer®, Microptic, Barcelona, España), así como el porcentaje de espermatozoides vivos totales (% VT), mediante una doble tinción fluorescente con loduro de propidio (Molecular Probes Europe BV, Leiden, Países Bajos)(espermatozoides con membrana dañada/muertos) y SYBR-14 (Molecular Probes Europe BV, Leiden, Países Bajos) (espermatozoides con membrana intacta/vivos): un mínimo de 200 células fueron contadas bajo la luz de un microscopio de fluorescencia.

Para el análisis del ChemSensor se extrajeron los compuestos volátiles del semen en un espacio de cabeza unido a un cromatógrafo de gases-masas (Mass selective detector 5973 Network Plus+, Agilent Technologies, Avondale, PA, EE.UU.) con una columna de retención de iones HP-5MS. Los resultados de las diferentes fracciones másicas obtenidos se analizaron con el programa quimiométrico Pirouette® (Infometrix Co., Tulsa, OK, EE.UU.), utilizando el método de clasificación SIMCA (Soft Independent Modelling Class Analogy). El programa procede a la clasificación de las muestras, a las que se asigna una clasificación previa conocida por los métodos analíticos antes indicados. Para el programa ésta es la

clase estimada. El programa responde con una clasificación “calculada”, junto con una distancia a otras clases del sistema. Esta distancia informa de la calidad de la clasificación, siendo mayor cuanto mayor sea la misma. El sistema puede indicarnos que una muestra no pertenece a ninguna de las clases. También se realizó un análisis de clasificación por *clusters* con el programa estadístico Statgraphics, para la separación en dos grupos de los distintos eyaculados (buenos y malos congeladores), usando como variables discriminantes el % MT y el % VT, tras 30 minutos de incubación a 37°C (Roca et al. 2006). Las diferencias entre las medias de los grupos fueron contrastadas con el paquete estadístico SAS (Versión 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.) mediante un análisis GLM, para determinar si dichas diferencias entre grupos eran significativas ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron claramente 2 grupos de congelabilidad (buenos y malos congeladores), con diferencias significativas entre ellos en % MT y el % VT (Tabla 1). En el ChemSensor se utilizaron 500 fracciones másicas para la discriminación de las muestras, que se comportan como auténticas variables. El modelo propuesto es pues de dos clases: buenos congeladores y malos congeladores. En la tabla 2 se observa que los buenos congeladores son discriminados al 100% y que en los malos congeladores únicamente existe uno con clasificación equivocada.

Las distancias obtenidas de separación entre grupos fueron de 2,62. Algunos autores determinan que dichas distancias solo pueden considerarse significativas por encima de 3 (Busto et al. (2002)). Pero Laguerre et al. (2007) determinaron que distancias superiores a 2 pueden considerarse significativas si se parte de un número de muestras reducido. Teniendo en cuenta el bajo número de muestras usadas debido a que son muestras de semen de cerdo Ibérico, del que muchas estirpes se encuentran en peligro de extinción, se puede considerar que las distancias de separación son suficientes para discriminar un grupo de otro.

Estos resultados parecen indicar la existencia de diferencias en la composición bioquímica entre grupos de muestras, posiblemente debidas a que los machos que congelan bien, poseen ciertas características en su estructura celular que hace que su composición sea bien discriminada mientras que los malos congeladores pueden poseer ciertas características de los buenos congeladores y por tanto en ocasiones pueden surgir falsos positivos. Se sabe que existen diferencias genéticas y de composición entre espermatozoides buenos y malos congeladores (Casas et al. 2010; Yeste et al. 2011;) pudiendo ser alguna de éstas la causante de estas diferencias.

Se debe tener en cuenta también que las muestras incluían tanto espermatozoides como plasma seminal. Por tanto es posible que este método sea eficaz a la hora de discriminar los eyaculados ya que la congelabilidad del semen de porcino se cree que no viene determinada solo por un único factor (Hernández et al. 2007), sino que puede ser un conjunto de factores los que la determinen, entre los que se podría incluir la composición del plasma seminal, la composición de la membrana del espermatozoide e incluso la propia estructura del ADN del espermatozoide (Hernández et al. 2007; Casas et al. 2010; Yeste et al. 2011)

Por todo esto, se puede concluir que el ChemSensor es una posible herramienta para discriminar los eyaculados de cerdo por su congelabilidad, pero sería necesario aumentar el número de muestras analizadas para obtener un modelo matemático más eficaz, que permitiera aumentar las distancias de separación y eliminar los falsos positivos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carvajal, G., Cuello, C., Ruiz, M., Vázquez, J. M., Martínez, E. A. & Roca, J. 2004. J. Androl. 25: 389-396.
- Busto, O., Martí, M. P. & Guasch J. 2002. Tecnología del vino. 5: 31-35.
- Casas I, Sancho S, Ballester J, Briz M, Pinart E, Bussalleu E, Yeste M, Fàbrega A, Rodríguez-Gil JE, & Bonet S. 2010. Theriogenology. 74: 940-950.
- Hernández, M., Roca, J., Calvete, J. J., Sanz, L., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J. A., Vázquez, J. M. & Martínez, E. A. 2007. J. Andro. 28: 689-697.
- Laguerre, M., Mestres, C., Davrieux, F., Ringuet, J. & Boulanger, R. 2007. J. Agric. Food Chem. 55: 1077-1083.
- Landaud, S., Helinck, S. & Bonnarme, P. 2008. Appl. Microbiol. Biotechnol. 77: 1191-1205.
- Radovic, B. S., Careri, M., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M. & Anklam, E. 2001. Food Chem. 72: 511-520.
- Roca,

J., Hernández, M., Carvajal, G., Vázquez, J.M. & Martínez, E.A. 2006. J. Anim. Sci. 84: 2692-2699. • Rodríguez-Bencomo, J. J., Ortega-Heras, M., Pérez-Margariño, S. & González-Huerta, C. 2009. J. Agric. Food Chem. 57: 6383-6391. • Thilmant, P. 1997. Ann. Med. Vet. 141: 457-462. • Thurston, L. M., Siggins, K., Mileham, A. J., Watson, P. F. & Holt, W. V. 2002. Biol. Reprod. 66: 545-554. • Thurston, L. M., Watson, P. F. & Holt, W. V. 1999. Cryobiology. 39: 335. • Westendorf, P., Richter, L., & Treu, H. 1975. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 82: 261-267. • Yeste, M., Estrada, E., Casas, I., Bonet, S., & Rodríguez-Gil, J.E. 2013. Theriogenology. doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.01.008.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto PEP 2006/1273 del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León).

**Tabla 1.** Clasificación por clusters de los eyaculados de verraco en dos grupos (buenos y malos congeladores), según el porcentaje de espermatozoides vivos (% VT) y móviles totales (% MT) tras la descongelación.

Variable	Grupo de congelabilidad		EEM <sup>1</sup>
	Buenos (N=20)	Malos (N=13)	
% VT	57,8 <sup>a</sup>	42,1 <sup>b</sup>	1,32
% MT	50,3 <sup>a</sup>	28,5 <sup>b</sup>	1,42

<sup>a, b</sup>: indican diferencias significativas entre grupos de congelación ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>EEM: Error estándar de la media.

**Tabla 2.** Clasificación predicha por el modelo y distancias de separación entre los grupos de congelabilidad

Grupo	Clasificación predicha			Distancias	
	Buenos predichos	Malos predichos	No Clasificados	Buenos	Malos
Buenos	20	0	0	0	2,62
Malos	1	12	0	2,62	0

## EVALUATION OF THE CHEMSENSOR AS A TOOL FOR EARLY DISCRIMINATION OF IBERIAN PIG EJACULATES ACCORDING TO THEIR FREEZABILITY

**ABSTRACT:** Prior knowledge of whether an ejaculate of boar will freeze well or not is fundamental to the use of sperm cryopreservation at commercial level. The objective of this work was to evaluate the ability of the ChemSensor (a gas chromatograph with a mass spectrometry detector and chemometric software used routinely to classify samples) as a tool of discrimination of ejaculates depending on their freezability. The results obtained show that the ChemSensor is capable of differentiating two groups of freezability. Due to the distances of separation obtained and a possible false positive, in the future it would be required to analyze a greater number of samples to obtain a more effective mathematical model.

**Keywords:** boar sperm, freezability, gas-mass chromatography.





CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS  
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2012-13-14

CIHEAM

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	* MEJORA GENÉTICA VEGETAL	1 Oct. 12/7 Jun. 13	Zaragoza	IAMZ/UdL
	* OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	23 Sep. 13/30 Mayo 14	Córdoba	UCO/JA/CSIC/COI/ INIA/IAMZ
	APLICACIONES DE LA BIOINFORMÁTICA EN MEJORA VEGETAL	20-24 Ene. 14	Zaragoza	IAMZ
	ENFERMEDADES EMERGENTES Y DE CUARENTENA EN CULTIVOS HORTOFRUTÍCOLAS MEDITERRÁNEOS	31 Mar./4 Abr. 14	Zaragoza	IAMZ
PRODUCCIÓN ANIMAL	CALIDAD DE LA CARNE Y DE PRODUCTOS CÁRNICOS EN RUMIANTES	17-21 Sep. 12	Zaragoza	IAMZ
	METODOLOGÍAS DE DIAGNÓSTICO ACTUALES Y FUTURAS EN SANIDAD ANIMAL	14-18 Ene. 13	Zaragoza	IAMZ/OIE/FAO
	EVALUACIÓN MEDIOAMBIENTAL DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN GANADERA	15-20 Abr. 13	Zaragoza	IAMZ/UE-Proyecto RedNEX/EAAP
	SEGURIDAD DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL: CARNE, AVES Y HUEVOS	6-10 Mayo 13	Zaragoza	IAMZ
	* NUTRICIÓN ANIMAL	30 Sep. 13/6 Jun. 14	Zaragoza	IAMZ/UZ/FEDNA/ UPM

(\* **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: 12-13; 14-15; 16-17
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 13-14; 15-16; 17-18
- NUTRICIÓN ANIMAL: 13-14; 15-16; 17-18
- MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN: 14-15; 16-17
- PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 12-13; 14-15; 16-17
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 13-14; 15-16; 17-18
- ACUICULTURA: 12-13; 14-15; 16-17
- GESTIÓN PESQUERA SOSTENIBLE: 13-14; 15-16; 17-18

Se destinan primordialmente a titulados universitarios en vías de especialización de posgrado. No obstante se estructuran en unidades 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 elaiotecnica finaliza el 15 de abril de 2013. El plazo de inscripción para los cursos de Nutrición animal, Marketing agroalimentario y Gestión pesquera sostenible finaliza el 3 de mayo de 2013. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora genética vegetal, Planificación integrada para el desarrollo rural y la gestión del medio ambiente, Mejora genética animal y biotecnología de la reproducción y Acuicultura finaliza el 2 de mayo de 2014.

El Estado Español reconoce el título Master of Science del CIHEAM otorgado a través del IAMZ como equivalente al título oficial de Máster del sistema universitario español.

**Erasmus Mundus Master** (\*\* marcado con dos asteriscos en el listado). Se celebra todos los años. Para obtener mayor información y realizar la solicitud consulte la página web <http://www.master-edamus.eu/>

**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.

No obstante, en algunos cursos coorganizados con otras instituciones pueden existir becas destinadas a candidatos de algunos países no miembros del CIHEAM. Se recomienda consultar el correspondiente apartado de becas en el folleto informativo que se edita específicamente para cada uno de los cursos programados.



	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
<b>MEDIO AMBIENTE</b>	* PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	1 Oct. 12/7 Jun. 13	Zaragoza	IAMZ/UdL
	GESTIÓN DE LOS INCENDIOS FORESTALES PARA AFRONTAR CAMBIO CLIMÁTICO Y SOCIOECONÓMICO	20-25 Mayo 13	Zaragoza	IAMZ/UE-Proyecto EL FUME
	PREDICCIÓN DE LA SEQUÍA Y SU UTILIZACIÓN PARA LA TOMA DE DECISIONES	23-27 Sep. 13	Zaragoza	IAMZ/UE-Proyecto DEWFORA
	INSTRUMENTOS DE MERCADO Y PAGO POR SERVICIOS AMBIENTALES EN ECOSISTEMAS MEDITERRÁNEOS	17-21 Feb. 14	Zaragoza	IAMZ/EFIMED/ IUCN
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS GEOESPACIALES EN ESTUDIOS AMBIENTALES	9-20 Jun. 14	Zaragoza	IAMZ
<b>TECNOLOGÍA Y MARKETING DE ALIMENTOS</b>	NUEVAS OPORTUNIDADES PARA LA EXPORTACIÓN Y PROMOCIÓN DE LOS PRODUCTOS AGROALIMENTARIOS	12-16 Nov. 12	Zaragoza	IAMZ
	** MÁSTER ERASMUS MUNDUS EN GESTIÓN SOSTENIBLE DE LA CALIDAD DE LOS ALIMENTOS (EDAMUS)	Sept. 13-Jun. 15 / Sept. 14-Jun. 16	Montpellier y otros países del Consorcio	UM1/IAMM/ IAMZ/ UNIBAS/ IAMCh/ UC1
	* MARKETING AGROALIMENTARIO	30 Sep. 13/6 Jun. 14	Zaragoza	IAMZ
	INNOVACIÓN EN ENVASES DE FRUTAS Y VERDURAS FRESCAS Y MÍNIMAMENTE PROCESADAS	21-25 Oct. 13	Zaragoza	IAMZ
	ESTRATEGIAS DE MARKETING DE ACEITE DE OLIVA	4-9 Nov. 13	Zaragoza	IAMZ/COI
	MICOTOXINAS EN CEREALES Y PRODUCTOS DERIVADOS: ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL PARA MINIMIZAR LA CONTAMINACIÓN	12-16 Mayo 14	Zaragoza	IAMZ/Agrotecnio
<b>PESCA Y ACUICULTURA</b>	* ACUICULTURA	15 Oct. 12/28 Jun. 13	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/ICCM/IAMZ
	NUTRICIÓN DE PECES: SOSTENIBILIDAD Y CALIDAD DE LOS PRODUCTOS	26-30 Nov. 12	Zaragoza	IAMZ
	ESTUDIOS DE MARKETING DE PRODUCTOS DEL MAR	10-14 Dic. 12	Zaragoza	IAMZ/FAO
	PROCESADO DE PRODUCTOS DEL MAR: TECNOLOGÍAS MODERNAS Y DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS	4-8 Feb. 13	Vigo	IAMZ/FAO/ANFACO- CECOPESCA
	* GESTIÓN PESQUERA SOSTENIBLE	14 Oct. 13/ 13 Jun. 14	Alicante	UA/MAGRAMA/ IAMZ
	USO DE LOS SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA EN PESCA Y ACUICULTURA	18-29 Nov. 13	Zaragoza	IAMZ
	AVANCES TÉCNICOS EN FASE INICIAL DE PRODUCCIÓN DE ESPECIES MARINAS DE INTERÉS ECONÓMICO	13-17 Ene. 14	Las Palmas de Gran Canaria	IAMZ/ULPGC/UE-Proyecto AQUATRANS
	EL ENFOQUE ECOSISTÉMICO DE LA PESCA EN EL MEDITERRÁNEO Y EL MAR NEGRO. BASES CIENTÍFICAS	3-7 Feb. 14	Varna (Bulgaria)	IAMZ/UE-Proyecto CREAM
EL ENFOQUE ECOSISTÉMICO DE LA PESCA EN EL MEDITERRÁNEO Y EL MAR NEGRO. GESTIÓN Y TOMA DE DECISIONES	10-14 Mar. 14	Zaragoza	IAMZ/UE-Proyecto CREAM	

**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 solicitud de admisión pueden solicitarse a la dirección del IAMZ u obtenerse directamente de la página web:

**Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza**

Avenida de Montañana 1005, 50059 Zaragoza (España)  
 Teléfono +34 976 716000 - Fax +34 976 716001 - e-mail iamz@iamz.ciheam.org  
[www.iamz.ciheam.org](http://www.iamz.ciheam.org)

