

# AIDA

Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

## XVII Jornadas sobre Producción Animal



(2017)

50  ANIVERSARIO

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



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

## **XVII JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL**

30 y 31 de mayo de 2017

Zaragoza

### **COLABORAN:**

Gobierno de Aragón

Fondo Europeo de Desarrollo Regional

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) de Aragón

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria (INIA)

Universidad de Zaragoza

Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (IAMZ)

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2)



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

**Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario**

**Título:** XVII Jornadas sobre Producción Animal

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

**Textos:** Autores

**Colección:** Congresos y Jornadas

**Serie:** Producción Animal

**Editores:**

Ana M<sup>a</sup> Olaizola Tolosana

Alfonso Abecia Martínez

Mireia Blanco Alibés

Alberto Bernués Jal

Jorge Hugo Calvo Lacosta

M<sup>a</sup> Angeles Latorre Górriz

Jorge Palacio Liesa

Guillermo Ripoll García

**Secretario administrativo:** Joaquín Moreno Miguel

**Foto portada:** Alberto Bernués Jal

XVII Jornadas sobre Producción Animal	<b>DIRECCIÓN Y REDACCIÓN</b> Montañana, 930 - Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)	ISBN: 978-84-697-3065-2 Depósito legal: Z-769-2017 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:





## PRÓLOGO

Este año, coincidiendo con el cincuenta aniversario de la asociación AIDA, celebramos las XVII Jornadas sobre Producción Animal, que constituyen uno de los principales fines de esta asociación.

En la actualidad, el sector de la producción animal se enfrenta a un entorno que genera gran incertidumbre. El futuro de la producción animal, como se señala en la bibliografía, va a estar condicionado por diversos factores, entre ellos, la competencia en el uso de los recursos naturales, tierra y agua fundamentalmente, y la competencia en la producción de alimentos para la alimentación humana y animal. Así mismo, se prevé un aumento de la variabilidad climática, consecuencia del cambio climático, que incrementará los riesgos en los sistemas de producción animal y su complejidad para gestionarlos, en un entorno, al mismo tiempo, restrictivo respecto a las emisiones de gases de efecto invernadero generadas por la ganadería. Además, por el lado de la demanda, los cambios socio-culturales, como la creciente preocupación por la salud y por las cuestiones éticas, actúan como auténticos “drivers”, ya que generan un gran impacto en los sistemas de producción animal. De igual forma, los cambios en las políticas agrarias, sobre todo la PAC, actualmente en debate la PAC post-2020, afectan en gran medida a los sistemas ganaderos y contribuyen a explicar los cambios que dichos sistemas experimentan. Todo ello, hace necesario que la investigación e innovación en producción animal avance hacia modelos de producción animal más sostenibles, desde una perspectiva medioambiental, social y económica.

La mayoría de las cuestiones mencionadas que afectan al futuro de la producción animal se abordan en estas Jornadas, a través de los 257 trabajos que se han presentado en las secciones organizadas sobre la Calidad de los Productos, Genética, Nutrición-Alimentación, Reproducción, Sanidad y Bienestar Animal y Sistemas de Explotación, así como en la ponencia inaugural titulada “Eficiencia alimentaria en sistemas lecheros de rumiantes: ¿qué soluciones y a qué escalas para una ganadería más sostenible?”. El número de comunicaciones que se han presentado supone un ligero aumento respecto a las últimas Jornadas, destacando la elevada participación en las secciones de Nutrición-Alimentación, Calidad de los Productos y Genética, sección esta última, en la se presentan además dos ponencias. Esperamos que en próximas Jornadas continúe aumentando la participación en todas las secciones hasta alcanzar y superar los niveles de anteriores ediciones.

Queremos agradecer las contribuciones de todos los participantes de estas Jornadas, ya que gracias a vuestra participación aseguraréis el éxito de las mismas y contribuís a su consolidación como referente en el ámbito de la investigación y la transferencia en Producción Animal.

Así mismo, agradecer la colaboración de todas las personas que aseguran la celebración de estas Jornadas, en particular a los coordinadores de las secciones, Alberto, Alfonso, Guillermo, Jorge, Jorge Hugo, M<sup>a</sup> Ángeles y Mireia, a la Junta de AIDA, especialmente a Marga; a Joaquín y Dani, a los moderadores y demás compañeros y compañeras que con su esfuerzo

y desinteresada colaboración hacen posible que continúen celebrándose estas Jornadas. Nuestro agradecimiento también a Philippe Favardin por haber aceptado nuestra invitación para impartir la conferencia inaugural. Y, por último, a todas las instituciones y organismos que han colaborado en la organización y financiación de estas Jornadas, en especial, al INIA, al CITA, al IAMZ y a la Universidad de Zaragoza.

ANA M<sup>a</sup> OLAIZOLA TOLOSANA  
Secretaria de las XVII Jornadas sobre Producción Animal



## XVII JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL, AIDA 2017

**Martes, 30 de mayo de 2017**

Lugar	Sistemas Explotación: Gestión-Economía	Nutrición - Alimentación		Reproducción	Genética	Calidad Productos	Sanidad y Bienestar Animal
		Ruminantes	Monogástricos				
8:30 - 9:00	Aula C	Aula A	Sala 1	Aula B	Salón de actos	Aula D	Sala 1
<b>ENTREGA DE DOCUMENTACIÓN</b>							
9:00 - 10:00			Relación alimentación-sanidad en porcino (4c) Mod. J. Gasa		Transcriptoma I (4c) Mod. C. Óvilo	Análisis sensorial (4c) Mod. J.A. Beltrán	
10:00 - 10:30							
<b>Café</b>							
10:30-12:00	<b>"CONFERENCIA INAUGURAL "EFICIENCIA ALIMENTARIA EN SISTEMAS LECHEROS DE RUMIANTES: ¿QUÉ SOLUCIONES Y A QUÉ ESCALAS PARA UNA GANADERIA MÁS SOSTENIBLE? . Ponente: Philippe Favardin (Salón de Actos)"</b>						
12:00 - 14:00/14:30	Evaluación de sostenibilidad (6c) Mod. A. Bernués	Producción y calidad de la leche I (9c) Mod. M. Joy		Embriones (7c) Mod. A. Casao	Transcriptoma II (4c) Mod. R.N. Pena Hasta las 13h Mod. M. Piles		Canal y carne ovina (9c) Mod. A. Guerrero
		Cerdos de engorde, desarrollo y calidad de la canal (6c) Mod. A. Daza			Ponencia : Shortcomings and promises of genome-wide association studies to decipher the genetic basis of common human diseases: what have we learned, where do we stand? The example of Parkinson disease M. Martinez		
		Mejora genética monogástricos I (4c) Mod. M. Piles			Comida		
14:00 - 15:30	Comida	Comida	Comida	Comida	Comida	Comida	Comida

## Martes, 30 de mayo de 2017

	Sistemas Explotación: Gestión-Economía		Nutrición - Alimentación		Reproducción		Genética		Calidad Productos		Sanidad y Bienestar Animal	
Lugar	Aula C	Aula A	Sala 1	Aula B	Sala 1		Salon de actos		Aula D		Sala 1	
15:30 - 16:30	Producción de Rumiantes I (4c) Mod. I. Casasús	Valor nutritivo - rumiantes (4c) Mod. G. Hervás		Manejo Reproductivo I (4c) Mod. B. Lahoz			Mejora genética monogásticas II (3c) Mod. M. Piles		Sesión Pósteres hasta 16:10 (8c) Presentación MARCARNE B. Panea		Sanidad I (4c) Mod. P. M <sup>re</sup> Muñoz	
16:30 - 17:00	<b>Pausa</b>											
17:00 - 19:00	Producción de Rumiantes II (5c) Mod. I. Casasús	Sesión Pósteres Nutrición-Alimentación Rumiantes (12c)	Conejos (4c) Mod. M. Fondevilla  Aves (4c) Mod. A. Cerisuelo	Manejo Reproductivo II (7c) Mod. A. Abecia	Sesión Pósteres (8c) Hasta las 17:30 Mod. M. Pérez-Enciso		<b>Ponencia: Breve historia de los métodos estadísticos en la mejora genética animal.</b> <b>D. Gianola</b> Ibérico (8c) Mod. M. Pérez-Enciso		Canal y carne porcina (9c) Mod. V. Resconi		Sanidad II (7c) Mod. C. Acín	
19:00	<b>Vino de AIDA</b>											

## Miércoles, 31 de mayo de 2017

	Sistemas Explotación: Gestión-Economía	Nutrición - Alimentación		Reproducción	Genética	Calidad Productos	Sanidad y Bienestar Animal
Lugar	Aula C	Aula A	Sala 1	Aula B	Salón de actos	Aula D	Sala 1
9:00 - 10:30	Producción de monogástrico (5c) Mod. D. Villalba	Producción y calidad de la leche II (6c) Mod. A. Salama	Sesión Pósteres de Nutrición-Alimentación de monogástricos (6c)	Semen I (6c) Mod. J. Yañiz	Nutrigenómica (5c) Mod. L. J. Rojo	Lácteos I (5c) Moderador O. Estrada	Bienestar (4c) Mod. J. Álvarez
10:30 - 11:00	<i>Mod</i>						
11:00 - 12:00	Economía y mercados (7c)	Fermentación ruminal (7c)	Cercas y lechones (5c)	Semen II (5c)	Mejora genética rumiantes y otros (8c)	Canal bovina y equina (6c)	
12:00 - 12:45	Mod. P. Gaspar	Mod. G. de la Fuente	Mod. R. Nieto	Mod. R. Pérez-Pe	Mod. R. Quintanilla	Mod. B. Panea	
12:45 - 13:00			<b>Pausa</b>		<b>Pausa</b>	<b>Pausa</b>	
13:00 - 14:00/14:30			Nutrición y metabolismo en porcino (5c) Mod. J. Álvarez-Rodríguez		Estudios de asociación genes y genoma completo (GWAS) (6c) Mod. J.J. Arranz	Carne bovina y equina (5c) Mod. E. Serrano	
14:30 - 15:30	<b>Comida</b>	<b>Comida</b>	<b>Comida</b>	<b>Comida</b>	<b>Comida</b>	<b>Comida</b>	<b>Comida</b>

## Miércoles, 31 de mayo de 2017

	Sistemas Explotación: Gestión- Economía	Nutrición - Alimentación	Reproducción	Genética	Calidad Productos	Sanidad y Bienestar Animal
Lugar		Aula A		Salon de actos	Aula D	
15:30 - 16:30		Dieta durante la lactación (4c) Mod. T. Moreno		Diversidad, huellas de selección y microbioma I (4c) Mod. O. González-Rocio	Lácteos II (4c) Mod. A. Botana	
16:30 - 17:00			<i>Pausa</i>			
17:00 - 18:00		Dieta durante el cebo (4c) Mod. A. de Vega		Diversidad, huellas de selección y microbioma II (2c) Mod. O. González-Rocio	Consumidores (4c) Mod. J. Mendizabal	
18:15		<i>Asamblea de AIDA</i>				

## 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

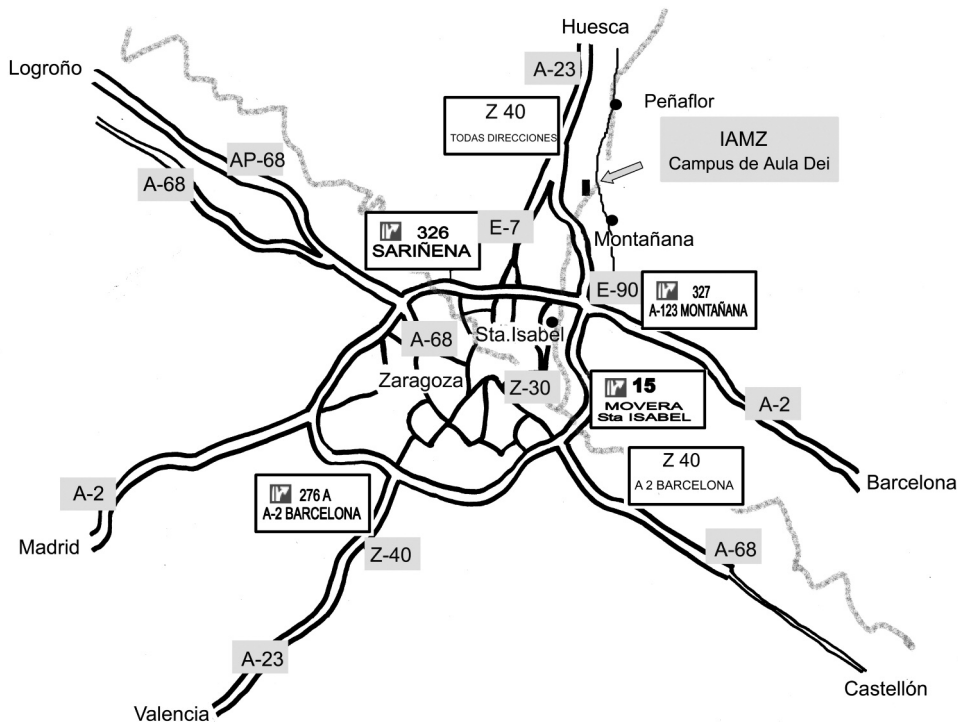
- En la a-68, tomar la dirección A-2 dirección Barcelona
- Seguir por la Z-40 hasta llegar a la salida 15 Movera-Santa Isabel
- En Santa Isabel tomar la A-123 Montañana

### BARCELONA

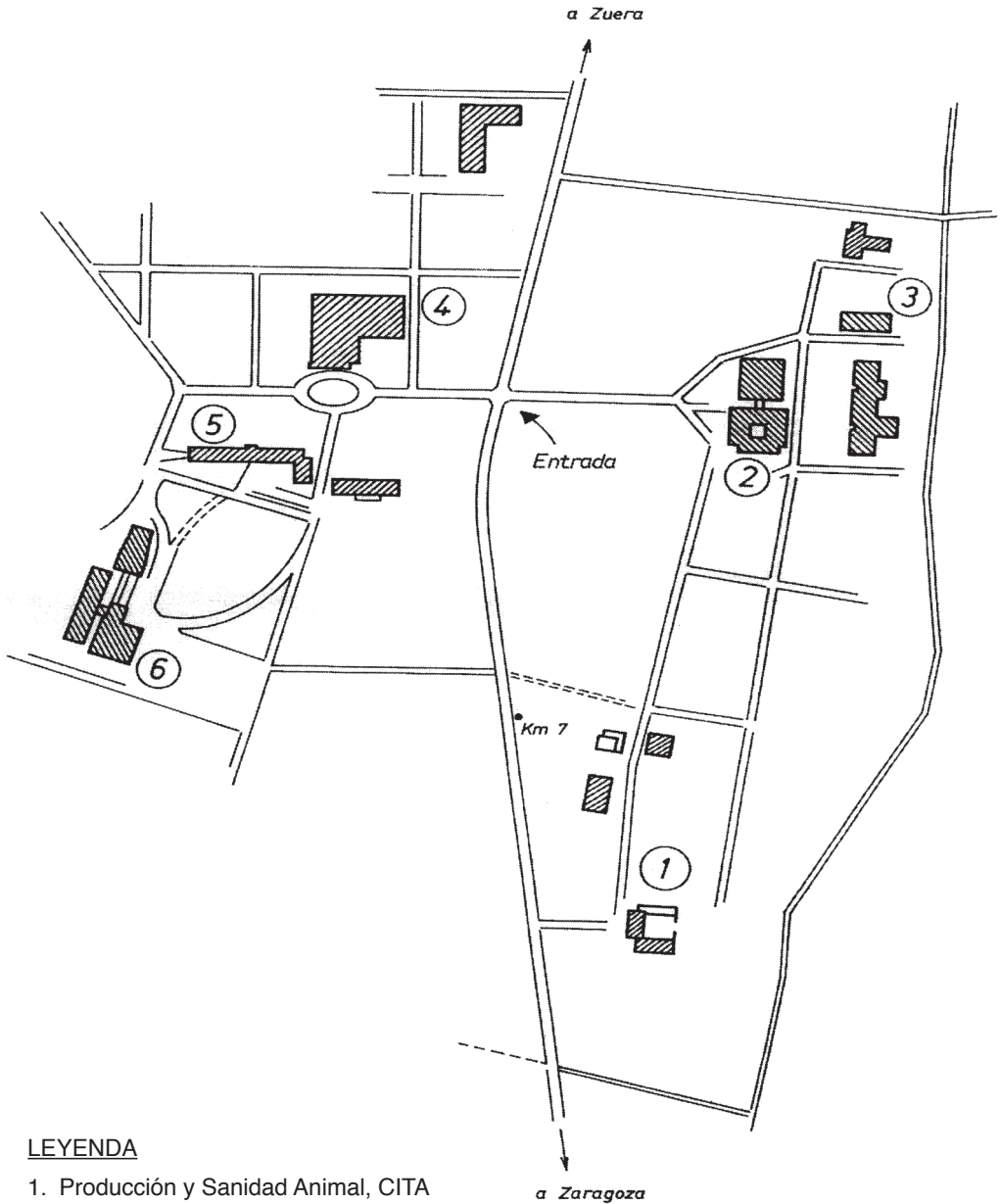
- En la A-2 tomar la salida 327 y seguir la indicación de la A-123 Montañana

### HUESCA

- Desde la A-23 seguir dirección Z-40 todas direcciones.
- Al llegar al tunel 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

### **SISTEMAS EXPLOTACIÓN: GESTIÓN Y ECONOMÍA**

#### **Sistemas:** Evaluación de sostenibilidad

- EVALUACIÓN DE LA SOSTENIBILIDAD DE SISTEMAS GANADEROS DOBLE PROPÓSITO EN MÉXICO. EL CASO DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE. García-Martínez, A., Vences-Pérez, J., Albarrán-Portillo, B., Rebollar-Rebollar, S. y Arriaga-Jordán, C.M. 3
- ANÁLISIS DISCURSIVO DE LA INCORPORACIÓN DE JÓVENES GANADEROS DE CATALUÑA. Góngora, R., Milán, M.J. y López-i-Gelats, F. . . . . 6
- PRACTICAS REGENERATIVAS COMO ALTERNATIVA SOSTENIBLE PARA LA GANADERIA LIGADA A LA TIERRA. Mandaluniz, N., Sáez, J., Arranz, J., Imaz, M.J. y Ruiz, R. . . . . 9
- ADOPCIÓN DE UN SISTEMA AGROFORESTAL SOSTENIBLE: IMPACTO PERCIBIDO POR LOS PRODUCTORES EN LOS AGROECOSISTEMAS HONDUREÑOS. Mendoza, A.A., Resano, H., Mora, J.L. y Olaizola, A. . . . . 12
- VALORACIÓN DE INDICADORES DE SOSTENIBILIDAD EN DEHESAS POR DIFERENTES GRUPOS DE INTERÉS: APLICACIÓN DE UN ESTUDIO DELPHI. Mesías, F.J., Escribano, M., Gaspar, P., Elghannam, A. y Eldesouky, A. . . . . 15
- RECURSOS EMBEBIDOS EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE CORDERO: UN ANÁLISIS DE EMERGÍA EN SISTEMAS MIXTOS OVINO-CULTIVOS MEDITERRÁNEOS. Rodríguez-Ortega, T., Bernués, A., Olaizola, A.M. y Brown, M.T. . . . . 18

#### **Sistemas:** Producción de Rumiantes I

- LA RESPUESTA AL ESQUILEO DURANTE EL ORDEÑO VARÍA SEGÚN LA RAZA DE OVEJAS LECHERAS. Elhadi, A., Salama, A.A.K., Such, X., Albanell, E. y Caja, G. 21
- MODELIZACIÓN DEL EFECTO DEL ESTRÉS POR CALOR EN DIFERENTES ZONAS DE ESPAÑA Y EL IMPACTO TÉCNICO Y ECONÓMICO DE LAS MEDIDAS DE CONTROL/REDUCCIÓN. Espinoza, O. y Calsamiglia, S. . . . . 24
- EFECTO DE LA BASE GENÉTICA SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS Y ECONÓMICOS AL DESTETE DE EXPLOTACIONES DE DEHESA: INFORMACIÓN PRELIMINAR. Mariscal, G., Callejo, A. y Daza, A . . . . . 27
- EFECTO DE VARIOS FACTORES EN EL PESO AL DESTETE DE LOS TERNEROS EN UNA EXPLOTACIÓN COMERCIAL. Maroto Molina, F., Gómez Cabrera, A., Guerrero Ginel, J.E., Garrido Varo, A., Adame Siles, J.A. y Pérez Marín, D.C. . . . . 30

#### **Sistemas:** Producción de Rumiantes II

- EFICIENCIA DE IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA Y RECOGIDA DE DATOS DE LECHE EN UN SISTEMA AUTOMÁTICO PARA OVEJAS Y CABRAS LECHERAS. Nieddu, G. y Caja, G. . . . . 33
- MODELACIÓN DE LA CURVA DE LACTANCIA DE CABRAS F<sub>1</sub> *ANGLO NUBIA X CRIOLLA* EN LOJA, ECUADOR. Pesántez, M.T., Serpa, G., Gonzalo, C., Ayala, L., Nieto, P., Rodas, R., Vásquez, J., Murillo, Y., Calle, G. y Bustamante, J. . . . . 36
- COMPARACIÓN DE DOS SISTEMAS DE MANEJO REPRODUCTIVO SOBRE LA EFICIENCIA PRODUCTIVA EN OVEJAS LAUCANE LECHERAS. Pesantez-Pacheco, J.L., Torres-Rovira, L., Hernández, F., Gonzalez-Martin, J.V., Gonzalez-Bulnes, A. y Astiz, S. 39

- DESARROLLO DE HERRAMIENTAS BASADAS EN TIC PARA LA MONITORIZACIÓN DE GANADO EN PASTOREO. Santiago, C., Callejero, C., Gómez, I. y Vicente, F. . . . . 42
- EL CEBO EN LAS EXPLOTACIONES DE VACUNO DE RAZA TUDANCA EN CANTABRIA: RESULTADOS PRELIMINARES. Vázquez, I., Olaizola, A.M., Resano, H. y Serrano, E. . . . . 45

**Sistemas:** Producción de monogástricos

- MODIFICACIONES EN EL SISTEMA DE SUMINISTRO DE AGUA DE CERDOS EN CRECIMIENTO Y FINALIZACIÓN. Dolz, N., Sancho, V., Iborra, M. y Babot, D . . . . . 48
- RACIONAMIENTO DE CONEJOS EN ENGORDE POR LIMITACION DE ACCESO AL ALIMENTO: EFECTO SOBRE LA PERFORMANCE PRODUCTIVA. Gonçalves, S., Soares, M.L., Cerqueira, J.O.L., Calhoa, I., Oliveira, J. y Araújo, J.P. . . . . 51
- CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL CABALLO DE LA MONTAÑA ASTURIANA. Lomillos, J.M., Armenteros, J.A., Álvarez, A., Gómez-Seco, C., Fernández-Alegre, E. y Alonso, M.E. . . . . 54
- CARACTERIZACIÓN DE LOS BEBEDEROS PORCINOS A NIVEL DE LABORATORIO. Parera, J., Sancho, V., Dolz, N., Ortiz, C., Piñol, A. y Babot, D. . . . . 57
- IMPACTO DEL VIRUS PRRS Y DE LA APLICACIÓN DE MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD SOBRE LA PRODUCTIVIDAD Y LA RENTABILIDAD DE LAS EXPLOTACIONES PORCINAS. Pascual, M., Alós, N., Martín, G., Mateu, E., López, P. y Quintanilla, R. . . . . 60

**Sistemas:** Economía y mercados

- PUNTO DE EQUILIBRIO ECONÓMICO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN OVINA EN LA REGIÓN BAJO MIXE, OAXACA, MÉXICO. Martínez-Peña, M., Villagómez-Cortés, J.A. y Mora-Brito, A.H. . . . . 63
- COMPARACIÓN TÉCNICO-ECONÓMICA DE VACAS DE RAZA PURA HOLSTEIN VERSUS VACAS CRUCES DE HOLSTEIN UTILIZANDO UN MODELO DE SIMULACIÓN. López-Suárez, M., Castillejos, L., Piera, M., Loste, J.M. y Calsamiglia, S. . . . . 66
- ANÁLISIS ECONÓMICO DE UNA ENGORDA DE BOVINOS DE MEDIA CEBRA EN LA ZONA CENTRAL DE VERACRUZ, MÉXICO. Capellini-Acosta, M., Villagómez-Cortés, J.A. y Rodríguez Chessani, M.A. . . . . 69
- FACTORES QUE INFLUENCIAN LA RENTABILIDAD DE LAS EXPLOTACIONES OVINAS DE CARNE EN ARAGÓN. Chekmam, L., Maza, M. T. y Pardos, L. . . . . 72
- LAS REDES SOCIALES COMO NUEVO CANAL DE COMERCIALIZACIÓN DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL: UN ESTUDIO CUALITATIVO EN EGIPTO. Elghannam, A., Eldesouky, A., Mesías, F.J., Gaspar, P. y Escribano, M. . . . . 75
- PERCEPCIÓN Y VALORACIÓN DE UNA DENOMINACIÓN DE ORIGEN PROTEGIDA POR LOS GANADEROS: EL CASO DE LA TORTA DEL CASAR. Escribano, M., Mesías, F.J., Gaspar, P., Elghannam, A. y Eldesouky, A. . . . . 78
- ANÁLISIS PRELIMINAR DE LAS MEDIDAS NO ARANCELARIAS QUE AFECTAN A LAS EXPORTACIONES ESPAÑOLAS DE PORCINO A CHINA. Peci, J. y Sanjuán, A.I. . . . . 81



## NUTRICION Y ALIMENTACIÓN

### Nutrición y alimentación: Relación alimentación-sanidad en porcino

- EFECTO DE LA ADICIÓN DE ALTAS DOSIS DE BUTIRATO SÓDICO PROTEGIDO EN LA FASE DE FINALIZACIÓN DE CEBO DE PORCINO SOBRE LA INCIDENCIA DE *SALMONELLA*. Basanta, A., Ortiz, A., López, A. y Carrasco, C. . . . . 87
- EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE DOS SALES SÓDICAS DE BUTIRATO Y HEP-TANOATO FRENTE UN DESAFÍO ORAL CON *ESCHERICHIA COLI* (ECET) K88 EN LECHONES DESTETADOS. López-Colom, P., Castillejos, L., Puyalto, M., Mallo, J.J. y Martín-Orúe, S.M. . . . . 90
- ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE ALGUNOS INGREDIENTES PARA REDUCIR LA ADHESIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROTOXIGENICA (ETEC) K88 A CELU-LAS EPITELIALES PORCINAS. Zhu, Y., González-Ortiz, G., Solà-Oriol, D. y Martín-Orúe, S.M. . . . . 93
- EFICACIA DE LA COMBINACIÓN SIMBIÓTICA DE *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* *SUBSP. INFANTIS* CECT7210 Y UN PREBIÓTICO DE INULINA Y FOS FRENTE A *SALMONELLA TYPHIMURIUM* EN UN MODELO DE LECHÓN RECIÉN DESTETADO. Rodríguez-Sorrento, A., Castillejos, L., Lopez, P., Rivero-Urgell, M. y Moreno, J.A. y Martín-Orue, S.M. . . . . 96

### Nutrición y alimentación: Cerdos de engorde, desarrollo y calidad de la canal

- FORMULACIÓN DE PIENSOS PARA PORCINO DE CEBO: ¿PROGRAMACIÓN LI-NEAL O ESTOCÁSTICA? Álvarez-Rodríguez, J., Latorre, M.A. y Villalba, D. . . . . 99
- USO DE LA BETAÍNA Y EL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN LA FASE DE CRE-CIMIENTO-CEBO EN CERDO BLANCO. Fernández-Fígares, I., Morales, J., Nieto, R., González-Valero, L. y Lachica, M. . . . . 102
- EFECTOS DE LA DEFICIENCIA DE LISINA EN LA DIETA SOBRE LA COMPOSICIÓN CORPORAL EN CERDOS IBÉRICOS Y LANDRACE X LARGE WHITE. Palma-Gra-nados, P., Hidalgo-Checa, N., Lara, L., Haro, A., Aguilera, J.F. y Nieto, R. . . . . 105
- PULPA DE ACEITUNA EN ALIMENTACIÓN DE PORCINO: VALOR NUTRICIONAL Y RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS. Ferrer, P., De Blas, C., García-Rebollar, P., Calvet, S., Rodríguez, C., Piquer, O., Coma, J., Bonet, J. y Cerisuelo, A. . . . . 108
- INFLUENCIA DEL APOORTE DE FÓSFORO EN LA DIETA DE CERDOS HEMBRA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA TIBIA Y EL FÉMUR EVALUADAS ME-DIANTE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA. Sousa, R., Brun, A., Lizardo, R., Gispert, M., Esteve, E., Soler, J., Font-i-Furnols, M. . . . . 111
- INFLUENCIA DEL APOORTE DE FÓSFORO EN LA DIETA DE CERDOS HEMBRA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS METACARPOS EVALUADAS MEDIANTE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA. Sousa, R., Brun, A., Lizardo, R., Gis-pert, M., Esteve, E., Soler, J., Font-i-Furnols, M. . . . . 114

### Nutrición y alimentación: Producción y calidad de la leche I

- EVALUACIÓN DE CALOSTRO FRESCO, CONGELADO Y PASTEURIZADO DE VACAS LECHERAS DE LA RAZA FRISONA. Cerqueira, J.O.L., Ferreira, A.C.M., Faria, F.C., Blanco-Penedo, I., Cantalapiedra J., Araújo, J.P., . . . . . 117
- EFECTO DE LA ADICIÓN DE ACEITE VEGETAL MODIFICADO EN LA ALIMENTA-CIÓN DE OVEJAS F1 (EAST FRIESIAN X OVINO DE PELO) SOBRE EL PESO VIVO DE SU PROGENIE. Vicente, J.G., Martínez, J.M., Pinos, J.M., García, S.P., Hernández, J.A., Estrada, A.T., Loeza, R., Alva, M., Juárez, F.I., Isabel, B. . . . . 120

– EVALUACIÓN DEL ENSILADO DE HABA FORRAJERA COMO ALTERNATIVA AL ENSILADO DE RAIGRÁS ITALIANO EN LA ALIMENTACIÓN DE VACUNO LECHERO. Baizán, S., Martínez-Fernández, A. y Vicente, F. . . . .	123
– EFECTOS DE LA RELACIÓN FORRAJE A CONCENTRADO EN OVEJAS LECHE-RAS. 1. PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE. Elhadi, A., Caja, G., Salama, A.A.K., Mendivil, M., Durán, E. y Albanell, E. . . . .	126
– EFECTOS DE LA RELACIÓN FORRAJE A CONCENTRADO EN OVEJAS LECHE-RAS. 2. PERFIL LIPÍDICO Y RENDIMIENTO QUESERO. Elhadi, A., Minh, L.D.T., Saldo, J., Toral, P.G., Hervás, G. Frutos, P. y Caja, G. . . . .	129
– VARIABILIDAD INDIVIDUAL DE LA ACIDOSIS RUMINAL EN CABRAS LECHERAS. Castro-Costa, A., Caja, G., Dhumez, O., Tessier, J., Eymard, A. y Giger-Reverdin, S. . . . .	132
– DEPRESIÓN DE LA GRASA LÁCTEA EN OVEJAS QUE CONSUMEN LÍPIDOS DE ORIGEN MARINO: 1. ¿PUEDEN LOS ÁCIDOS GRASOS ANTILOPOGÉNICOS DE LA LECHE EXPLICAR LA VARIACIÓN INDIVIDUAL? Rodríguez-López, L., Hervás, G., Toral, P.G., Mendoza, A.G., Belenguer, A., Fernández, M. y Frutos, P. . . . .	135
– DEPRESIÓN DE LA GRASA LÁCTEA EN OVEJAS QUE CONSUMEN LÍPIDOS DE ORIGEN MARINO: 2. ¿PUEDE LA ABUNDANCIA DE ARNM DE GENES IMPLICADOS EN LA LIPOGÉNESIS MAMARIA EXPLICAR LA VARIACIÓN INDIVIDUAL? Rodríguez-López, L., Frutos, P., Toral, P.G., Mendoza, A.G., Fernández, M. y Hervás, G. . . . .	138
– LA APLICACIÓN DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PROTONES (H-NMR) EN OVEJAS CON DEPRESIÓN DE LA GRASA LÁCTEA: ¿PUEDE EL PERFIL METABOLÓMICO DE LA SANGRE EXPLICAR LA VARIACIÓN INDIVIDUAL? Salama, A.A.K., Toral, P.G., Hervás, G., Caja, G. y Frutos, P. . . . .	141

**Nutrición y alimentación:** Valor nutritivo-rumiantes

– EFECTO SOBRE LA INGESTIÓN VOLUNTARIA DEL CONTENIDO EN COMPONENTES SECUNDARIOS EN RACIONES DE VACUNO LECHERO. Barhoumi, N., Baizán, S., Vicente, F., Rodríguez, L., Feito, I., Martínez-Fernández, A. . . . .	144
– CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL Y DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE LA HARINA, LA TORTA Y LA CASCARILLA DE CAMELINA. Salas, H., Castillejos, L. y Ferret, A. . . . .	147
– INFLUENCIA DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO EN BALSA SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y LA FERMENTACIÓN RUMINAL <i>IN VITRO</i> DEL ORUJO GRASO DE ACEITUNA. Marcos, C.N., de Blas, C., Rodríguez, C.A., González, J., Fernández, R., Molina-Alcaide, E. y Carro, M.D. . . . .	150
– COMPOSICIÓN QUÍMICA Y FERMENTACIÓN RUMINAL <i>IN VITRO</i> DE SUBPRODUCTOS DE INVERNADERO. Molina-Alcaide, E., Romero-Huelva, M. y Carro, M.D. . . . .	153

**Nutrición y alimentación:** Pósteres de nutrición-alimentación de rumiantes

– LA DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA MATERIA ORGÁNICA Y EL NITRÓGENO SEGÚN EL NIVEL DE INCLUSIÓN DE GUISANTE EN PIENSO PARA EL CEBO DE CORDEROS. Blanco, M., Rufino, P.J., Lobón, S., Casasús, I., Joy, M. . . . .	156
– EFECTO DEL TIEMPO DE PERMANENCIA DE SEMILLAS DE TEOSINTE EN EL RUMEN DE MORUECOS SOBRE SU EMERGENCIA Y VIABILIDAD. Cirujeda, A., Pardo, G., Marí, A.I., Casasús, I. y Joy, M. . . . .	159
– COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE GAS <i>IN VITRO</i> DE SUBPRODUCTOS DE CÍTRICOS. De Evan, T., Haro, A.N., de Blas, C., García-Rebollar, P., Ferrer, P., Cerisuelo, A., Ranilla, M.J. y Carro, M.D. . . . .	162

– COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> EN PORCINO Y RUMIANTES DE SUBPRODUCTOS DE LA ACEITUNA. Farias, C., Marcos, C.N., García-Rebollar, P., Rodríguez, C.A., Carro, M.D. y de Blas, C. . . . .	165
– FERMENTACIÓN <i>IN VITRO</i> DE CEBADA EN FUNCIÓN DE NIVEL DE INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN DIETAS PARA EL CEBO DE TERNEROS. Amanzougarene, Z., Yuste, S., Vega A. y Fondevila, M. . . . .	168
– SUPLEMENTACIÓN CON CULTIVO ACTIVO DE LEVADURAS EN EDADES TEMPRANAS EN CABRITAS. 2) EFECTO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL, DIGESTIBILIDAD Y PRODUCCIÓN LECHERA EN LA PRIMERA LACTACIÓN. Serrano R., Abecia L., Jiménez E., Martín-García A.I., Doblas A., Yáñez-Ruiz D.R. . . . .	171
– RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y PRODUCTIVAS DE CABRAS LECHERAS MURCIANO-GRANADINAS AL ESTRÉS POR FRÍO. Coloma-García., Mehaba, N., Salama, A.A.K., Such, X. y Caja, G . . . . .	174
– UTILIZACIÓN DE ISÓTOPOS ESTABLES PARA CUANTIFICAR EN OVEJAS LA SÍNTESIS ENDÓGENA DEL ÁCIDO OLEICO DE LA LECHE. Toral, P. G., Frutos, P., Carreño, D. y Hervás, G. . . . .	177
– INHIBICIÓN DE LA SECRECIÓN DE PROLACTINA Y DE LECHE POR EFECTO DE LA CABERGOLINA EN OVEJAS LECHERAS A MITAD DE LACTACIÓN. Caja, G., Salama, A.A.K., Elhadi, A. y Such, X. . . . .	180
– EFECTO DEL NÚMERO DE BOCAS DE COMEDERO DE PIENSO DURANTE LAS DOS PRIMERAS SEMANAS TRAS LA LLEGADA A GRANJA SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO Y CRECIMIENTO EN TERNEROS MAMONES FRISONES. Verdú, M., Solé, A., Bach, A. y Devant, M. . . . .	183
– RESPUESTA A ENSAYOS DE TOLERANCIA A GLUCOSA Y RETOS DE INSULINA EN DROMEDIARIOS JÓVENES DURANTE EL PERIODO DE CRÍA. Díaz-Medina, E., Caja, G., Salama, A.A.K., Cabrera, S., Alshaikh, M., Ayadi, M., Aljumaah, R. y Rovai, M. . . . .	186
– EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE COBRE EN EL CONTENIDO MINERAL DEL SUERO DURANTE EL DESARROLLO DE LAS CUERNAS EN CIERVO ROJO. Gambín, P., Cappelli, J., Serrano, M.P., García, A., Gallego L. y Landete-Castillejos T. . . . .	189

**Nutrición y alimentación: Conejos**

– PERFIL LIPÍDICO Y ESTRÉS OXIDATIVO DE CONEJAS Y GAZAPOS ALIMENTADOS CON PIENSOS ENRIQUECIDOS EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS N-3. Rodríguez, M., García-García, R.M., Millán, P., Arias-Álvarez, M., Formoso-Rafferty, N., Lorenzo, P.L., Gonzáles-Bulnes, A. y Rebollar, P.G. . . . .	192
– EFECTO DEL NIVEL DE FIBRA SOLUBLE Y DE LA RELACIÓN N-6/N-3 SOBRE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL Y FECAL DE GAZAPOS EN CEBO. Delgado, R., Abad-Guamán, R., Nicodemus, N., Sastre J., Carabaño, R., Menoyo, D. y García, J. . . . .	195
– EFECTO DE LA PRE-DIGESTIÓN DEL SUSTRATO SOBRE LA FERMENTACIÓN <i>IN VITRO</i> EN CONEJOS. Ocasio-Vega, C., Abad-Guamán, R., Delgado, R., Carabaño, R., Carro, M.D. y García, J. . . . .	198
– EFECTO DE LA PRE-DIGESTIÓN DEL SUSTRATO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES <i>IN VITRO</i> UTILIZANDO CECÓTROFOS DE CONEJOS. Ocasio-Vega, C., Abad-Guamán, R., Delgado, R., Carabaño, R., García, J. y Carro, M.D. . . . .	201

### **Nutrición y alimentación: Aves**

- EFECTO DEL TRATAMIENTO TECNOLÓGICO SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DEL SALVADO DE ARROZ EN POLLOS DE ENGORDE. Contreras-Jodar, A., Francesch, M. y Álvarez, L. . . . . 204
- LECITINA DE SOJA COMO FUENTE DE ENERGÍA EN LA ALIMENTACIÓN DE POLLOS DE CARNE. Vinado, A., Castillejos, L. y Barroeta, A.C. . . . . 207
- SUPLEMENTACIÓN CON LACTOSUERO EN POLVO Y CONCENTRADO PROTÉICO DE LACTOSUERO EN DIETAS DE POLLOS DE ENGORDE: EFECTO SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA CECAL. Pineda-Quiroga, C., Camarinha-Silva, A., Borda-Molina, D., Atxaerandio, R., García-Rodríguez, A. y Ruiz, R. . . . . 210
- EFECTO DEL PERFIL NUTRICIONAL DE LA DIETA DE PRE-PUESTA EN GALLINAS REPRODUCTORAS PESADAS SOBRE LOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS Y REPRODUCTIVOS. Martín, D., Novoa, S., Guerra, C. y Abad, J.C. . . . . 213

### **Nutrición y alimentación: Producción y calidad de la leche II**

- EFECTOS A CORTO PLAZO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON BETA-GLUCANOS DE CEBADA A OVEJAS LECHERAS: 1. RESULTADOS PRODUCTIVOS Y METABÓLICOS. Torrent, N., Mehaba, N., Love, S., Salama, A.A.K., Albanell, E. y Caja, G. . . 216
- EFECTOS A CORTO PLAZO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON BETA-GLUCANOS DE CEBADA A OVEJAS LECHERAS: 2. METABOLOMA. Contreras-Jodar, A., Torrent, N., Mehaba, N., Salama, A.A.K., Albanell, E. y Caja, G. . . . . 219
- EFECTO DEL DHA SOBRE LA BIOHIDROGENACIÓN RUMINAL IN VITRO DE ÁCIDOS GRASOS DE 18 CARBONOS: COMPARACIÓN EN VACAS Y OVEJAS. Toral, P.G., Hervás, G., Carreño, D., Leskinen, H., Belenguer, A., Shingfield, K.J. y Frutos, P. 222
- SUPLEMENTACIÓN EN MELAZA CRISTALIZADA COMO ALTERNATIVA AL EMPLEO DE SUPLEMENTOS GRANULADOS PARA LA MEJORA DEL PERIPARTO DE CAPRINO LECHERO. Martín-García, A.I, Guerrero, M., Belanche, A. y Yáñez-Ruiz, D. . 225
- RESPUESTAS DE LAS CABRAS LECHERAS A LA SUPLEMENTACIÓN CON L-CARNITINA EN CONDICIONES DE ESTRÉS POR CALOR. Mehaba, N., Salama, A.A.K., Such, X. y Caja, G. . . . . 228
- ¿PUEDEN LOS NUCLEÓTIDOS INCORPORADOS EN LA DIETA ACTUAR COMO MODULADORES DE LA INMUNIDAD EN EL VACUNO LECHERO? Rodríguez-Prado, M. Borda, E., Sánchez, C. y Calsamiglia, S. . . . . 231

### **Nutrición y alimentación: Pósteres de nutrición-alimentación de monogástricos**

- ESTUDIO “IN VITRO” DEL PATRÓN DE FERMENTACIÓN COLÓNICA EN RACIONES FORRAJERAS PARA CABALLOS. Seradj, A.R., Balcells, J., Costa, S. y de la Fuente, G. . . . . 234
- EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE DOMPERIDONA A CERDAS DURANTE EL PERIPARTO Y EN LACTACION SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA DE LECHONES LACTANTES. Vicente, J.G., Loeza, R., Espinosa, M., Jácome, S., Loeza, V.M., De Gasperín L. y Pinos, J. . . . . 237
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN EN EL PIENSO DE UN BIOSURFACTANTE SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LA CANAL DE CERDOS DE CEBO. Callejo, A., Tellez, S., López, I., Sujka, E. y Daza, A. . . . . 240
- LA SUPLEMENTACIÓN DEL PIENSO CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS N-3 MEJORA EL ÍNDICE DE CONVERSIÓN DE LOS GAZAPOS. Rodríguez, M., Velasco, B. y Rebollar, P.G. . . . . 243

- SUCESIÓN DE LA MICROBIOTA CECAL Y RENDIMIENTO PRODUCTIVO EN POLLOS DE ENGORDE ALIMENTADOS CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON ADITIVOS. Pineda-Quiroga, C., Camarinha-Silva, A., Atxaerandio, R., García-Rodríguez, A. y Ruiz, R. . . . . 246
- ACTIVIDAD LIPOGÉNICA EN TEJIDOS Y PERFIL HORMONAL DE LECHONES LACTANTES IBÉRICOS Y LANDRACE X LARGE WHITE. Palma-Granados, P., Seiquer, I. y Nieto, R. . . . . 249

**Nutrición y alimentación: Fermentación ruminal**

- ESTUDIO DEL EFECTO DE UNA MEZCLA COMERCIAL DE ACEITES FUNCIONALES SOBRE LA FERMENTACIÓN “*IN VITRO*” DE CONTENIDO RUMINAL PROCEDENTE DE TERNEROS ALIMENTADOS CON RACIONES CONCENTRADAS. Seradj, A. R., Torrent, J., de la Fuente, G., Balcells, J . . . . . 252
- INFLUENCIA DEL ACEITE ESENCIAL DE AJO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y LA DIVERSIDAD BACTERIANA EN FERMENTADORES RUSITEC. García-Rodríguez J., Carro M.D., Saro C., Mateos I., Tejido M.L., Ranilla M.J., . . . . . 255
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN DIETAS PARA EL CEBO DE TERNEROS SOBRE LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE CEBADA. Amanzougarene, Z., Yuste, S., Vega, A. y Fondevila, M. . . . . 258
- OPTIMIZACIÓN *IN VITRO* DEL USO DE MICROBIOTA RUMINAL COMO PROBIÓTICO. 1. EFECTO DE LA DIETA, MOMENTO DE MUESTREO Y FRACCIÓN RUMINAL. Nejjam, I., Palma, J.M., Serrano R., Jimenez, E., Jimenez, I., Martín-García, A.I., Yáñez-Ruiz, D.R. y Belanche, A. . . . . 261
- OPTIMIZACIÓN *IN VITRO* DEL USO DE MICROBIOTA RUMINAL COMO PROBIÓTICO. 2. EFECTO DEL INÓCULO, DIETA Y MÉTODO DE CONSERVACIÓN. Palma, J.M., Nejjam I., Serrano, R., Jiménez, E., Jiménez, I., Martín-García, A.I., Yáñez-Ruiz, D.R. y Belanche, A . . . . . 264
- EFECTOS DE UN HIDROLIZADO DE LEVADURAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN FERMENTADORES RUSITEC. Díaz A., Ranilla M.J., Saro C., Tejido M.L., Mateos I., García-Rodríguez J., Carro M.D. 267
- SUPLEMENTACIÓN CON CULTIVO ACTIVO DE LEVADURAS EN EDADES TEMPRANAS EN CABRITOS: 1) EFECTO SOBRE LA FERMENTACIÓN, DESARROLLO Y COLONIZACIÓN MICROBIANA DEL RUMEN. Abecia L., Serrano R., Jiménez E., Martín-García A.I., Doblás A., Yáñez-Ruiz D.R. . . . . 270

**Nutrición y alimentación: Cerdas y lechones**

- PARTICIÓN DE LA ENERGÍA METABOLIZABLE Y VALORACIÓN DE LA MOVILIZACIÓN DE RESERVAS EN CERDAS DURANTE LA LACTACIÓN. Fornós Inglès, M., Boix, O., Solà-Oriol, D. y Gasa, J. . . . . 273
- PÉRDIDA DE PESO VIVO DE LA CERDA DURANTE LA LACTACIÓN: EVOLUCIÓN Y CONSECUENCIAS. Boix, O., Solà-Oriol, D. López-Vergé, S. y Gasa, J. . . . . 276
- ALIMENTACIÓN DE CERDAS EN LACTACIÓN: ¿PIENSO SECO O DIETA LÍQUIDA? Gelinne, A., Fabà, L.I., Solà-Oriol, D. y Gasa, J. . . . . 279
- EFECTO DEL TIPO DE GRASA ADICIONADA EN LA DIETA DE LAS CERDAS REPRODUCTORAS SOBRE EL METABOLISMO LIPÍDICO DEL LECHÓN BAJO CONDICIONES TROPICALES. De Gasperín, L.I., Vicente, J.G., Loeza, L.R., Isabel, B., Ángeles, M.A. y Pinos, J.M. . . . . 282

- EVALUACIÓN DE PREFERENCIAS INNATAS EN LECHONES POST-DESTETE FRENTE A DIFERENTES COMPUESTOS FITOGÉNICOS SUPLEMENTADOS EN DIETAS DE INICIACIÓN. Reyes, D., Villodre, C., Pérez, J.F. y Solá-Oriol, D. . . . . 285

**Nutrición y alimentación:** Nutrición y metabolismo en porcino

- EFECTO DEL GENOTIPO Y DE LA DEFICIENCIA EN LISINA EN LA DIETA SOBRE EL PERFIL DE AMINOÁCIDOS DEL MÚSCULO Y PLASMA EN LECHONES. Palma-Granados, P., Lara, L., Seiquer, I., Aguilera, J.F. y Nieto, R. . . . . 288
- EFECTO DE LA RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO Y EL SEXO EN EL DESARROLLO POSTNATAL EN EL CERDO IBÉRICO. Vázquez-Gómez, M., García-Contreras, C., Segura, J., Ayuso, M., Fernández-Moya E., Astiz, S., González-Bulnes, A., Óvilo, C. e Isabel, B. . . . . 291
- FLUJO NETO PORTAL DE METABOLITOS EN CERDOS IBÉRICOS ALIMENTADOS CON BELLOTAS. Fernández-Fígares, I., Rodríguez-López, J.M., González-Valero, L. y Lachica, M. . . . . 294
- APARICIÓN NETA PORTAL DE AMINOÁCIDOS EN CERDOS IBÉRICOS ALIMENTADOS CON BELLOTA. Lachica, M., González-Valero, L., Rodríguez-López, J.M. y Fernández-Fígares, I. . . . . 297
- APARICIÓN NETA PORTAL DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES Y SU APORTACIÓN A LAS NECESIDADES ENERGÉTICAS DE CERDOS IBÉRICOS ALIMENTADOS CON BELLOTA. Lachica, M., González-Valero, L., Rodríguez-López, J.M., Lara, L. y Fernández-Fígares, I. . . . . 300

**Nutrición y alimentación:** Dieta durante la lactación

- INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN PREVIA AL DESTETE SOBRE LOS RENDIMIENTOS TÉCNICO-ECONÓMICOS DURANTE LA LACTACIÓN Y LA TRANSICIÓN AL CEBO INTENSIVO EN VACUNO DE CARNE. Casasús, I., Yuste, S., de Vega, A., Ferrer, J., Fondevila, M., Blanco, M. . . . . 303
- EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN OFRECIDA ANTES DEL DESTETE SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y LA CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS SANGUÍNEOS EN TERNEROS DE CARNE. Yuste, S., Amanzougarene, Z., Blanco, M., de Vega, A., Fondevila, M. y Casasús, I. . . . . 306
- EL SISTEMA DE LACTANCIA AFECTA A LA EFICIENCIA DE ALIMENTACIÓN Y AL PERFIL METABOLÓMICO DEL PLASMA DE CORDEROS EN LA ETAPA DE CEBO. Santos, A., Giráldez, F.J., Trevisi, E., Lucini, L., Valdés, C., Frutos, J., Alonso, M. y Andrés, S. . . . . 309
- EFECTO DE LA CANTIDAD DE LACTORREEMPLAZANTE SUMINISTRADA DURANTE LAS DOS PRIMERAS SEMANAS TRAS LA LLEGADA A GRANJA SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO Y CRECIMIENTO EN TERNEROS MAMONES FRISONES. Verdú, M., Solé, A., Bach, A. y Devant, M. . . . . 312

**Nutrición y alimentación:** Dieta durante el cebo

- USO DE PROTEÍNA DE GIRASOL (SEMILLA Y HARINA) PROTEGIDA EN EL CEBO DE CORDEROS. Haro, A.N., Hernández, E., Añover, I., de la Fuente, J., González, J. y Carro, M.D. . . . . 315
- REDUCCIÓN DE LA EXCRECIÓN Y LA VOLATILIZACIÓN DE NITRÓGENO EN TERNEROS DE ENGORDE DURANTE LA FASE DE ACABADO A TRAVÉS DE LA REDUCCIÓN DEL NIVEL DE PROTEÍNA DEL CONCENTRADO. Devant, M., Quintana, B., Solé, A., Pérez, A., Medinyà, C., Riera, J., Grau, J. y Fernández, B. . . . . 318

- EFECTO DEL NIVEL DE ENERGÍA Y LA PRESENTACIÓN DE LA RACION SOBRE COMPORTAMIENTO ALIMENTICIO DE TERNEROS EN UN REGIMEN DE CEBO INTENSIVO. Mora, J., Balcells, J., Llanes, N., Isla, E. Villalba, D . . . . . 321
- USO DEL NITROGENO DE UREA EN SANGRE PARA EVALUAR EL NIVEL DE PROTEÍNA DE LAS RACIONES DE TERNEROS DE ENGORDE. Costa, S., Ventura, G., Balcells, J., Mora, J., Cortes-Lacruz, X., de la Fuente, G. y Villalba, D. . . . . 324

## REPRODUCCIÓN

### Reproducción: Embriones

- SELECCIÓN DE OÓCITOS DE GATO DOMÉSTICOS UTILIZANDO EL BRILLIANT CREASYL BLUE (BCB) PARA MEJORAR EL DESARROLLO EMBRIONARIOS IN VITRO. Piras, A.R., Ariu, F., Pau, S., Zedda, M.T, Paramio, M.T. y Bogliolo, L. . . . . 329
- CARACTERIZACIÓN MITOCONDRIAL DE OVOCITOS BOVINOS SELECCIONADOS MEDIANTE BCB. Lamas-Toranzo, I., Pericuesta, E. y Bermejo-Álvarez, P. . . . 332
- PRODUCCIÓN IN VITRO DE EMBRIONES CAPRINOS MEDIANTE INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES DE OOCITOS PREPÚBERES Y SU RELACIÓN CON LA CAPACITACIÓN SEMINAL. Menéndez-Blanco, I., Soto, S., Català, M. G., Roura, M., Izquierdo, D. y Paramio, M. T . . . . . 335
- DESARROLLO DE UN MODELO EN 3D PARA ESTUDIAR LA INTERACCIÓN ENTRE GAMETOS. Hamze, J.G., Canha, A., Zamorano, L., Algarra, B., Olivares, M.C., Romar, R. y Jiménez-Movilla, M. . . . . 338
- LOCALIZACIÓN DE HAPTOGLOBINA EN EL OVIDUCTO PORCINO Y SU EFECTO EN LA FECUNDACIÓN *IN VITRO*. López-Úbeda, R., Soriano-Úbeda, C., Matás, C., García-Vázquez, F.A., Avilés, M., Guillén-Martínez, A. y Izquierdo-Rico, M.J. . . . . 341
- EVALUACIÓN DE DISPOSITIVOS DE RECOGIDA DE FLUIDO UTERINO EN MODELO OVINO MEDIANTE UN ABORDAJE MÍNIMAMENTE INVASIVO. Poveda, I., Canha, A., de la Cruz, J., Morcillo, E., Albors, O., Soria, F., Sánchez-Margallo, FM. y Latorre, R. . . . . 344
- EFECTOS TRANSGENERACIONALES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO DE UNA LÍNEA PATERNAL DE CONEJOS RECONSTITUIDA A PARTIR DE EMBRIONES VITRIFICADOS. Juarez, J.D., Marco-Jiménez, F. y Vicente, J.S. . . 347

### Reproducción: Manejo Reproductivo I

- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON DIAS LARGOS COMBINADO O NO CON IMPLANTES DE MELATONINA SOBRE LOS NIVELES DE TESTOSTERONA Y LOS RESULTADOS DE UN TEST DE MONTA EN MORUECOS. Abecia, J.A., Delgadillo, J.A., Palacios, C., Chemineau, P. y Keller, M. . . . . 350
- EFECTO DE LA EXPOSICION DE LOS MACHOS A DIAS LARGOS EN PRIMAVERA SOBRE LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE UNA CUBRICION EN JUNIO EN UNA GANADERIA ECOLOGICA DE LA RAZA CHURRA. Palacios, C. y Abecia, J.A. 353
- LA PRESENCIA DE CABRAS EN ESTRO MEJORA EL COMPORTAMIENTO SEXUAL DE LOS MACHOS CABRÍOS DURANTE EL REPOSO SEXUAL. Ramírez, S., Hernández, H., Mendieta, E.S., Nandayapa, E., Keller, M. y Delgadillo, J.A. . . . . 356
- EFECTO DE LA ADICIÓN DE ACEITE VEGETAL MODIFICADO EN LA ALIMENTACIÓN DE BORREGAS F1 SOBRE SU CONDICIÓN CORPORAL Y SUS PARÁME-

TROS REPRODUCTIVOS. Rosa-Velázquez, M., Isabel, B., De Gasperin, I., Pinos, J.M., Estrada, A.T., Hernández, J.A. y Vicente, J.G. . . . . .	359
--	-----

**Reproducción: Manejo Reproductivo II**

– UNA DÉCADA DEL PLAN DE EXPLOTACIÓN DE ANGRA DE LA MUTACIÓN OVINA FECX <sup>R</sup> (GEN GASE): RESULTADOS REPRODUCTIVOS. Macías, A., Laviña, A., Martín, E., Monteagudo, L.V., Tejedor, M.T. y Sierra, I. . . . .	362
– EDAD Y PROLIFICIDAD AL PRIMER PARTO DE CORDERAS RASA ARAGONESA PORTADORAS O NO DEL ALELO FECX <sup>R</sup> . Lahoz, B., Jiménez-Hernando, M.J., Jurado, J.J., Calvo, J.H., Galeote, A., Blasco, M.E., Folch, J., Fantova, E. y Alabart, J.L. . . . .	365
– EVOLUCIÓN Y ESTADO ACTUAL DE LA EDAD AL PRIMER PARTO EN RASA ARAGONESA. Lahoz, B., Jiménez-Hernando, M.A., Jurado, J.J., Calvo, J.H., Galeote, A., Blasco, E., Folch, J., Fantova, E. y Alabart, J.L. . . . .	368
– EVALUACIÓN DE LA INTRODUCCIÓN DE UN DISPOSITIVO DE PROGESTERONA (CIDR) EN UN PROTOCOLO COSYNCH EN GANADO VACUNO LECHERO. Gómez-Seco, C., Alegre, B., Martínez-Pastor, F., Prieto, J.G., González-Montaña, J.R., Alonso, M.E. y Domínguez, J.C. . . . .	371
– ALTERACION EN LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS POR LA INTROGRESIÓN GENÉTICA CON PERDIZ CHUKAR ( <i>ALECTORIS RUFA X ALECTORIS CHUKAR</i> ) EN LA PERDIZ ROJA ( <i>A. RUFA</i> ). Toledano-Díaz, A., Castaño, C., Torres, O., Velázquez, R., Gil M.G., Dávila, S.G., Estesó, M.C., López-Sebastián, A., Hierro, M.J., Marchal, F. y Santiago-Moreno, J. . . . .	374
– DIFERENCIAS GEOGRAFICAS Y ESTACIONALES DE LOS FACTORES DE MANEJO Y METEOROLOGICOS QUE AFECTAN A LOS RESULTADOS DE INSEMINACION ARTIFICIAL EN CABRAS DE RAZA FLORIDA. Arrébola, F. y Abecia, J.A. . . .	377
– EFECTO DEL ESTÍMULO FÍSICO DE LA CÁNULA DE INSEMINACIÓN SOBRE LA INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN EN CONEJA. Viudes de Castro, M.P., Casares-Crespo, L., Marco-Jiménez, F. y Vicente, J.S. . . . .	380

**Reproducción: Semen I**

– EFECTO DEL DETERGENTE UTILIZADO EN LA EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA DEL ESPERMATOZOIDE DE CONEJO SOBRE EL PROTEOMA RESULTANTE. Casares-Crespo, L., Fernández-Serrano, P. y Viudes-de-Castro, M.P. . .	383
– EFECTO DE POTENCIADORES DE PERMEABILIDAD SOBRE LA CALIDAD SEMINAL DE CONEJO. Fernández-Serrano, P., Casares-Crespo, L. y Viudes-de-Castro, M.P. . . . .	386
– IDENTIFICACIÓN DE $\beta$ -NGF EN EL PLASMA SEMINAL PURIFICADO DE CONEJO Y LOCALIZACIÓN DE SU RECEPTOR DE ALTA AFINIDAD (TRKA) EN EL TRACTO REPRODUCTOR MASCULINO. Sanchez-Rodríguez, A., Masdeu, M., Arias-Alvarez, M. y Lorenzo, P.L., . . . . .	389
– EFECTO DEL 17- $\beta$ ESTRADIOL Y LA PROGESTERONA SOBRE LA CAPACITACIÓN Y LA CAPACIDAD FECUNDANTE DEL ESPERMATOZOIDE OVINO. Casao, A., Gimeno-Martos, S., Abecia, J.A., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T. y Pérez-Pé, R. . . . .	392
– INFLUENCIA DE PROGESTERONA Y ESTRADIOL EN LA ORIENTACIÓN ESPERMÁTICA OVINA. Gimeno, S., Alquezar-Baeta, C., Peinado, J., Nadal, P., Casao, A., Cebrián-Pérez, JA., Muiño-Blanco, T. y Pérez-Pé, R. . . . .	395



- OPENCASA: UN PROYECTO ABIERTO PARA EL DESARROLLO DE SOFTWARE LIBRE ORIENTADO AL ANÁLISIS DE ESPERMATOZOIDES. Alquézar-Baeta, C., Gimeno, S., Santorromán, M.J., Santolaria, P., Yániz J., Casao, A., Cebrián-Pérez, J.A., Muino-Blanco, T. y Pérez-Pé, R. . . . . 398

**Reproducción: Semen II**

- CALIDAD DEL SEMEN COLECTADO MEDIANTE ELECTROEYACULACIÓN EN CHIVOS NO TRATADOS, SEDADOS O ANESTESIADOS. Abril-Sánchez, S., Beracochea, F., Crosignani, N., Terrazas, A., Silveira, P., Damián, JP., Fernández, A. y Ungerfeld, R. 401
- ANALISIS INTEGRADO DE LA CALIDAD SEMINAL EN RUMIANTES. Yániz, J.L., Soler, C., Alquézar-Baeta, C. y Santolaria, P. . . . . 404
- EFECTOS DE LA MELATONINA SOBRE LA CAPACITACIÓN DE ESPERMATOZOIDES DE CIERVO ROJO IBÉRICO. Fernández-Alegre, E., Álvarez-Fernández, I., González-Hidalgo, S., Salman, A. y Martínez-Pastor, F. . . . . 406
- ADICIÓN DE N-ACETILCISTEÍNA AL MEDIO DE CONGELACIÓN SEMINAL DE SEMENTALES PURA SANGRE LUSITANO. Matilla, E., González-Fernández, L., Antunes, L., Bettencourt, E. y Macías-García B. . . . . 409
- INFLUENCIA RACIAL Y DEL PLASMA SEMINAL EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN DE GALLOS (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*). Castaño, C., Romo, S., Tolledano-Díaz, A., Gil, M.G, Esteso, M.C., López-Sebastián, A. y Santiago-Moreno, J. 411

## GENÉTICA

**Genética: Transcriptoma I**

- IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS Y REDES GÉNICAS IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DEL METABOLISMO LIPÍDICO EN HÍGADO Y EN LA DETERMINACIÓN DE CARACTERES DE CALIDAD DE LA CARNE EN CERDO. Ballester, M., Ramayo-Caldas, Y., Revilla, M., Corominas, J., Castelló, A., Estellé, J., Fernández, A.I. y Folch, J.M. . . . . 417
- ANÁLISIS DEL TRANSCRIPTOMA MUSCULAR DE CERDOS IBÉRICOS PROCEDENTES DE UN CRUCE DIALÉLICO COMPLETO RETINTO × TORBISCAL. Pena, R.N., Ibáñez-Escriche, N., Magallón, E, Gonzalez, E., Tejada, J.F. y Noguera, J.L. . . 420
- EFECTO DE LA SELECCIÓN POR TASA DE OVULACIÓN EN EL TRANSCRIPTOMA DE TEJIDO OVÁRICO EN CONEJO. Peiró, R., Serna, M., Serna, E.A. y Santacreu, M.A. . . . . 423
- IDENTIFICACIÓN DE GENES ASOCIADOS A LA EFICIENCIA ALIMENTARIA EN PORCINO MEDIANTE UN ENFOQUE INTEGRATIVO APLICADO AL TRANSCRIPTOMA DE HÍGADO Y DUODENO. Ramayo-Caldas, Y., Ballester, M., González-Rodríguez, O., Sánchez, J.P., Revilla, M., Soler, M.J., Torrallardona, D. y Quintanilla, R. . . 426

**Genética: Transcriptoma II**

- ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN MÚSCULO POR MEDIO DE RT-qPCR. Martínez del Pino, L., Echeverría, I., Arana, A., Alfonso, L., Mendizábal, J.A. y Soret, B. . . . . 429

- EFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO POR CALOR EN EL PERFIL TRANSCRIPTÓMICO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS EN CABRAS LECHERAS A MITAD DE LACTACIÓN. Contreras-Jodar, A., Salama, A.A.K., Hamzaoui, S., Caja, G., Vailati-Riboni, M. y Loor, J.J. . . . . . 432
- CERTIFICACIÓN DE LA LECHE CRUDA DE VACA PRODUCIDA EN BASE A PASTOS Y FORRAJES UTILIZANDO MIRNA: RESULTADOS PRELIMINARES. Abou El Qassim, L., Zhao, K., Vicente, F., Guan, L.L. y Royo, L.J. . . . . . 435
- CARACTERIZACIÓN DE FRAGMENTOS DE ARN NO CODIFICANTE LARGOS (lncRNAs) EN LAS CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE EN EL GANADO OVINO EL DÍA 50 DE LACTACIÓN. Suárez-Vega, A., Gutiérrez-Gil, B. y Arranz, J.J. . . . . . 438

**Genética:** Mejora genética monogástricos I

- MODELOS DE EVALUACIÓN GENÓMICA CON DOMINANCIA DIRECCIONAL. Varona, L., Legarra, A., Herring, W. y Vitezica, Z.G. . . . . . 441
- ANÁLISIS DE LA MORTALIDAD DE LOS LECHONES MEDIANTE UN MODELO BINOMIAL RECURSIVO EN UN CRUCE DIALELICO ENTRE ESTIRPES DEL CERDO IBÉRICO. Varona, L., Ibañez-Escriche, N., Magallón, E. y Noguera, J.L. . . . . . 444
- EFECTOS GENÉTICOS SOCIALES EN CARACTERES PRODUCTIVOS Y DE COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO EN CERDOS DUROC EN CRECIMIENTO. Herrera, W., Ragab, M. y Sánchez, J. P. . . . . . 447
- ESTIMACIÓN DE LA VARIANZA ADITIVA Y DOMINANTE EN CARACTERES DE CERDO MEDIDOS EN POBLACIÓN PURA Y CRUZADA USANDO G-GIBBS. Tusell, L., Gilbert, H., Vitezica, Z. G., Mercat, M.J., Legarra, A. y Larzul, C. . . . . . 450

**Genética:** Mejora genética monogástricos II

- EFECTO DE LA SELECCIÓN POR VARIANZA RESIDUAL DEL TAMAÑO DE CAMADA SOBRE LA SENSIBILIDAD A ENFERMEDADES Y ESTRÉS. Argente, M.J., García, M.L., Blasco, A. . . . . . 453
- CARACTERES DE METABOLISMO HEPÁTICO EN DOS LINEAS DE SELECCIÓN DIVERGENTE POR GRASA INTRAMUSCULAR EN CONEJO. Martínez-Álvaro, M., Paucar, Y., Blasco, A. y Hernández, P. . . . . . 456
- EFECTO DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA SOBRE EL PESO DE LA DESCENDENCIA EN RATONES SELECCIONADOS DIVERGENTEMENTE PARA VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL PESO AL NACIMIENTO. Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Gutiérrez, J.P. y Bodin, L. . . . . . 459

**Genética:** Pósteres de Genética

- DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA EN POBLACIONES AUTÓCTONAS DE VACUNO DE CARNE. Mouresan, E.F., González-Rodríguez, A., Cañas-Álvarez, J.J., Díaz, C., Al-tarriba, J., Baro, J.A., Piedrafita, J., Molina, A., Toro, M.A., Varona, L. . . . . . 462
- ESTUDIO MORFOMÉTRICO DE LA ABEJA MELÍFERA (*APIS MELLIFERA IBERIENSIS*) EN LA PROVINCIA DE HUESCA. Yániz, J.L., Ángel-Beamonte, E., Martín-Ramos, P., Sales, E. y Santolaria, P. . . . . . 465
- ESTUDIO PRELIMINAR DEL TRANSCRIPTOMA DE LA MUCOSA ABOMASAL DE OVEJAS CLASIFICADAS COMO RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES SEGÚN LA RESPUESTA A UNA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *TELADORSAGIA CIRCUMCINCTA*. Suárez-Vega, A., Arranz, J.J., Martínez Valladares, M., Chitneedi, P.K. y Gutiérrez-Gil, B. . . . . . 468

- EFECTO DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA SOBRE EL TRANSCRIPTOMA DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN PORCINO. Ballester, M., González, O., Amills, M., Cardoso, T.F., Pascual, M., Mármol-Sánchez, E., Tibau, J. y Quintanilla, R. . . . . 471
- EFECTO DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA SOBRE EL CRECIMIENTO EN DOS LÍNEAS DIVERGENTES PARA VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL PESO AL NACIMIENTO EN RATONES. Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Sánchez, J.P., Gutiérrez, J.P. y Bodin, L. . . . . 474
- EFECTO DE LA SELECCIÓN POR GRASA INTRAMUSCULAR EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE DE CONEJO. Martínez-Álvaro, M., Blasco, A. y Hernández, P. . . . . 477
- EFECTO DE LA SELECCIÓN DIVERGENTE POR GRASA INTRAMUSCULAR EN CARACTERES DE EFICIENCIA ALIMENTARIA. Sosa-Madrid, B.S., Martínez-Álvaro, M., Paucar, Y., Hernández, P. y Blasco, A. . . . . 480
- RESPUESTA CORRELACIONADA EN CARACTERES DE CRECIMIENTO EN UNA LÍNEA SELECCIONADA POR TASA DE OVULACIÓN Y TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO. Peiró, R., Badawy, A.Y., Blasco, A. y Santacreu, M.A. . . . . 483

**Genética: Ibérico**

- POLIMORFISMOS EN LAS REGIONES REGULADORAS DEL GEN *CAST*: EFECTOS *IN VIVO* Y *POSTMORTEM* EN CERDOS DE TIPO IBERICO. Alves, E., Benítez, R., García-Casco, J., Muñoz, M., Caraballo, C., García, F., Silió, L. y Rodríguez, C. . 486
- GENEALOGÍA, MARCADORES Y DEPRESIÓN CONSANGUÍNEA EN LA PIARA IBÉRICA DEL DEHESÓN DEL ENCINAR. Toro, M.A. y Rodríguez, J. . . . . 489
- DEPRESIÓN ENDOGÁMICA POTENCIAL PARA TAMAÑO DE CAMADA EN CERDOS IBÉRICOS DE LA ESTIRPE TORBISCAL. García-Cortés, L.A., Rodríguez, C., Gómez Raya, L., Rauw, W. y Silió, L. . . . . 492

**Genética: Nutrigenómica**

- EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE LA DIETA CON ÁCIDO OLEICO SOBRE EL METABOLISMO MUSCULAR EN *BICEPS FEMORIS* DE CERDOS IBÉRICOS EN CRECIMIENTO. Benítez, R., Isabel, B., Fernández, A., Núñez, Y., De Mercado, E., Gómez Izquierdo, E., García-Casco, J., López-Bote, C. y Óvilo, C. . . . . 495
- EFECTO DEL GENOTIPO Y EL PESO FETAL SOBRE EL TRANSCRIPTOMA MUSCULAR DEL CERDO IBÉRICO. García-Contreras, C., Vazquez-Gómez, M., Astiz, S., Rey, A., Benítez, R., Núñez, Y., Isabel, B., González-Bulnes, A y Óvilo, C. . . . . 498
- EXPRESIÓN MUSCULAR DE RNAs LARGOS NO-CODIFICANTES EN RESPUESTA A LA INGESTIÓN DE ALIMENTOS. Cardoso, T.F., Quintanilla, R., Tibau, J., Mármol-Sánchez, E., González-Rodríguez, O., González-Prendes, R., Ballester, M. y Amills, M. 501
- EFECTO DE LA INGESTIÓN DE ALIMENTO SOBRE LA EXPRESIÓN MUSCULAR DE miRNAs EN PORCINO. Mármol-Sánchez, E., Quintanilla, R., Cardoso, T.F., Tibau, J., González-Rodríguez, O., González-Prendes, R., Ballester, M. y Amills, M. . . . . 504
- VARIACIÓN DEL TAMAÑO DE LOS ADIPOCITOS SEGÚN EL NIVEL DE VITAMINA A EN LA DIETA, EL TIPO DE ALIMENTACIÓN Y LA CASTRACIÓN EN CERDOS DUROC DE DISTINTO GENOTIPO *LEPR*. Solé, E., Pena, RN., Bosch, L., Tor, M., Reixach, J. y Estany, J. . . . . 507

**Genética:** Mejora genética rumiantes y otros

- EDICIÓN GÉNICA EN LA SELECCIÓN: POSIBILIDADES Y CONSECUENCIAS. González-Recio, O., Fernández, J., Toro, M.A. y Villanueva, B. . . . . 510
- EVALUACIÓN GENÉTICA CON PATERNIDAD INCIERTA EN ACUICULTURA. De Paz, R., Villanueva, B., Herlin, M., Millán, A., Martínez, P., Toro, M. A. y Fernández, J. 513
- SESGO EN EVALUACIONES GENÉTICAS Y GENÓMICAS DE MANECH TETE ROUSSE. Legarra, A., Astruc, J.M. y Reverter, A. . . . . 516
- ESTIMACIÓN CONJUNTA DE PARÁMETROS GENÉTICOS DE PRODUCCIÓN, CONFORMACIÓN DE LA UBRE Y RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA RAZA ASSAF. Jurado, J.J. y Jiménez, MA. . . . . 519
- EVALUACIÓN DE LA IMPUTACIÓN DE GENOTIPOS DESDE UN CHIP DE BAJA DENSIDAD (3K) A MEDIA (CHIP-50K) Y ALTA (CHIP-HD) DENSIDAD EN EL GANADO OVINO. Chitneedi, P.K.A., Gutiérrez-Gil, B. y Arranz, J.J. . . . . 522
- UTILIZACIÓN DE LAS VALORACIONES LINEALES Y LOS PESOS VIVOS A LOS 120 Y 210 DÍAS PARA LA PREDICCIÓN FENOTÍPICA DEL CRECIMIENTO CANAL Y LA CONFORMACIÓN DE LOS TERNEROS EN LA RAZA LIMUSINA. López-Paredes, J., Jiménez-Montero, J.A., Pérez-Cabal, M.A., González-Recio, O. y Alenda, R. 525
- SELECCIÓN POR CRECIMIENTO EN TERNEROS DE RAZA LIMUSINA. López-Paredes, J., Jiménez-Montero J.A., Pérez-Cabal, M.A., González-Recio, O. y Alenda, R. 528
- POTENCIA ESTADÍSTICA DEL ANÁLISIS BAYESIANO DE LA DISTORSIÓN DE LA SEGREGACIÓN. Id-Lahoucine, S., Cánovas, A., Jatou, C., Sargolzaei, M. y Casellas, J. 531

**Genética:** Estudios de asociación genes y genoma completo (GWAS)

- IDENTIFICACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS QUE REGULAN LA DETERMINACIÓN DEL SEXO EN SALMÓN ATLÁNTICO. Gabián, M., Fernández, A.I., Morán, P., Villanueva, B., Chtioui, A. y Saura, M. . . . . 534
- ASOCIACIÓN DE UN POLIMORFISMO DEL GEN *FADS2* CON EL CONTENIDO Y LA COMPOSICIÓN DE LA GRASA INTRAMUSCULAR EN CERDOS DUROC. Gol, S., Pena, R.N., Tor, M. y Estany, J. . . . . 537
- ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DEL GEN *IGF2* PORCINO Y SU EFECTO SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN DIFERENTES FONDOS GENÉTICOS. Criado-Mesas, L., Revilla, M., Paludo, E., Crespo-Piazuelo, D., Castelló, A., Fernández, A.I., Ballester, M. y Folch, J.M . . . . . 540
- VALIDACIÓN DE REGIONES QTLs Y GENES CANDIDATOS EN TRES RETROCRUCES EXPERIMENTALES CON FONDO GENÉTICO IBÉRICO. Martínez Montes, A., Muñoz, M., Fernández, A., Folch, J.M. y Fernández, A.I. . . . . 543
- VALIDACIÓN DE QTLs ASOCIADOS A GRASA INTRAMUSCULAR EN LA RAZA AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA. Meneses, C, Carabaño, M.J., Quintero-Arboleda, X., Venturini, G., Rueda, J. y Díaz, C. . . . . 546
- REGIONES GENÓMICAS ASOCIADAS CON CARACTERES REPRODUCTIVOS EN CONEJO. Sosa-Madrid, B.S., Santacreu, M.A., Ibáñez-Escriche, N. y Blasco, A. . . . 549

**Genética:** Diversidad, huellas de selección y microbioma I

- DESARROLLO DE UNA HERRAMIENTA BASADA EN MATLAB PARA EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA ABEJA MELÍFERA. Ángel-Beamonte, E., Martín-Ramos, P., Santolaria, P., Sales, E., Abizanda, J. y Yániz, J.L. . . . . 552

- IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS EN REGIONES GENÓMICAS CARACTERIZADAS COMO HUELLAS DE SELECCIÓN EN EL GANADO OVINO. Esteban-Blanco, C., Gutiérrez-Gil, B., Suárez-Vega A., López-Iglesias L.J. y Arranz J.J. . . . . 555
- HUELLAS DE SELECCION EN UN EXPERIMENTO DE SELECCION DIVERGENTE PARA CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO. Sosa-Madrid, B.S., Ibañez-Escriche, N., Santacreu, M.A., Varona, L. y Blasco A. . . . . 558
- ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS REGÍMENES ALIMENTARIOS (*AD LIBITUM* FRENTE RESTRICCIÓN) SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE CONEJOS DE CARNE. Velasco, M., Piles, M., Viñas, M., Rafel, O., González, O., Guivernau, M. y Sánchez, J.P. . . . . 561

**Genética:** Diversidad, huellas de selección y microbioma II

- MICROBIOTA GASTROINTESTINAL EN EL PAVO (*MELEAGRIS GALLOPAVO*) AFECTADO POR EL VIRUS DE LA ENTERITIS HEMORRÁGICA. D'Andrea, S., Sánchez Bonastre, A., Francino, O., Cuscó Martí, A., Lecchi, C., Grilli, G., Giovanardi, D., Cecilian, F. . . . . 564
- CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA INTESTINAL A LO LARGO DEL TRACTO DIGESTIVO EN CERDOS IBÉRICOS. Crespo-Piazuelo, D., Estellé, J., Revilla, M., Criado-Mesas, L., Ramayo-Caldas, Y., Óvilo, C., Fernández, A.I., Ballester, M. y Folch, J.M. . . . . 567

## CALIDAD DE LOS PRODUCTOS

**Calidad de los productos:** Análisis sensorial

- EFECTO DEL ETIQUETADO EN LA VALORACIÓN ORGANOLÉPTICA DE CARNE DE LA RAZA DE LIDIA EN ESPAÑA. Andrés-Vázquez M.A., Guerrero, A., Çakmakçi, C., Campo, M.M. y Sañudo, C. . . . . 573
- EFECTO DE LA MADURACIÓN Y EL TIEMPO DE CONSERVACIÓN SOBRE EL OLOR SENSORIAL DE LA CARNE DE POTRO. Ruiz, M., Sarriés, M.V., M., Beriain, M.J. y Lorenzo, J.M. . . . . 576
- ACEPTABILIDAD DE HAMBURGUESAS DE CORDERO CON EXTRACTOS DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA AGROALIMENTARIA. Guerrero, A., Olleta, J.L., Campo, M.M., Alves L.G.C., Sánchez, R., Andrés, A.I. y López-Parra, M.M. . . . 579
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE RESIDUOS DE LA DESTILACIÓN DE ROMERO EN EL CRECIMIENTO, COLOR, CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y CONTENIDO EN ALFA-TOCOFEROL DE CARNE DE CORDERO. Yagoubi, Y. Hajji, H., Smeti, S., Ripoll, G., Joy, M., Mahouachi, M. y Atti, N. . . . . 582

**Calidad de los productos:** Canal y carne ovina

- INCLUSIÓN DE GUISANTE EN LA DIETA DE CEBO SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL DE CORDEROS DE RAZAS OJINEGRA DE TERUEL Y RASA ARAGONESA. Oliver, R., Ripoll, G., Casasús, I., Joy, M. y Blanco M. . . . . 585
- MOLTURA DE AJO EN LA PRODUCTIVIDAD, PARÁMETROS SANGUÍNEOS Y CALIDAD DE LA CANAL DE CORDEROS LIGEROS TIPO TERNASCO. Resconi, V.C., Sañudo, C., Kirinus, J., Passetti, R., Campo, M.M., María, G.A. y Abecia, J.A. . . . . 588
- EFECTO DEL SISTEMA DE ALIMENTACION DE LA OVEJA DURANTE LA LACTACIÓN SOBRE LOS CONTENIDOS DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES EN LOS TEJI-

DOS DEL CORDERO CATEGORÍA TERNASCO. Rufino-Moya P.J., Lobón, S., Blanco, M., Bertolín, J.R. y Joy, M. . . . .	591
– EFECTO DEL TIPO DE ALIMENTACIÓN EN OVEJAS EN LACTACIÓN SOBRE LAS VITAMINAS LIPOSOLUBLES EN LOS TEJIDOS DEL CORDERO LECHAL. Rufino-Moya, P.J., Lobón, S., Blanco, M., Bertolín, J.R. y Joy, M. . . . .	594
– EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN MATERNA EN EL PERFIL DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DE CORDEROS LIGEROS. Lobón, S., Blanco, M., Sanz, A., Ripoll, G., Bertolín, J.R. y Joy, M. . . . .	597
– INFLUENCIA DEL CRUCE INDUSTRIAL EN LA CALIDAD DE LA CANAL Y DE LA CARNE DE CORDEROS DE LA RAZA SEGUREÑA. Blasco, M., Sañudo, C, Balado, J. y Campo, M.M. . . . .	600
– EFECTO DE LA APLICACIÓN DE UN EXTRACTO DE SEMILLAS DE BORRAJA EN EL COLOR Y LA OXIDACIÓN DE CARNE DE CORDERO FRESCA Y DESCONGELADA ENVASADA EN MAP. Bellés, M., Alonso, V., Roncalés, P. y Beltrán, J.A. . . . .	603
– MOLTURA DE AJO EN LA CALIDAD DE CARNE DE CORDEROS LIGEROS TIPO TERNASCO. Resconi, V.C., Sañudo, C., Campo, M.M., Barahona, M., Olleta, J.L., Magalhaes, D. y Abecia, J.A. . . . .	606
– PARÁMETROS DE CALIDAD CRÍTICOS PARA LA COMERCIALIZACIÓN DE CARNE DE CORDERO DESCONGELADA. Bellés, M., Alonso, V., Roncalés, P. y Beltrán, J.A. . . . .	609

**Calidad de los productos:** Pósteres de calidad de los productos

– CARACTERIZACIÓN DE PIEZAS CÁRNICAS COMERCIALES DE LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN PROTEGIDA (DOP) “CARNE BARROSA”. Cerqueira, J.O.L., Vieira, C.J.P., Leite, J.V., Blanco-Penedo, I., Cantalapiedra J. y Araújo, J.P. . . . .	612
– EFECTO DEL PESO CANAL Y EL TIEMPO DE OREO EN LA CANAL Y CARNE DE RAZA OJINEGRA DE TERUEL. Ripoll, G., Blanco, M., Panea, B. y Joy, M. . . . .	615
– ACTITUDES DEL MERCADO ESPAÑOL Y BRASILEÑO EN LA DECISIÓN DE COMPRA Y CONSUMO DE CARNE DE VACUNO. Magalhaes, D.R., Campo, M.M. y Maza, M.T. . . . .	618
– PERCEPCIÓN DE LOS ATRIBUTOS DE CALIDAD EXTRÍNSECA DE LA CARNE DE CORDERO DE RAZA OJINEGRA DE TERUEL. Ripoll, G., Panea, B. y Joy, M. . . . .	621
– INFLUENCIA DE LA ADICIÓN EN LA DIETA DE LOS CERDOS DE EXTRACTOS DERIVADOS DE PLANTAS Y DE LA REDUCCIÓN DEL CONTENIDO EN SAL DE LOS CHORIZOS SOBRE LA VIDA ÚTIL Y LA PREVALENCIA DE SALMONELLA. Panea, B., Albertí, P. y Ripoll, G. . . . .	624
– PERCEPCIÓN DE LOS ATRIBUTOS DE CALIDAD INTRÍNSECA DE LA CARNE DE CORDERO DE RAZA OJINEGRA DE TERUEL. Ripoll, G., Panea, B. y Joy, M. . . . .	627
– ENSILADO DE ALFALFA EN LA ALIMENTACIÓN ECOLÓGICA DE POLLOS: CALIDAD DE LA CARNE. Carrasco, S., Wüstholtz, J., Hahn, G. y Bellof, G. . . . .	630
– INFLUENCIA DEL CONSUMIDOR EN LA VIDA ÚTIL DE LA PECHUGA DE POLLO. Ripoll, G., Albertí, P. y Panea, B. . . . .	633

**Calidad de los productos:** Canal y carne porcina

– FACTORES DE VARIACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE CANALES DE PORCINO ECOLÓGICO Y CONVENCIONAL. Argemí, I., García-Romero, C., Villalba, D. y Álvarez-Rodríguez, J. . . . .	636
--	-----

- EFECTO DEL SEXO SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL, DE LA CARNE Y DE LA GRASA DE CERDOS PESADOS. Daza, A., Latorre, M.A., Olivares, A., Callejo, A., Rey, A.I. y López Bote, C.J. . . . . . 639
- EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON EXCEDENTES DE HIGOS (*FIGUS CARICAL.*) EN FASE DE CEBO SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL Y LA CARNE DE CERDOS IBÉRICOS. Tejerina, D., Cabeza de Vaca, M., Romero-Fernández, M.P., Pérez-Gragera, F., Pérez-Rodríguez, M.A. y García-Torres, S. . . . . . 642
- EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON LINAZA Y DEL GEN DEL HALOTANO SOBRE LA DUREZA Y LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL LOMO DE CERDO BLANCO CRUDO Y COCINADO. García-Hernández, E., Tor, M., Villalba, D. y Álvarez-Rodríguez, J. . . . . . 645
- RESTRICCIÓN PROTEICA EN LA FASE DE CRECIMIENTO DE CERDOS IBÉRICOS CRUZADOS Y SU INFLUENCIA EN CARACTERES DE CALIDAD DE LA CARNE. López-García, A., Fernández-Barroso, M.A., García-Casco, J.M., Caraballo, C., Muñoz, M. y González, E. . . . . . 648
- UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS AGRÍCOLAS EN LA DIETA DE CERDOS IBÉRICOS CRUZADOS Y SU INFLUENCIA EN CARACTERES DE CALIDAD DE LA CARNE. López-García, A., Fernández-Barroso, M.A., García-Casco, J.M., Caraballo, C., Muñoz, M. y González, E. . . . . . 651
- PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA CARNE EN CERDOS IBÉRICOS MACHOS Y HEMBRAS INMUNOCASTRADOS, ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA. Nieto, R., Palma-Granados, P., Lara, L., Fernández-Fígares, I., Haro, A., Lachica, M. y Seiquer, I. . . . . . 654
- *STRESS-RELAXATION TEST* COMO MÉTODO PARA MEDIR TEXTURA EN LOMO CURADO. Fernández-Barroso, M.A., López-García, A., Caraballo, C., García-Casco, J. y Muñoz, M. . . . . . 657
- USO DE DIFERENTES TECNOLOGÍAS DE CONGELACIÓN PARA LA CONSERVACIÓN DE CARNE FRESCA DE LOMO DE CERDO IBÉRICO. García-Torres, S., Pérez-Blázquez, M., Martín-Tornero, E., López-Gajardo, A., Cabeza de Vaca, M., Viguera, J., Martín, D., Serrano, J., Romero-Fernández, M.P., Osorio, C., Prior, E. y Tejerina, D. . . . . . 660

**Calidad de los productos: Lácteos I**

- CALIDAD DE LA LECHE DE VACA EN UNA MUESTRA DE EXPLOTACIONES ECOLÓGICAS Y CONVENCIONALES DE GALICIA: I.- COMPOSICIÓN FISCOQUÍMICA. Botana, A., González, L., Dagnac, T., Resch, C., Pereira-Crespo, S., Fernández-Lorenzo, B., Lorenzana, R., Veiga M., Lema, I. y Flores-Calvete, G. . . . . . 663
- CALIDAD DE LA LECHE DE VACA EN UNA MUESTRA DE EXPLOTACIONES ECOLÓGICAS Y CONVENCIONALES DE GALICIA: II.- PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS. Botana, A., González, L., Dagnac, T., Resch, C., Pereira-Crespo, S., Fernández-Lorenzo, B., Lorenzana, R., Veiga M., Lema, I. y Flores-Calvete, G. . . . . . 666
- RELACIÓN ENTRE MANEJO DE LA BASE TERRITORIAL, MODELOS DE DIETA Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE. Villar, A., Doltra, J., Moros, R., Salcedo, G., Vázquez, I. y Busqué J. . . . . . 669
- PASTOREO DE VACAS LECHERAS EN PRADERAS DE TRÉBOL ENCARNADO VS TREBOL ASOCIADO A HIERBA: EFECTOS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE. Salcedo, G., Villar, A. y Caloto, F. . . . . . 672

- PASTOREO DE VACAS LECHERAS EN PRADERAS DE TRÉBOL ENCARNADO VS TREBOL ASOCIADO A HIERBA: EFECTOS SOBRE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE. Salcedo, G., Villar, A y Caloto, F. . . . . 675

**Calidad de los productos:** Canal bovina y equina

- CARACTERIZACIÓN DE LAS VACAS DE DESVIEJE DE RAZA FRISONA SACRIFICADAS EN CANTABRIA. Serrano, E., Moros R. y Busqué, J. . . . . 678
- EFECTO DE LA EDAD DE SACRIFICIO DE MACHOS DE RAZA CACHENA SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL. García-Fontán, M.C., Moreno, T., Llena, J., Lorenzo, J.M. y García, G. . . . . 681
- CARACTERIZACIÓN DE CANALES DE TERNEROS FRISONES Y PIRENAICOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS DE IMAGEN. Mendizabal, J.A., Albertí, P., Martínez del Pino, L., Urrutia, O., Gómez, I., Arana, A., Beriain, M.J. y Purroy, A. . . . 684
- CELULARIDAD DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DE TERNEROS FRISONES Y PIRENAICOS. Urrutia, O., Martínez del Pino, L., Landa, N., Alfonso, L., Arana, A., Soret, B., Mendizabal, J.A. y Purroy, A. . . . . 687
- CARACTERIZACIÓN DE CANALES DE POTRO DE RAZA BURGUETE MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN. Tabar, F., Mendizabal, J.A., Sarriés, M.V., Insausti, K. y Purroy, A. 690
- EVALUACIÓN DE CANALES DE LA RAZA VACUNA MINHOTA. Serpa, R.M.P., Cerqueira, J.O.L., Cantalapiedra, J., Lorenzo, J.M. y Araújo, J.P., . . . . . 693

**Calidad de los productos:** Carne bovina y equina

- EFECTO DE LA EDAD DE SACRIFICIO EN LA CANAL Y EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE DE MACHOS CASTRADOS DE RAZA FRISONA. Crecente, S., Calvo, C., Díaz, N. y Díaz, D . . . . . 696
- CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA DE HAMBURGUESAS DE VACAS DE DESVIEJE POR EFECTO DE SU CONDICIÓN CORPORAL Y DIETA DE ACABADO. García-Fontán, M.C., Moreno, T., García, G. y Botana, A. . . . . 699
- CARACTERIZACIÓN DE LA CARNE DE POTRO DE RAZA BURGUETE MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN. Sarriés M.V., Espelosin, A., Mendizabal, J.A., Beriain, M.J., Ruiz, M. y Purroy, A. . . . . 702
- ESTUDIO DE LA MADURACIÓN *POST MORTEM* DE LA CARNE DE VACUNO MEDIANTE EL ANÁLISIS PROTEÓMICO DE LA FRACCIÓN MIOFIBRILAR. Beldarrain, L.R., Aldai, N., Navarro, J.L. y Sentandreu, M.A. . . . . 705
- CALIDAD NUTRICIONAL DE LA CARNE DE TERNERA SUPREMA POR EFECTO DE LOS DIFERENTES NIVELES DE INCLUSIÓN DEL BAGAZO DE UVA TINTA COMO SUPLEMENTO EN SU DIETA. Moreno, T., Garcia-Fontán, M.C., Alonso-Abraldes, R., Domínguez, R. y Crecente, S. . . . . 708

**Calidad de los productos:** Lácteos II

- SUSTITUCIÓN PARCIAL O TOTAL DE ENSILADO DE MAIZ POR ENSILADO DE GIRASOL EN VACAS LECHERAS. Salcedo, G., Villar, A., Caloto, F. y Pérez, R. . . . . 711
- PROTEÓLISIS DEL QUESO DE TERUEL: INFLUENCIA DEL CONTENIDO EN SAL. Estrada, O., Ariño, A. y Juan, T. . . . . 714
- CALIDAD DE LA LECHE DE OVEJAS MANCHEGAS VS CONJUNTO DE OVINOS EN CASTILLA LA MANCHA. Salcedo, G., Romero, J. y Vázquez, I. . . . . 717



- EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LECHE DE OVEJAS DE LA RAZA MANCHEGA: APLICACIÓN DE SERIES TEMPORALES. Vázquez, I., Romero, J. y Salcedo, G. . . 720

**Calidad de los productos: Consumidores**

- INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS DERIVADOS DE PLANTAS EN EL PIENSO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO: PERCEPCIÓN DEL CONSUMIDOR. Panea, B., Albertí, P. y Ripoll, G. . . . . 723
- ACTITUDES DE LOS CONSUMIDORES HACIA LA CARNE DE OVINO CON DISTINTIVO DE CALIDAD. Blasco, M., Maza, M.T. y Campo, M.M. . . . . 726
- ACTITUDES DE COMPRA Y CONSUMO DE CARNE DE CORDERO. ESTUDIO COMPARATIVO DE CONSUMIDORES EN ZARAGOZA Y CASTELLÓN. Blasco, M., Sañudo, C., Balado, J. y Campo, M.M. . . . . 729
- PERCEPCIÓN DE LOS CONSUMIDORES DE LOS NUEVOS CORTES DE TERNASCO: UN ESTUDIO CUALITATIVO. Uldemolins, P., Aldama, S. y Maza, M.T. . . . 732

**SANIDAD Y BIENESTAR ANIMAL**

**Sanidad y bienestar: Sanidad I**

- EFECTO DE LA SUBNUTRICIÓN PERI-IMPLANTACIONAL SOBRE LAS SERIES BLANCA Y PLAQUETARIA DE VACAS Y TERNEROS DE DOS RAZAS BOVINAS. Noya, A., Serrano-Pérez, B., Villalba, D., Casasús, I., Molina, E., López-Helguera, I., Ferrer, J. y Sanz, A. . . . . 737
- USO DE ACEITES ESENCIALES COMO REFUERZO DE LA INMUNIDAD NATURAL EN TERNEROS DE CRIA. De la Fuente, G., Tutusaus, J., Xatruch, A., Mora, J., García, C.J., Seradj, R. y Villalba, D. . . . . 740
- POSIBILIDADES DE CONTROL BIOLÓGICO DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN GALLINAS PONEDORAS: ASCÁRIDOS. Palomero, A.M., Hernández, J.A., Silva, M.I., Cazapal, C., Bonilla, R., Sánchez-Andrade, R. y Arias Vázquez, M.S. . . . 743
- PREVENCIÓN DE ESTRONGILIDOSIS EN CABALLOS EN PASTOREO MEDIANTE CONTROL BIOLÓGICO. Silva, M.I., Arroyo, L.F., Hernández, J.A., Palomero, A.M., Sanchís, J.M., Pedreira, J., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R. y Arias, M.S. . . . . 746

**Sanidad y bienestar: Sanidad II**

- LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROGESTERONA NO SE VE ALTERADA EN NOVILLAS GESTANTES QUE NO ABORTARON TRAS INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *NEOSPORA CANINUM*. Mur-Navales, R., Serrano-Pérez, B., Almería, S., Alabart, J.L., López-Gatius, F. y García-Ispierto, I. . . . . 749
- CARACTERIZACIÓN DE LAS CITOQUINAS INVOLUCRADAS EN LA LUTEOLISIS DEL CUERPO LUTEO DE VACAS ABORTADAS POR LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *NEOSPORA CANINUM*. Serrano-Pérez, B., Almería, S., Mur, R., Alabart, J.L., López-Helguera, I., García-Ispierto, I. y López-Gatius, F. . . . . 752
- REACCIONES LOCALES GRANULOMATOSAS PERSISTENTES OCASIONADAS POR ADYUVANTES ALUMÍNICOS EN OVINO. Asín, J., Molín, J., Lacasta, D., Gimeno, M., Pinczowski, P., Pérez, M., Crespo, H., Muniesa, A., Fernández, A., de Blas, I., de Pablo, L., Navascués, N., de Andrés, D., Reina, R. y Luján, L. . . . . 755

- TEST DE CALIFORNIA PARA MASTITIS Y MICROBIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA EN EXPLOTACIONES DE VACAS LECHERAS. Cerqueira, J.O.L., Cruz, A.F.S., Correia, J.F.V.B., Blanco-Penedo, I., Cantalapiedra J. y Araújo, J.P. . . . . . 758
- PCR DÚPLEX A TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE LA VARIANTE CLÁSICA (RHDV) Y NUEVA (RHDV2) DE LA ENFERMEDAD HEMORRÁGICA DEL CONEJO. Sarto, P., Mendoza, M., Calvo, A.J., Monroy, F., Jiménez de Bagüés, M.P., Calvete, C. y Calvo, J.H. . . . . . 761
- EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE SRLV EN EL MEDITERRÁNEO. de Pablo-Maiso, L., Gómez-Arrebola, C., Bertolotti, L., Rosati, S., Farriols, R., de Andrés, D. y Reina, R. . . . . . 764
- EVALUACIÓN DE LAS NEUROTROFINAS EN LOS MODELOS NATURAL Y EXPERIMENTAL DE SCRAPIE. Barrio, T., Otero, A., Garcés, M., García, M., Garza, M.C., Guijarro, I.M., López-Pérez, O., Manzano, M.D. y Raksa, H. . . . . . 767

**Sanidad y bienestar: Bienestar**

- LA CASCARILLA DE ARROZ COMO ESTRATEGIA ALIMENTARIA EN EL CERDO IBÉRICO DURANTE LA PREMONTANERA: ESTUDIO COMPORTAMENTAL Y VALORACIÓN DEL BIENESTAR ANIMAL. García-Gudiño, J., Blanco-Penedo, I., Perea-Muñoz, J., Hernández-García, F.I., Matías, J. y Izquierdo, M. . . . . . 770
- EFECTOS DEL ESTRÉS PRENATAL POR CALOR EN LA REACCIÓN EMOCIONAL Y CONDUCTUAL DE CABRITAS DURANTE LA CRIA. Coloma, W., Mehaba, N., Such, X., Salama, A.A.K. y Caja, G. . . . . . 773
- EL PERFIL METABOLÓMICO DE SANGRE EN CABRAS LECHERAS ESTRESADAS POR FRIO. Mehaba, N., Coloma García, W., Salama, A.A.K. y Caja, G. . . . . . 776
- PREDICCIÓN DE ENFERMEDADES PERIPARTO MEDIANTE EL COMPORTAMIENTO DE LAS VACAS EN EL PREPARTO. Belaid, M.A., Rodríguez-Prado, M. y Calsamiglia, S. . . . . . 779

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Abad, J.C. ....	213	Andrés, S. ....	309
Abad-Guamán, R. ....	195, 198, 201	Andrés-Vázquez, M.A. ....	573
Abecia, J.A. ....	377, 588	Ángel-Beamonte, E. ....	465, 552
Abecia, L. ....	171, 270, 350, 353, 392, 606	Ángeles, M.A. ....	282
Abizanda, J. ....	552	Antunes, L. ....	409
Abou El Qassim, L. ....	435	Añover, I. ....	315
Abril-Sánchez, S. ....	401	Arana, A. ....	429, 684, 687
Adame Siles, J.A. ....	30	Araújo, J.P. ....	51, 117, 612, 693, 758
Aguilera, J.F. ....	105, 288	Argemí, I. ....	636
Alabart, J.L. ....	365, 368, 749, 752	Argente, M.J. ....	453
Albanell, E. ....	21, 126, 216, 219	Arias, M.S. ....	746
Albarrán-Portillo, B. ....	3	Arias-Álvarez, M. ....	192, 389
Albertí, P. ....	624, 633, 684, 723	Arias Vázquez, M.S. ....	743
Albors, O. ....	344	Ariño, A. ....	714
Aldai, N. ....	705	Ariu, F. ....	329
Aldama, S. ....	732	Armenteros, J.A. ....	54
Alegre, B. ....	371	Arranz, J.J. ....	9, 438, 468, 522, 555
Alenda, R. ....	525, 528	Arrébola, F. ....	377
Alfonso, L. ....	429, 687	Arriaga-Jordán, C.M. ....	3
Algarra, B. ....	338	Arroyo, L.F. ....	746
Aljumaah, R. ....	186	Asín, J. ....	755
Almería, S. ....	749, 752	Astiz, S. ....	39, 291, 498
Alonso, M. ....	309	Astruc, J.M. ....	516
Alonso, M.E. ....	54, 371	Atti, N. ....	582
Alonso-Abraldes, R. ....	708	Atxaerandio, R. ....	210, 246
Alonso, V. ....	603, 609	Avilés, M. ....	341
Alós, N. ....	60	Ayadi, M. ....	186
Alquézar-Baeta, C. ....	395, 398, 404	Ayala, L. ....	36
Alshaikh, M. ....	186	Ayuso, M. ....	291
Altarriba, J. ....	462	Babot, D. ....	48, 57
Alva, M. ....	120	Bach, A. ....	183, 312
Álvarez, A. ....	54	Badawy, A.Y. ....	483
Álvarez, L. ....	204	Baizán, S. ....	123, 144
Álvarez-Fernández, I. ....	406	Balado, J. ....	600, 729
Álvarez-Rodríguez, J. ....	99, 636, 645	Balcells, J. ....	234, 252, 321, 324
Alves, E. ....	486	Ballester, M. ....	417, 426, 471, 501, 504, 540, 567
Alves, L.G.C. ....	579	Barahona, M. ....	606
Amanzougarene, Z. ....	168, 258, 306	Barhoumi, N. ....	144
Amills, M. ....	471, 501, 504		
Andrés, A.I. ....	579		

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Baro, J.A. ....	462
Barrio, T. ....	767
Barroeta, A.C. ....	207
Basanta, A. ....	87
Belaid, M.A. ....	779
Belanche, A. ....	225, 261, 264
Beldarrain, L.R. ....	705
Belenguer, A. ....	135, 222
Bellés, M. ....	603, 609
Bellof, G. ....	630
Beltrán, J.A. ....	603, 609
Benítez, R. ....	486, 495, 498
Beracochea, F. ....	401
Beriain, M.J. ....	576, 684, 702
Bermejo-Álvarez, P. ....	332
Bernués, A. ....	18
Bertolín, J.R. ....	591, 594, 597
Bertolotti, L. ....	764
Bettencourt, E. ....	409
Blanco, M. ....	156, 303, 306, 585, 591, 594, 597, 615
Blanco-Penedo, I. ....	117, 612, 758, 770
Blasco, A. ....	453, 456, 477, 480, 483, 549, 558
Blasco, E. ....	368
Blasco, M. ....	600, 726, 729
Blasco, M.E. ....	365
Bodin, L. ....	459, 474
Bogliolo, L. ....	329
Boix, O. ....	273, 276
Bonet, J. ....	108
Bonilla, R. ....	743
Borda, E. ....	231
Borda-Molina, D. ....	210
Bosch, L. ....	507
Botana, A. ....	663, 666, 699
Brown, M.T. ....	18
Brun, A. ....	111, 114
Busqué, J. ....	669, 678
Bustamante, J. ....	36

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Cabeza de Vaca, M. ....	642, 660
Cabrera, S. ....	186
Caja, G. ....	21, 33, 126, 129, 132, 174, 180, 186, 216, 219, 228, 432, 773, 776
Çakmakçı, C. ....	573
Calhoa, I. ....	51
Calle, G. ....	36
Callejero, C. ....	42
Callejo, A. ....	27, 240, 639
Caloto, F. ....	672, 675, 711
Calsamiglia, S. ....	24, 66, 231, 779
Calvet, S. ....	108
Calvete, C. ....	761
Calvo, A.J. ....	761
Calvo, C. ....	696
Calvo, J.H. ....	365, 368, 761
Camarinha-Silva, A. ....	210, 246
Campo, M.M. ....	573, 579, 588, 600, 606, 618, 726, 729
Canha, A. ....	338, 344
Cánovas, A. ....	531
Cantalapiedra, J. ....	117, 612, 693, 758
Cañas-Álvarez, J.J. ....	462
Capellini-Acosta, M. ....	69
Cappelli, J. ....	189
Caraballo, C. ....	486, 648, 651, 657
Carabaño, M.J. ....	546
Carabaño, R. ....	195, 198, 201
Cardoso, T.F. ....	471, 501, 504
Carrasco, C. ....	87
Carrasco, S. ....	630
Carreño, D. ....	177, 222
Carro, M.D. ....	150, 153, 162, 165, 198, 201, 255, 267, 315
Casao, A. ....	392, 395, 398
Casares-Crespo, L. ....	380, 383, 386

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Casasús, I. ....	156, 159, 303, 306, 585, 737	De Blas, I. ....	755
Casellas, J. ....	531	De Evan, T. ....	162
Castañó, C. ....	374, 411	De Gasperin, I. ....	359
Castelló, A. ....	417, 540	De Gasperín, L. ....	237
Castillejos, L. ....	66, 90, 96, 147, 207	De Gasperín, L.I. ....	282
Castro-Costa, A. ....	132	De la Cruz, J. ....	344
Català, M.G. ....	335	De la Fuente, G. ....	234, 252, 324, 740
Cazapal, C. ....	743	De la Fuente, J. ....	315
Cebrián-Pérez, J.A. ....	392, 395, 398	De Mercado, E. ....	495
Cecilianí, F. ....	564	De Pablo, L. ....	755
Cerisuelo, A. ....	108, 162	De Pablo-Maiso, L. ....	764
Cerqueira, J.O.L. ....	51, 117, 612, 693, 758	De Paz, R. ....	513
Cervantes, I. ....	459, 474	De Vega, A. ....	303, 306
Cheknam, L. ....	72	Delgadillo, J.A. ....	350, 356
Chemineau, P. ....	350	Delgado, R. ....	195, 198, 201
Chitneedi, P.K.A. ....	468, 522	Devant, M. ....	183, 312, 318
Chtioui, A. ....	534	Dhumez, O. ....	132
Cirujeda, A. ....	159	Díaz, A. ....	267
Coloma, W. ....	773	Díaz, C. ....	462, 546
Coloma-García, W. ....	174, 776	Díaz, D. ....	696
Coma, J. ....	108	Díaz, N. ....	696
Contreras-Jodar, A. ....	204, 219, 432	Díaz-Medina, E. ....	186
Corominas, J. ....	417	Doblas, A. ....	171, 270
Correia, J.F.V.B. ....	758	Doltra, J. ....	669
Cortes-Lacruz, X. ....	324	Dolz, N. ....	48, 57
Costa, S. ....	234, 324	Domínguez, J.C. ....	371
Crecente, S. ....	696, 708	Domínguez, R. ....	708
Crespo, H. ....	755	Durán, E. ....	126
Crespo-Piazuelo, D. ....	540, 567	Echeverría, I. ....	429
Criado-Mesas, L. ....	540, 567	Eldesouky, A. ....	15, 75, 78
Crosignani, N. ....	401	Elghannam, A. ....	15, 75, 78
Cruz, A.F.S. ....	758	Elhadi, A. ....	21, 126, 129, 180
Cuscó Martí, A. ....	564	Escribano, M. ....	15, 75, 78
D'Andreano, S. ....	564	Espelosin, A. ....	702
Dagnac, T. ....	663, 666	Espinosa, M. ....	237
Damián, J.P. ....	401	Espinoza, O. ....	24
Dávila, S.G. ....	364	Estany, J. ....	507, 537
Daza, A. ....	27, 240, 639	Esteban-Blanco, C. ....	555
De Andrés, D. ....	755, 764	Estellé, J. ....	417, 567
De Blas, C. ....	108, 150, 162, 165	Esteso, M.C. ....	374, 411
		Esteve, E. ....	111, 114
		Estrada, A.T. ....	120, 359

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Estrada, O.....	714
Eymard, A. ....	132
Fabà, L.I. ....	279
Fantova, E.....	365, 368
Faria, F.C. ....	117
Farias, C. ....	165
Farriols, R. ....	764
Feito, I. ....	144
Fernández, A.....	401, 495, 543, 755
Fernández, A.I.....	417, 534, 540, 543, 567
Fernández, B. ....	318
Fernández, J. ....	510, 513
Fernández, M. ....	135, 138
Fernández, R. ....	150
Fernández-Alegre, E....	54, 406
Fernández-Barroso, M.A.	648, 651, 657
Fernández-Fígares, I. ...	102, 294, 297, 300, 654
Fernández-Lorenzo, B.	663, 666
Fernández-Moya, E. ....	291
Fernández-Serrano, P.	383, 386
Ferreira, A.C.M.....	117
Ferrer, J.....	303, 737
Ferrer, P.....	108, 162
Ferret, A. ....	147
Flores-Calvete, G. ....	663, 666
Folch, J. ....	365, 368, 540, 543
Folch, J.M. ....	417, 567
Fondevila, M. ....	168, 258, 303, 306
Font-i-Furnols, M.....	111, 114
Formoso-Rafferty, N....	192, 459, 474
Fornós Inglès, M. ....	273
Francesch, M. ....	204
Francino, O. ....	564
Frutos, J. ....	309
Frutos, P.....	129, 135, 138, 141, 177, 222
Gabián, M. ....	534
Galeote, A. ....	365, 368

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Gallego, L.....	189
Gambín, P. ....	189
Garcés, M. ....	767
García, A. ....	189
García, C.J.....	740
García, F. ....	486
García, G. ....	681, 699
García, J. ....	195, 198, 201
García, M. ....	767
García, M.L. ....	453
García, S.P.....	120
García-Casco, J. ....	486, 495, 657
García-Casco, J.M. ....	648, 651
García-Contreras, C....	291, 498
García-Cortés, L.A. ....	492
García-Fontán, M.C. ....	681, 699, 708
García-García, R.M.....	192
García-Gudiño, J.....	770
García-Hernández, E. ...	645
García-Ispierto, I. ....	749, 752
García-Martínez, A.....	3
García-Rebollar, P. ....	108, 162, 165
García-Rodríguez, A. ...	210, 246
García-Rodríguez, J....	255, 267
García-Romero, C.....	636
García-Torres, S.....	642, 660
García-Vázquez, F.A. ...	341
Garrido Varo, A.....	30
Garza, M.C.....	767
Gasa, J.....	273, 276, 279
Gaspar, P.....	15, 75, 78
Gelinne, A. ....	279
Giger-Reverdin, S. ....	132
Gil, M.G.....	374, 411
Gilbert, H. ....	450
Gimeno, M. ....	755
Gimeno, S. ....	395, 398
Gimeno-Martos, S.....	392
Giovanardi, D. ....	564
Giráldez, F.J. ....	309
Gispert, M. ....	111, 114
Gol, S. ....	537
Gómez, I. ....	42, 684

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Gómez-Arrebola, C. ....	764
Gómez Cabrera, A. ....	30
Gómez Izquierdo, E. ....	495
Gómez Raya, L. ....	492
Gómez-Seco, C. ....	54, 371
Gonçalves, S. ....	51
Góngora, R. ....	6
Gonzalez, E. ....	420, 648, 651
González, J. ....	150, 315
González, L. ....	663, 666
González, O. ....	471, 561
Gonzáles-Bulnes, A. ....	39, 192, 291, 498
González-Fernández, L. ....	409
González-Hidalgo, S. ....	406
Gonzalez-Martin, J.V. ....	39
González-Montaña, J.R. ....	371
González-Ortiz, G. ....	93
González-Prendes, R. ....	501, 504
González-Recio, O. ....	510, 525, 528
González-Rodríguez, A. ....	462, 501, 504
González-Rodríguez, O. ....	426
González-Valero, L. ....	102, 294, 297, 300
Gonzalo, C. ....	36
Grau, J. ....	318
Grilli, G. ....	564
Guan, L.L. ....	435
Guerra, C. ....	213
Guerrero, A. ....	573, 579
Guerrero, M. ....	225
Guerrero Ginel, J.E. ....	30
Guijarro, I.M. ....	767
Guillén-Martínez, A. ....	341
Guivernau, M. ....	561
Gutiérrez, J.P. ....	459, 474
Gutiérrez-Gil, B. ....	438, 468, 522, 555
Hahn, G. ....	630
Hajji, H. ....	582
Hamzaoui, S. ....	432
Hamze, J.G. ....	338
Haro, A. ....	105, 654
Haro, A.N. ....	315

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Herlin, M. ....	513
Hernández, E. ....	315
Hernández, F. ....	39
Hernández, H. ....	356
Hernández, J.A. ....	120, 359, 743, 746
Hernández, P. ....	456, 477, 480
Hernández-García, F.I. ....	770
Herrera, W. ....	447
Herring, W. ....	441
Hervás, G. ....	129, 135, 138, 141, 177, 222
Hidalgo-Checa, N. ....	105
Hierro, M.J. ....	374
Ibáñez-Escriche, N. ....	420, 444, 549, 558
Iborra, M. ....	48
Id-Lahoucine, S. ....	531
Imaz, M.J. ....	9
Insausti, K. ....	690
Isabel, B. ....	120, 282, 291, 359, 495, 498
Isla, E. ....	321
Izquierdo, D. ....	335
Izquierdo, M. ....	770
Izquierdo-Rico, M.J. ....	341
Jácome, S. ....	237
Jaton, C. ....	531
Jiménez, E. ....	171, 261, 264, 270
Jiménez, I. ....	261, 264
Jiménez, M.A. ....	519
Jiménez de Bagüés, M.P. ....	761
Jiménez-Hernando, M.A. ....	368
Jiménez-Hernando, M.J. ....	365
Jiménez-Montero, J.A. ....	525, 528
Jiménez-Movilla, M. ....	338
Joy, M. ....	156, 159, 582, 585, 591, 594, 597, 615, 621, 627
Juan, T. ....	714
Juárez, F.I. ....	120

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Juarez, J.D.....	347	López-Paredes, J.....	525, 528
Jurado, J.J. ....	365, 368, 519	López-Parra, M.M. ....	579
Keller, M. ....	350, 356	López-Pérez, O.....	767
Kirinus, J. ....	588	López-Sebastián, A.....	374, 411
Lacasta, D.....	755	López-Suárez, M.....	66
Lachica, M.....	102, 294, 297, 300, 654	López-Úbeda, R.....	341
Lahoz, B.....	365, 368	López-Vergé, S. ....	276
Lamas-Toranzo, I. ....	332	Lorenzana, R. ....	663, 666
Landa, N. ....	687	Lorenzo, J.M. ....	681, 693
Landete-Castillejos, T... 189		Lorenzo, P.L. ....	192, 389
Lara, L. ....	105, 288, 300, 654	Loste, J.M. ....	66, 576
Larzul, C.....	450	Love, S.....	216
Latorre, M.A. ....	99, 639	Lucini, L.....	309
Latorre, R. ....	344	Luján, L. ....	755
Laviña, A. ....	362	Macías-García, B. ....	409
Lecchi, C. ....	564	Macías, A. ....	362
Legarra, A. ....	441, 450, 516	Magalhaes, D.R. ....	606, 618
Leite, J.V. ....	612	Magallón, E. ....	420, 444
Lema, I. ....	663, 666	Mahouachi, M. ....	582
Leskinen, H. ....	222	Mallo, J.J. ....	90
Lizardo, R.....	111, 114	Mandaluniz, N. ....	9
Llanes, N.....	321	Manzano, M.D.....	767
Llena, J. ....	681	Marchal, F. ....	374
Lobón, S.....	156, 591, 594, 597	Marco-Jiménez, F.....	347, 380
Loeza, L.R.....	282	Marcos, C.N. ....	150, 165
Loeza, R.....	120, 237	Marí, A.I.....	159
Loeza, V.M. ....	237	María, G.A.....	588
Lomillos, J.M. ....	54	Mariscal, G.....	27
Loor, J.J. ....	432	Mármol-Sánchez, E. ....	471, 501, 504
López, A. ....	87	Maroto Molina, F. ....	30
López, I. ....	240	Martín, D. ....	213, 660
Lopez, P. ....	60, 96	Martín, E. ....	362
López Bote, C.J. ....	495, 639	Martín, G. ....	60
López-Colom, P.....	90	Martín-García, A.I.....	171, 225, 261, 264, 270
López-Gajardo, A. ....	660	Martin-Orue, S.M. ....	90, 93, 96
López-García, A. ....	648, 651, 657	Martín-Ramos, P. ....	465, 552
López-Gatius, F.....	749, 752	Martín-Tornero, E. ....	660
López-Helguera, I. ....	737, 752	Martínez, J.M. ....	120
López-i-Gelats, F.....	6	Martínez, P. ....	513
López-Iglesias, L.J. ....	555	Martínez-Álvaro, M.....	456, 477, 480
		Martínez del Pino, L. ....	429, 684, 687
		Martínez-Fernández, A. ....	123, 144



<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Martínez Montes, A. ....	543
Martínez-Pastor, F. ....	371, 406
Martínez-Peña, M. ....	63
Martínez Valladares, M. ....	468
Masdeu, M. ....	389
Matás, C. ....	341
Mateos, I. ....	255, 267
Mateu, E. ....	60
Matías, J. ....	770
Matilla, E. ....	409
Maza, M.T. ....	72, 618, 726, 732
Medinyà, C. ....	318
Mehaba, N. ....	174, 216, 228, 773, 776
Mendieta, E.S. ....	356
Mendivil, M. ....	126
Mendizábal, J.A. ....	429, 684, 687, 690, 702
Mendoza, A.A. ....	12
Mendoza, A.G. ....	135, 138
Mendoza, M. ....	761
Menéndez-Blanco, I. ....	335
Meneses, C. ....	546
Menoyo, D. ....	195
Mercat, M.J. ....	450
Mesías, F.J. ....	15, 75, 78
Millán, M.J. ....	6
Millán, A. ....	513
Millán, P. ....	192
Minh, L.D.T. ....	129
Molín, J. ....	755
Molina, A. ....	462
Molina, E. ....	737
Molina-Alcaide, E. ....	150, 153
Monroy, F. ....	761
Monteagudo, L.V. ....	362
Mora, J. ....	321, 324, 740
Mora, J.L. ....	12
Mora-Brito, A.H. ....	63
Morales, J. ....	102
Morán, P. ....	534
Morcillo, E. ....	344
Moreno, J.A. ....	96

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Moreno, T. ....	681, 699, 708
Moros, R. ....	669, 678
Mouresan, E.F. ....	462
Muiño-Blanco, T. ....	392, 395, 398
Muniesa, A. ....	755
Muñoz, M. ....	486, 543, 648, 651, 657
Mur, R. ....	752
Mur-Novales, R. ....	749
Murillo, Y. ....	36
Nadal, P. ....	395
Nandayapa, E. ....	356
Navarro, J.L. ....	705
Navascués, N. ....	755
Nejjam, I. ....	261, 264
Nicodemus, N. ....	195
Nieddu, G. ....	33
Nieto, P. ....	36
Nieto, R. ....	102, 105, 249, 288, 654
Noguera, J.L. ....	420, 444
Novoa, S. ....	213
Noya, A. ....	737
Núñez, Y. ....	495, 498
Ocasio-Vega, C. ....	198, 201
Olaizola, A.M. ....	12, 18, 45
Olivares, A. ....	639
Olivares, M.C. ....	338
Oliveira, J. ....	51
Oliver, R. ....	585
Olleta, J.L. ....	579, 606
Ortiz, A. ....	87
Ortiz, C. ....	57
Osorio, C. ....	660
Otero, A. ....	767
Óvilo, C. ....	291, 495, 498, 567
Palacios, C. ....	350, 353
Palma-Granados, P. ....	105, 249, 288, 654
Palma, J.M. ....	261, 264
Palomero, A.M. ....	743, 746
Paludo, E. ....	540

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Panea, B. ....	615, 621, 624, 627, 633, 723
Paramio, M.T. ....	329, 335
Pardo, G. ....	159
Pardos, L. ....	72
Parera, J. ....	57
Pascual, M. ....	60, 471
Passetti, R. ....	588
Pau, S. ....	329
Paucar, Y. ....	456, 480
Paz-Silva, A. ....	746
Peci, J. ....	81
Pedreira, J. ....	746
Peinado, J. ....	395
Peiró, R. ....	423, 483
Pena, R.N. ....	420, 507, 537
Perea-Muñoz, J. ....	770
Pereira-Crespo, S. ....	663, 666
Pérez, A. ....	318
Pérez, J.F. ....	285
Pérez, M. ....	755
Pérez, R. ....	711
Pérez-Blázquez, M. ....	660
Pérez-Cabal, M.A. ....	525, 528
Pérez-Gragera, F. ....	642
Pérez Marín, D.C. ....	30
Pérez-Pé, R. ....	392, 395, 398
Pérez-Rodríguez, M.A. ....	642
Pericuesta, E. ....	332
Pesántez, M.T. ....	36
Pesantez-Pacheco, J.L. ....	39
Piedrafita, J. ....	462
Piera, M. ....	66
Piles, M. ....	561
Pinczowski, P. ....	755
Pineda-Quiroga, C. ....	210, 246
Pinos, J. ....	237
Pinos, J.M. ....	120, 282, 359
Piñol, A. ....	57
Piquer, O. ....	108
Piras, A.R. ....	329
Poveda, I. ....	344
Prieto, J.G. ....	371

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Prior, E. ....	660
Purroy, A. ....	684, 687, 690, 702
Puyalto, M. ....	90
Quintana, B. ....	318
Quintanilla, R. ....	60, 426, 471, 501, 504
Quintero-Arboleda, X. ....	546
Rafel, O. ....	561
Ragab, M. ....	447
Raksa, H. ....	767
Ramayo-Caldas, Y. ....	417, 426, 567
Ramírez, S. ....	356
Ranilla, M.J. ....	162, 255, 267
Rauw, W. ....	492
Rebollar, P.G. ....	192, 243
Rebollar-Rebollar, S. ....	3
Reina, R. ....	755, 764
Reixach, J. ....	507
Resano, H. ....	12, 45
Resch, C. ....	663, 666
Resconi, V.C. ....	588, 606
Reverter, A. ....	516
Revilla, M. ....	417, 426, 540, 567
Rey, A. ....	498
Rey, A.I. ....	639
Reyes, D. ....	285
Riera, J. ....	318
Ripoll, G. ....	582, 585, 597, 615, 621, 624, 627, 633, 723
Rivero-Urgell, M. ....	96
Rodas, R. ....	36
Rodrigáñez, J. ....	489
Rodríguez, C. ....	108, 486, 492
Rodríguez, C.A. ....	150, 165
Rodríguez, L. ....	144
Rodríguez, M. ....	192, 243
Rodríguez Chessani, M.A. ....	69
Rodríguez-López, J.M. ....	294, 297, 300
Rodríguez-López, L. ....	135, 138
Rodríguez-Ortega, T. ....	18

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Rodríguez-Prado, M.....	231, 779
Rodríguez-Sorrento, A.	96
Romar, R.....	338
Romero, J. ....	717, 720
Romero-Fernández, M.P.	642, 660
Romero-Huelva, M. ....	153
Romo, S. ....	411
Roncalés, P. ....	603, 609
Rosa-Velázquez, M. ....	359
Rosati, S. ....	764
Roura, M. ....	335
Rovai, M. ....	186
Royo, L.J. ....	435
Rueda, J. ....	546
Rufino, P.J. ....	156
Rufino-Moya, P.J. ....	591, 594
Ruiz, M. ....	576, 702
Ruiz, R. ....	9, 210, 246
Sáez, J. ....	9
Salama, A.A.K. ....	21, 126, 141, 174, 180, 186, 216, 219, 228, 432, 773, 776
Salas, H. ....	147
Salcedo, G. ....	669, 672, 675, 711, 717, 720
Saldo, J. ....	129
Sales, E. ....	465, 552
Salman, A. ....	406
Sánchez, C. ....	231
Sánchez, J.P. ....	426, 447, 474, 561
Sánchez, R. ....	579
Sánchez-Andrade, R. ....	743, 746
Sánchez Bonastre, A. ....	564
Sánchez-Margallo, FM.	344
Sanchez-Rodriguez, A.	389
Sanchís, J.M. ....	746
Sancho, V. ....	48, 57
Sanjuán, A.I. ....	81
Santacreu, M.A. ....	423, 483, 549, 558
Santiago, C. ....	42

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Santiago-Moreno, J. ....	374, 411
Santolaria, P. ....	398, 404, 465, 552
Santorromán, M.J. ....	398
Santos, A. ....	309
Sanz, A. ....	597, 737
Sañudo, C. ....	573, 588, 600, 606, 729
Sargolzaei, M. ....	531
Saro, C. ....	255, 267
Sarriés, M.V.M. ....	576, 690, 702
Sarto, P. ....	761
Sastre J. ....	195
Saura, M. ....	534
Segura, J. ....	291
Seiquer, I. ....	249, 288, 654
Sentandreu, M.A. ....	705
Seradj, A.R. ....	234, 252, 740
Serna, E.A. ....	423
Serna, M. ....	423
Serpa, G. ....	36
Serpa, R.M.P. ....	693
Serrano, E. ....	45, 678
Serrano, J. ....	660
Serrano, M.P. ....	189
Serrano, R. ....	171, 261, 264, 270
Serrano-Pérez, B. ....	737, 749, 752
Shingfield, K.J. ....	222
Sierra, I. ....	362
Silió, L. ....	486, 492
Silva, M.I. ....	743, 746
Silveira, P. ....	401
Smeti, S. ....	582
Soares, M.L. ....	51
Solà-Oriol, D. ....	93, 273, 276, 279, 285
Solé, A. ....	183, 312
Solé, E. ....	318, 507
Soler, C. ....	404
Soler, J. ....	111, 114
Soler, M.J. ....	426
Soret, B. ....	429, 687

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Soria, F. ....	344
Soriano-Úbeda, C. ....	341
Sosa-Madrid, B.S. ....	480, 549, 558
Soto, S. ....	335
Sousa, R. ....	111, 114
Suárez-Vega, A. ....	438, 468, 555
Such, X. ....	21, 174, 180, 228, 773
Sujka, E. ....	240
Tabar, F. ....	690
Tejeda, J.F. ....	420
Tejedor, M.T. ....	362
Tejerina, D. ....	642, 660
Tejido M.L. ....	255, 267
Tellez, S. ....	240
Terrazas, A. ....	401
Tessier, J. ....	132
Tibau, J. ....	471, 501, 504
Toledano-Díaz, A. ....	374, 411
Tor, M. ....	507, 537, 645
Toral, P.G. ....	129, 135, 138, 141, 177, 222
Toro, M.A. ....	462, 489, 510, 513
Torrallardona, D. ....	426
Torrent, J. ....	252
Torrent, N. ....	216, 219
Torres-Rovira, L. ....	39
Torres, O. ....	374
Trevisi, E. ....	309
Tusell, L. ....	450
Tutusaus, J. ....	740
Uldemolins, P. ....	732
Ungerfeld, R. ....	401
Urrutia, O. ....	684, 687
Vailati-Riboni, M. ....	432
Valdés, C. ....	309
Varona, L. ....	441, 444, 462, 558
Vásquez, J. ....	36
Vázquez, I. ....	45, 669, 717, 720

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Vazquez-Gómez, M. ....	291, 498
Vega, A. ....	168, 258
Veiga, M. ....	663, 666
Velasco, B. ....	243
Velasco, M. ....	561
Velázquez, R. ....	374
Vences-Pérez, J. ....	3
Ventura, G. ....	324
Venturini, G. ....	546
Verdú, M. ....	183, 312
Vicente, F. ....	42, 123, 144, 435
Vicente, J.G. ....	120, 237, 282, 359
Vicente, J.S. ....	347, 380
Vieira, C.J.P. ....	612
Vigueras, J. ....	660
Villagómez-Cortés, J.A. ....	63, 69
Villalba, D. ....	99, 321, 324, 636, 645, 737, 740
Villanueva, B. ....	510, 513, 534
Villar, A. ....	669, 672, 675, 711
Villodre, C. ....	285
Vinado, A. ....	207
Viñas, M. ....	561
Vitezica, Z.G. ....	441, 450
Viudes-de-Castro, M.P. ....	380, 383, 386
Wüstholtz, J. ....	630
Xatruch, A. ....	740
Yagoubi, Y. ....	582
Yániz, J.L. ....	398, 404, 465, 552
Yáñez-Ruiz, D.R. ....	171, 225, 261, 264, 270
Yuste, S. ....	168, 258, 303, 306
Zamorano, L. ....	338
Zedda, M.T. ....	329
Zhao, K. ....	435
Zhu, Y. ....	93

***Sistemas explotación:***  
***Gestión y economía***



## EVALUACIÓN DE LA SOSTENIBILIDAD DE SISTEMAS GANADEROS DOBLE PROPÓSITO EN MÉXICO. EL CASO DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE

García-Martínez A.<sup>1</sup>, Vences-Pérez J.<sup>1</sup>, Albarrán-Portillo B.<sup>1</sup>, Rebollar-Rebollar S.<sup>1</sup> y Arriaga-Jordán C. M<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Centro Universitario UAEM Temascaltepec. Km. 67.5 Carretera Toluca-Tejupilco, Temascaltepec. C.P. 51300. <sup>2</sup>Instituto en Ciencias Agropecuarias y Rurales. Universidad del Estado de México. Instituto Literario No. 10°. Colonia Centro. C. P. 50000. Toluca, Estado de México, México. [angama.agm@gmail.com](mailto:angama.agm@gmail.com).

### INTRODUCCIÓN

La ganadería doble propósito (DP) por sus características, representa una actividad relevante para el desarrollo local y la venta de leche, es una fuente de ingreso importante para la economía de la población rural que la práctica (García-Martínez *et al.*, 2015). El trópico seco aporta el 26% de la leche nacional y presenta una tendencia de incremento por razones económicas, con el uso de los recursos de la propia unidad de producción (UP), aunque también con insumos externos, lo que pone en duda la sostenibilidad de la actividad. La sostenibilidad es un término que se ha popularizado desde 1987 con el Informe Brundtland. El desafío de este enfoque es dar repuesta a los problemas que se presentan en los diferentes sistemas agropecuarios, en bienestar animal, seguridad alimentaria, la desertificación, cambio climático, uso eficiente de energía fósil, viabilidad económica y la equidad social, entre otros. En función de lo anterior, el objetivo del trabajo fue evaluar la sostenibilidad mediante el método IDEA (*Indicadores de la Sostenibilidad de las Explotaciones Agrícolas*), de unidades de producción de leche en el sur del estado de México.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el municipio de Tlatlaya, localizado en la zona suroeste del Estado de México. Geográficamente se ubica en las coordenadas 18°22' y 18°41' N y 100°04' y 100°27' O, a una altitud entre 300 y 2.400 msnm. Su territorio asciende a 798,92 km<sup>2</sup>, que representan 3,5% total estatal. Para la obtención de la muestra de productores de ganado doble propósito (DP), se realizó un muestreo por intención o bola de nieve y la información se obtuvo entre 2014 y 2015 mediante una encuesta estructurada, aplicada por entrevista directa a ganaderos de 17 unidades de producción (UP) DP con mayor orientación a la producción de leche durante la mayor parte del año (UPDPL) y 29 UP DP tradicionales que producen leche solo durante el periodo de mayor producción de forraje (UPDPT). Previamente se realizó una caracterización de los dos grupos. La información económica se evaluó mediante el método de presupuestos por actividad considerando los ingresos en efectivo por venta de productos agrícolas y de la ganadería, además de los precios y costos de oportunidad. Posteriormente para la evaluación de la sostenibilidad, la información se analizó mediante el método IDEA (Vilain *et al.*, 2008). El método está integrado por 16 objetivos en tres escalas de la sostenibilidad: i. socio-territorial, ii. económica y iii. agroecológica. Cada escala está integrada con tres o cuatro componentes (10 en total) y cada uno de estos componentes está integrado por un total de 42 indicadores.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En promedio las UPDPL cuentan con 8.3±1.1 vacas en producción y rendimientos de leche de 7.6±1.2 L/vaca/día (1,900±149.9 L/mes) y las UPDPT 2.8±4.1 vacas con rendimientos de 6.9±1.1 L/vaca/día (990±149.9 L/mes). El precio de venta fue de \$5,0 y \$6,5/L, respectivamente. La producción promedio de queso tipo refregado fue de 655,4±210,7 y 337,5±62,37 kg<sup>-1</sup>, respectivamente, con precios de venta entre \$100 y \$170/kg. Se observaron importantes diferencias en el margen de ganancia (MN), siendo mayor en UPDPL. Esta tendencia fue similar en el MN ha<sup>-1</sup> y MN vaca<sup>-1</sup>. Asimismo, se observaron diferencias en el MN por L de leche así como en la procedencia de los ingresos, como se muestra en la Tabla 1. En relación a la sostenibilidad, se observó que la escala agroecológica no es limitante para la evaluación y fueron las UPDPT las que mejor índice obtuvieron en esta escala. No se observan diferencias en la escala socio-territorial, aunque en ambos grupos se observan índices bajos, lo que puede comprometer la sostenibilidad. Sin embargo, la escala económica sí puede limitar la sostenibilidad del sistema,

principalmente en UPDPT (Figura 1). En este sentido, en la Figura 2, se observa que los componentes, transmisibilidad, eficiencia y calidad de los productos afectan a los dos grupos. El componente de viabilidad económica afecta fundamentalmente a UPDPT y las prácticas agrícolas a UPDPL. Estos resultados fueron similares a los reportados por Salas-Pérez et al. (2015). Aunque en estudios en el norte del estado de México, para sistemas de producción de leche en pequeña escala, se reportaron 59 puntos para la *escala agroecológica* (Fadul et al., 2013). Este valor es considerablemente menor al observado en el sur de estado de México, debido principalmente al manejo extensivo de la ganadería. Sin embargo, es importante resaltar que en el norte, el aprovechamiento de la materia orgánica como fertilizante para el suelo favorece este indicador. La misma tendencia sucedió en la *escala socio-territorial en la que* se reportaron 53 puntos, aunque en estas UP, la mano de obra familiar es fundamental y, en la *escala económica* la misma autora reportó 43 puntos. En esta escala, el indicador autonomía financiera se comporta similar en las dos regiones, encontrado mayores diferencias en el indicador de sensibilidad de ayudas, ya que en el sur del estado las subvenciones recibidas suponen solo el 5% del ingreso total (IT), mientras que en el norte del estado representan el 9% del IT. Se concluye, que la producción de leche es importante para el desarrollo local. Sin embargo, la escala económica limita la sostenibilidad en UPDPT por una reducida capacidad de transmisibilidad y, la escala agroecológica en UPDPL, por elevado uso de insumos externos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- García-Martínez, A., Albarrán-Portillo, B. y Avilés-Nova, F. 2015. Dinámicas y tendencias de la ganadería doble propósito en el sur del Estado de México. *Agrociencia*. 49: 125-139.
- Fadul-Pacheco, L., Wattiaux, M.A., Espinoza-Ortega, A., Sánchez-Vera, E., & Arriaga-Jordán, C.M. 2013. Evaluation of Sustainability of Smallholder Dairy Production Systems in the Highlands of Mexico During the Rainy Season. *Agroecology and Sustainable Food Systems* 37, 882–901.
- Salas-Reyes, I. G., Arriaga-Jordán, C. M. Rebollar-Rebollar, S., García-Martínez, A. y Albarrán-Portillo, B. 2015. Assessment of the sustainability of dual-purpose farms by the IDEA method in the subtropical area of central Mexico. *Trop Anim Health Prod* (2015) 47:1187-1194.
- Vilain, L., Girardin, P., Mouchet, C., Viaux, P. and Zahm, F. 2008. La method IDEA: indicateurs de durabilité des exploitations agricoles: guide d'utilisation, Dijon, version 3, Educagri Ed. Consultado el 4 de septiembre de 2016, <http://www.idea.portea.fr/>.

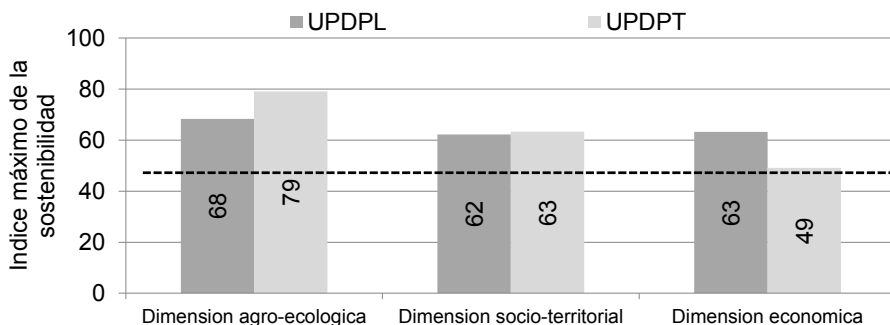
**Agradecimientos:** se agradece a los productores del Municipio de Tlatlaya, al Cuerpo Académico en Sistemas de Producción Animal y Recursos Naturales (CASPAREN) y la Universidad Autónoma del Estado de México y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento de la investigación.

**Tabla 1.** Principales características de las unidades de producción lecheras en trópico seco

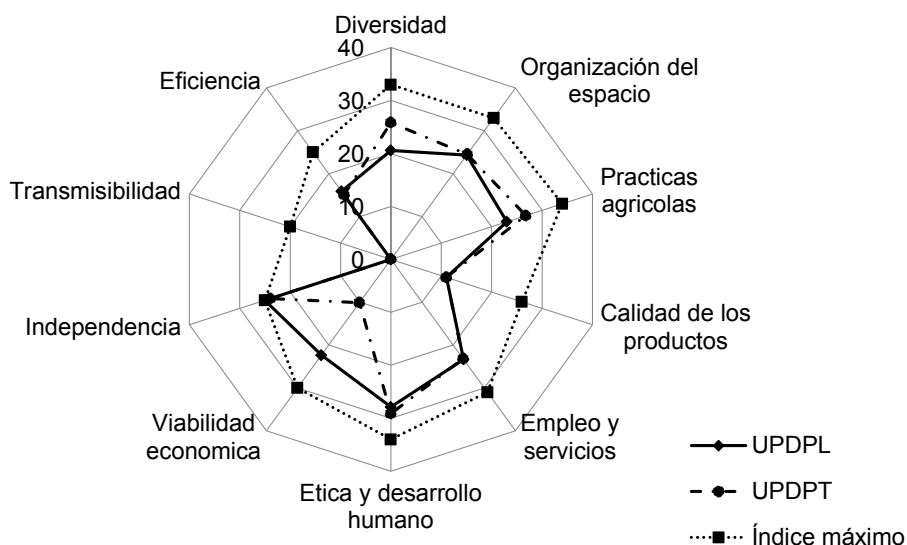
	UPDPL	UPDPT	Total
Número de unidades de producción (UP)	n = 17	n = 29	n = 46
Porcentaje sobre el total de UP (%)	36,96	63,04	100
Antigüedad de la UP (años)	48,4	63,1	55,8
Edad del ganadero	59,7	59,7	59,7
Superficie (ha)	39,4	58	48,7
Mano de obra	1,8	1,6	1,7
%mano de obra familiar	82,5	91,7	87,1
%mano de obra contratada	17,5	8,3	12,9
Número de vacas	24,5	26,1	25,3
MN <sup>-1</sup> *	137,3	79,3	108,3
MN ha <sup>-1</sup> *	6,8	2	4,4
MN vaca <sup>-1</sup> *	8,6	3,3	5,95
MN L leche	5,3	4,2	4,75
Ingreso de venta de bovinos/IT	51,68	79,16	64,91
Ingreso de venta de leche y queso/IT	47,79	15,73	32,35
subsidios/IT	0,53	5,1	2,74

\*Datos expresados en miles de pesos.





**Figura 1.** Escalas de la sostenibilidad en las unidades de producción lecheras en tópicó seco.



**Figura 2.** Componentes de la sostenibilidad en las unidades de producción lecheras en tópicó seco.

### SUSTAINABILITY ASSESSMENT OF DUAL PURPOSE SYSTEMS IN MEXICO. THE MILK PRODUCTION CASE

**ABSTRACT:** Milk production is an important activity for local development. The objective of the study was to evaluate sustainability through the IDEA method (*Indicateur de durabilité des exploitations agricoles*), in two groups of milk production units (i. dual purpose milk production units-DPMPU and ii. dual purpose traditional production units-DPTPU) in the southwest of Mexico State. The economic scale limits sustainability in DPTPU due to a reduced capacity of transmissibility and, the agro-ecological scale in DPMPU limits its sustainability, due to a high use of external inputs.

**Keywords:** dairy cows, dry tropic, IDEA method, sustainability.

## ANÁLISIS DISCURSIVO DE LA INCORPORACIÓN DE JÓVENES GANADEROS DE CATALUÑA

Góngora, R.<sup>1</sup>, Milán, M. J.<sup>1</sup> y López-i-Gelats, F.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. <sup>2</sup>Càtedra d'Agroecologia i Sistemes Alimentaris, Universitat de Vic-Universitat Central de Catalunya, Vic, España. <sup>3</sup>Centre de Recerca en Economia i Desenvolupament Agroalimentari (CREDA-UPC-IRTA), Castelldefels, España.  
[rubendario.gongora2@e-campus.uab.cat](mailto:rubendario.gongora2@e-campus.uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

El sector ganadero de la Unión Europea se encuentra en una gran encrucijada en la que debe afrontar grandes retos. Además de adaptarse a las exigencias de un mercado global cada vez más competitivo, se espera que el sector productivo incorpore criterios de sostenibilidad en la actividad manteniendo las zonas rurales vivas, con todo lo que esto significa en términos de mantenimiento del paisaje cultural, conservación del medio ambiente y un desarrollo económico equilibrado y viable de las áreas rurales (Niewolny y Lillard, 2010). Para todo ello, es esencial asegurar un relevo generacional que permita implementar los cambios que el sector requiere para adaptarse a las nuevas condiciones, entre los que destaca la capacidad de innovación y flexibilidad (Monllor, 2012; Koutsoua et al., 2014). El objetivo del trabajo es analizar el papel de los jóvenes ganaderos en el sector rural, explorando la diversidad de opiniones y perspectivas de actores claves, para identificar las motivaciones y dificultades de los jóvenes ganaderos en el proceso de incorporación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

La metodología Q, que lleva más de 60 años utilizándose en el campo de la psicología y las ciencias sociales (Barry y Proops, 1999), fue ideada y desarrollada por William Stephenson en los años treinta (McKeown y Thomas, 1988), para explorar de una manera estructurada el subconsciente de los pacientes. En los últimos años se ha ido utilizando cada vez más para explorar la diversidad de opiniones que coexisten en temas conflictivos en ámbitos del desarrollo rural, estructuras agrarias y medio ambiente (López-i-Gelats et al., 2009; Zografos, 2007). La metodología Q combina el análisis estadístico con técnicas cualitativas. Para su implementación se cumplieron los siguientes pasos: **1.** Identificación del área discursiva en estudio, en este caso, qué es lo que condiciona el proceso de incorporación de jóvenes al sector ganadero en Cataluña; **2.** Entrevista a 24 expertos, que fueron seleccionados con el criterio de maximizar la diversidad de perfiles y opiniones, y recopilación de frases textuales con los distintos matices que remarcaron en las entrevistas, se obtuvieron un total de 255 afirmaciones; **3.** Reducción del número de afirmaciones a 36 esenciales, siempre teniendo en cuenta el criterio de maximizar la diversidad de ideas; **4.** Los 24 expertos seleccionados clasifican las 36 afirmaciones en función del grado de acuerdo o desacuerdo (ver Tabla 1); y **5.** Se implementa el Análisis de Componentes Principales para extraer los factores y clasificar los grupos, se compara el peso de las afirmaciones entre los factores mediante un ANOVA, utilizando el programa PQMethod 2.35. Por último los factores son interpretados como discursos (Stephenson, 1962).

**Tabla 1.** Escala de calificación y número de afirmaciones permitidas de cada tipo.

	Más en desacuerdo				Indiferente	Más de acuerdo			
Puntuación de calificación	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
Nº de afirmaciones	2	3	4	5	8	5	4	3	2

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron 6 discursos distintos, que explican un 75% de la varianza. Para su selección se siguió el criterio de reservar aquellos factores que contaban con dos o más expertos pesando significativamente en ellos ( $P < 0,01$ ) y un *eigenvalue* superior a 1. Para la construcción e interpretación de los discursos se analizó en profundidad la clasificación tipo, generada para cada discurso (ver Tabla 2). A continuación, se describen brevemente los seis discursos identificados.

**Tradición familiar:** Según este discurso la tradición familiar tiene un papel clave en el proceso de incorporación. Destaca también la formación como elemento indispensable para el éxito de la empresa, así como también el vínculo (a través de redes, asociaciones...) con otros jóvenes en el proyecto de incorporación. Los perfiles que están más asociados con este discurso son profesores y tutores de escuelas de capacitación agraria y jóvenes en formación.

**Neoruralidad:** Este discurso entiende que los jóvenes no vinculados al campo ven al sector agrario como una oportunidad laboral y de cambio de vida, y para ello enfocan sus proyectos a la producción agroecológica y canales cortos de comercialización. El contar con recursos económicos no es visto como indispensable. No obstante, sí que se considera imprescindible la creación de políticas para facilitar el acceso de tierra. Los perfiles que están más asociados con este discurso son técnicos y consultores agrarios.

**Rentabilidad agraria:** Los que se asocian con este discurso tienden a identificar las explotaciones rentables y la presencia de servicios en el entorno rural como factores muy relevantes para la adecuada incorporación de jóvenes. Valoran la formación como herramienta clave en la consolidación empresarial y consideran importante mejorar las políticas de acompañamiento en la incorporación. Para los representantes de este discurso los proyectos ligados a la producción agroecológica y a canales cortos de comercialización no terminan de ser suficientemente atractivos para la incorporación. Los perfiles que están más asociados con este discurso son funcionarios.

**Tecnificación agraria:** Para este discurso la tradición familiar, el contar con patrimonio económico y la utilización de tecnologías que faciliten el trabajo son factores determinantes en la incorporación. También considera indispensable el desarrollo de políticas de acceso a la tierra, comercialización y sostenimiento de rentas. Los perfiles que están más asociados con este discurso son profesores universitarios.

**Diversificación e innovación:** Para los defensores de este discurso el fortalecimiento de proyectos de producción ecológica, la venta a través de canales cortos, la adopción de innovaciones y la integración activa de la mujer juegan un papel fundamental en una correcta incorporación de los jóvenes al sector ganadero. La innovación debe estar enfocada a la diversificación en actividades como el turismo rural y el agroturismo. Los perfiles que están más asociados con este discurso son jóvenes productores.

**Extensión agraria:** Según este discurso para favorecer la incorporación al campo de jóvenes, la extensión agraria debería tomar mayor fuerza dentro del departamento de agricultura, a la vez que los programas de formación ya existentes deberían reforzarse con temas de gestión empresarial. Los perfiles que están más asociados con este discurso son profesores y tutores de escuelas de capacitación agraria.

## DISCURSIVE ANALYSIS OF THE INCORPORATION OF YOUNG LIVESTOCK FARMERS IN CATALONIA

**ABSTRACT:** This paper explores the diversity of perceptions and perspectives that coexist around the incorporation of young livestock farmers in Catalonia. To this end, using Q Methodology, key actors were interviewed. Six speeches were identified, which represent six different ways of conceiving the obstacles and potentialities with which young people coexist in joining the agricultural sector. These are: family tradition, neorurality, agrarian profitability, agricultural technification, diversification and innovation and agricultural extension. Despite the differences between the six speeches, a high consensus is identified in the creation of land access policies and that training is an essential tool for successful incorporation.

**Keywords:** q methodology; discourses; farm succession; young farmer.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Barry & Proops. 1999. *Ecol. Econ.* 28: 337-45. •Koutsoua, S. 2014. *J. Rural Stud.* 34: 204-211. •López-i-Gelats. 2009. *Geoforum* 40: 602-612. •McKeown & Thomas. 1988. *Q-Methodology*. •Monllor, N. 2013. *Quad. Agr.* 35: 7-24. •Niewolny & Lillard. 2010. *J. Agr. Food.* 1: 65-88. •Stephenson, W. 1962. *Psychol. Rec.* 12: 9-16. •Zografos, C. 2007. *J. Rural Stud.* 23: 38-51.

**Tabla 2. Afirmaciones y su calificación en cada discurso**

Afirmaciones	Discursos					
	1	2	3	4	5	6
Los jóvenes que se incorporan mediante el relevo natural a la explotación agraria tienden a innovar menos.	0	-1	-1	-1	0	<b>-3</b>
En el sector ganadero la tradición familiar juega un papel más importante en el relevo generacional de lo que ocurre en otras actividades agrícolas.	<b>3</b>	<b>3</b>	-2	1	-1	1
Cultivando la tierra y ofreciendo alimentos sanos a la población puedo ser un agente de cambio social.	0	<b>3</b>	-2	<b>-3</b>	0	2
Ser ganadero es una manera muy sana de contribuir a la mejora del planeta.	-1	-1	<b>-4*</b>	-2	0	0
Los jóvenes no vinculados al campo, ven en el sector agrario una oportunidad para un cambio de vida.	<b>-3</b>	<b>3*</b>	0	1	-4	1
La tradición familiar es determinante para el proceso de incorporación al sector agrario.	<b>3</b>	<b>-3</b>	-2	<b>4</b>	<b>1*</b>	<b>-4</b>
Es imprescindible la creación de políticas para facilitar el acceso a la tierra.	2	<b>4</b>	2	<b>3</b>	<b>3</b>	1
Contar con un patrimonio económico al inicio de la incorporación es el principal factor de éxito.	0	<b>-4</b>	1	<b>3</b>	<b>-3</b>	1
El campesino que actualmente trabaja, no lo hace para ganarse la vida, sino para pagar deudas.	-2	-2	<b>-3</b>	<b>-4</b>	0	<b>-3</b>
La comercialización es una problemática determinante de los jóvenes de recién incorporación.	1	0	2	<b>-3</b>	0	-1
Los avances tecnológicos implementados en el sector agrario han propiciado que el esfuerzo laboral sea menor, lo que incentiva la incorporación.	0	<b>-4</b>	-2	<b>4*</b>	0	-2
La integración activa de las mujeres en la actividad agraria favorece las innovaciones en el sector.	1	-2	2	0	<b>3</b>	0
El estar asociado con otros jóvenes para iniciar una empresa agraria es un factor de éxito.	3	1	-1	-2	2	0
La presencia de mujeres en las actividades y decisiones de la empresa agropecuaria es un factor de éxito.	-1	<b>-3*</b>	2	0	<b>3</b>	0
La formación de los jóvenes es una herramienta imprescindible para tener éxito en la incorporación.	<b>4</b>	1	<b>3</b>	2	1	2
La incorporación a una explotación rentable económicamente es un factor de éxito.	-2	1	<b>4</b>	2	-1	<b>-3*</b>
El tener redes de comunicación con otros productores de la zona ayuda mucho en el proceso de incorporación y es un factor de éxito.	0	0	1	0	2	<b>3</b>
La mayor cantidad de servicios (médicos, comunicaciones...) en el medio rural, incentiva el regreso de los jóvenes a las explotaciones.	-1	2	<b>4</b>	<b>3</b>	-2	-2
La existencia de otras políticas de acompañamiento al joven en el momento de recibir la ayuda a la incorporación es fundamental.	0	2	<b>3</b>	0	-1	0
El sacrificio que conlleva la actividad agraria hace que el joven se desvincule y busque otras alternativas laborales.	<b>-3</b>	-2	<b>-3</b>	1	-2	0
El concepto de empresa familiar agraria tiende a desaparecer.	<b>-3</b>	1	0	<b>-3</b>	<b>-4</b>	0
Trabajar en el sector agrario reduce las expectativas de ingresos económicos.	<b>-4</b>	-2	0	1	<b>-3</b>	-2
Los sistemas de producción integrados son vistos con muy buenos ojos por los jóvenes.	<b>-4</b>	<b>-4</b>	0	0	<b>-3</b>	<b>-4</b>
Las ayudas de la PAC incentivan la incorporación de jóvenes al sector agrario.	2	-1	1	-2	-2	<b>3</b>
La extensión agraria (asesoramiento a agricultores) debería de tomar mayor fuerza dentro del departamento de agricultura.	1	1	0	2	0	<b>4*</b>
La formación en gestión de negocios y no para trabajar para un tercero es fundamental para el éxito de la incorporación.	<b>4</b>	0	<b>3</b>	-2	1	<b>4</b>
La innovación debe estar enfocada a la diversificación en actividades como el turismo rural y el agroturismo.	0	-1	<b>-4</b>	-1	<b>4*</b>	-2
Los canales cortos de comercialización es una innovación de bajo costo y rentable a la empresa agraria.	-1	0	0	<b>-4</b>	-2	2
Los proyectos ligados a la producción agroecológica y canales cortos de comercialización atraen más a los jóvenes.	-2	<b>4</b>	<b>-3*</b>	2	<b>4</b>	-1

(\*) afirmaciones distintivas con un P valor <0,01.

## **PRACTICAS REGENERATIVAS COMO ALTERNATIVA SOSTENIBLE PARA LA GANADERIA LIGADA A LA TIERRA**

Mandaluniz N.<sup>1\*</sup>, Sáez J.<sup>2</sup>, Arranz J.<sup>1</sup>, Epelde L.<sup>1</sup>, Imaz M.J.<sup>3</sup> y Ruiz R.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz. <sup>2</sup> INTIA-Avenida Serapio Huici 22, 31610 Villava-Navarra. <sup>3</sup> Agencia de Desarrollo Local Urduñederra, Burdin 2, 48460 Orduña-Vizcaya. [nmandaluniz@neiker.net](mailto:nmandaluniz@neiker.net)

### **INTRODUCCIÓN**

Los sectores de ovino lechero y vacuno de carne del País Vasco y Navarra se han basado tradicionalmente en sistemas de producción ligados al pastoreo y al empleo de los recursos forrajeros locales (Ruiz *et al.*, 2009). Sin embargo, durante las últimas décadas hemos asistido a una evolución hacia la dependencia externa de los sistemas de alimentación, a una reducción de las prácticas de pastoreo, etc. con las consiguientes implicaciones que ello conlleva a nivel del ecosistema y de la sostenibilidad de estos sistemas. En esta línea además, la publicación del informe de la FAO (Steinfeld *et al.*, 2006) acerca del impacto ambiental de la ganadería, han generado debate y ha sensibilizado a la sociedad sobre los problemas de sostenibilidad del sector agrario.

La agricultura regenerativa propone una visión sistémica, que permite restaurar el potencial de los servicios ecosistémicos de la agricultura/ganadería, promoviendo una actividad económicamente rentable y socialmente cohesionadora. En esta línea, el proyecto LIFE REGEN FARMING (LIFE12 ENV/ES/232, [www.regenfarming.eu](http://www.regenfarming.eu)) trata de testar algunas prácticas ganaderas como el régimen de pastoreo rotacional, las siembras directas o los abonados orgánicos frente a los minerales, como alternativas sostenibles para las explotaciones ganaderas ligadas a la tierra. Estas prácticas tratan de cuidar la salud de los suelos agroganaderos, reducir la huella de carbono e incrementar la capacidad de los pastos como sumideros de carbono (Teague *et al.*, 2011).

En la presente comunicación se presentan los resultados de tres años de monitorización tanto socioeconómica como medioambiental de estas prácticas en tres zonas de estudio.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

A lo largo de tres años se ha implementado y monitorizado prácticas regenerativas en tres zonas de estudio con condiciones agroclimáticas y de ganadería diferentes (Tabla1). Entre las prácticas testadas están el régimen de pastoreo, la siembra directa y los abonados orgánicos. La presente comunicación se centra en el efecto del régimen de pastoreo sobre algunos parámetros socioeconómicos y medioambientales. Para ello se compararon dos grupos de animales homogéneos, uno en pastoreo rotacional/regenerativo y otro en pastoreo libre/continuo; y un tercer tratamiento que fue la exclusión del pastoreo (cierres de 9 m<sup>2</sup>). Para el pastoreo rotacional/regenerativo se elaboraron planes/calendarios de pastoreo al inicio de cada estación de pastoreo, haciendo especial hincapié en los periodos de descanso de las parcelas.

A lo largo de la vida del proyecto se ha hecho un gran esfuerzo por combinar conocimiento científico con la puesta a punto de metodologías sencillas, rápidas y baratas de evaluación que se puedan trabajar en campo por el ganadero/a o técnico. Esta labor se ha llevado a bajo una dinámica de trabajo investigación-acción-participativa (IAP), espacio en el que ganaderos/as, centros de investigación, y estructuras de desarrollo rural trabajan conjuntamente desde la elaboración de la propuesta de proyecto.

Durante los tres años se monitorizaron parámetros tanto técnico-económicos como medioambientales y sociales en las tres zonas de estudio. Entre los parámetros técnico-económicos se ha monitorizado tanto la producción/composición lechera de los dos rebaños de ovino lechero, así como la producción/calidad de hierba con cortes periódicos con tijera de jaulas de exclusión. Entre los parámetros medioambientales se ha estimado la huella de carbono (HC) mediante la metodología descrita por Batalla *et al.* (2014) y la salud de los agroecosistemas mediante las tarjetas de salud de los agroecosistemas (TSA) del proyecto LIFE SOILMONTANA ([www.soilmontana.com](http://www.soilmontana.com)). Estas TSA consideran 4 servicios ecosistémicos de los pastos: producción de hierba, biodiversidad (tanto edáfica como

botánica), conservación del suelo y lucha contra el cambio climático. Y finalmente, para los parámetros sociales se han realizado encuestas semiestructuradas (Foddy, 1996) en distintos seminarios (de formación, transferencia, etc.) realizados en el marco del proyecto.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Entre los parámetros de producción, no se observaron diferencias estadísticamente significativas debidas al tipo de pastoreo en la producción/composición de leche de las ovejas, pero se observó un 10-15% más de producción de hierba en las praderas manejadas bajo un régimen de pastoreo rotacional/regenerativo (Mandaluniz *et al.*, 2015).

Respecto a los parámetros medioambientales, el diagnóstico global de las parcelas del proyecto medido con las TSA fue aceptable (Mandaluniz *et al.*, 2016a) y, en términos generales no se encontraron diferencias significativas debidas al régimen de pastoreo, pero sí un incremento de la materia orgánica particulada (MOP) (Saez *et al.*, 2016). La exclusión al pastoreo, sin embargo, disminuyó la diversidad vegetal y la compactación, e incrementó la riqueza de macrofauna (Tabla 2). Estos resultados indican que el cese del pastoreo conlleva cambios significativos en las comunidades biológicas del suelo. La biomasa herbácea acumulada y la estabilidad de la temperatura observada en las microestaciones instaladas a 10 cm de profundidad del suelo pueden estar favoreciendo la multiplicación de esta riqueza. En el caso de la HC de las explotaciones de ovino lechero, el valor medio fue de  $3,23 \pm 0,419$  kg CO<sub>2</sub>eq/litro de leche corregida por grasa y proteína y la implementación de las prácticas regenerativas redujo un 10% esta HC (Mandaluniz *et al.*, 2016b), debido principalmente a la reducción en el empleo de pienso y abonados, y al incremento del tiempo de pastoreo y el forraje obtenido (Tabla 2). Cuando la unidad funcional considerada es la superficie agraria (SAU), la huella de carbono presenta unos valores medios mucho más variables, de  $5.580 \pm 2.013$  kg CO<sub>2</sub>eq/ha, de modo que los sistemas más extensivos y basados en la utilización de pastos permanentes se ven más favorecidos. Así, queda evidenciado el efecto que tiene el tipo de unidad funcional considerada sobre el cálculo de la huella de carbono de los distintos sistemas ganaderos.

Finalmente, entre los parámetros sociales, han participado 210 personas (ganaderos, técnicos, asesores, investigadores, etc.) en los distintos seminarios impartidos. Entre el sector ganadero se observa que los ganaderos que han participado trabajan en sistemas ligados a la tierra, normalmente son explotaciones familiares y diversifican la producción ganadera (ovino, vacuno, etc.). La sensibilización de este colectivo es la clave para que se adapten a los nuevos conocimientos científicos y técnicos y poder dar continuidad a este tipo de trabajos. Para ello, la dinámica de trabajo IAP y herramientas de diagnóstico sencillas como las TSA han sido claves para involucrar al sector.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Battalla, I. (2015). Tesis doctoral
- Foddy, W. (1996). *Quality & Quantity*, 30 (4): 361-370.
- Mandaluniz, N., Arranz, J. y Ruiz, R. (2015). *54ª Reunión Científica de la SEEP*. Pp: 349-356.
- Mandaluniz N., Pascual, A., Arranz, J., Anza, M., Blanco, F., Epelde, L., Garbisu, C. y Ruiz, R. (2016a). *Global Farm Platforms for Sustainable Ruminant Livestock Production- Sustainable livestock Conference* (Bristol, January 2016).
- Mandaluniz, N.; Pascual, A., Batalla, I., del Hierro, O., Saez, J.L., Arranz, J. y Ruiz, R. (2016b). *55ª Reunión Científica de la SEEP*. Pp: 363-367.
- Ruiz, R., Díez-Unquera, B., Beltrán De Heredia, I., Mandaluniz, N., Arranz, J., Ugarte, E., 2009. *60<sup>th</sup> Annual Meeting of the EAAP*, Book of Abstracts nº15: 73.
- Sáez, J., Imaz M.J., Arranz, J., Kormenzana, M., Epelde, L., Enrique, A., Ruiz, R. y Mandaluniz, N. (2016). XII Congreso SEAE. Leguminosas: Clave en la gestión de los agrosistemas y la alimentación ecológica. Lugo, 21-24 septiembre 2016
- Steinfeld, H., Otte, J., Mack, S., Pym, B., Sumpston, K., Martin, V., Rischowsky, B., Morgan, N., Carderillo, R., Thieme, O., Vargas-Teran M.(2006). *“Livestock’s Long Shadow”*.
- Teague, W.R., Dowhower, S.L., Baker, S.A., Haile, N., DeLaune, P.B. y Conover, D.M., 2011. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 141: 310-322.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado con la cofinanciación del proyecto LIFE REGEN FARMING (LIFE12 ENV/ES/00232), el Gobierno Vasco y el Gobierno de Navarra. Los autores quieren agradecer a toda la gente que se ha implicado y ha apoyado el proyecto.

## REGENERATIVE PRACTICES: A SUSTAINABLE ALTERNATIVE FOR LAND-BASED LIVESTOCK

**ABSTRACT:** Land use and grazing management practices have changed during the last decades as result of the intensification of traditional pasture based systems. Some of the consequences of these changes are directly related to environmental impacts. Regenerative agricultural practices tested in LIFE REGEN FARMING project promote their viability due to its socio-economic and environmental effectiveness. According to the results, regenerative practices carried out in the study maintain livestock productive parameters, improve technico-economical effectiveness due to the increase in harvested grass and reduce environmental impact due to the reduction of carbon footprint. The work methodology of participatory action research, in which researchers, rural development technicians and farmers actively took part in research, has been fundamental to carry out the project.

**Keywords:** environmental parameters, production systems, socio-economic parameters, livestock sustainability

**Tabla 1.** *Características agroclimáticas de la localización de los rebaños de estudio y su sistema de producción*

Socio	Localidad	Ubicación	Altitud	Lluvias	Tª media	Ganadería
NEIKER	Arkaute	País Vasco	600 m	760 mm	11 °C	Ovino leche
INTIA	Roncesvalles	Navarra	940 m	2200 mm	9 °C	Ovino leche*
Urduñederra	Orduña	País Vasco	200-400 m	1000 mm	12 °C	Vacuno carne*

\* Ganaderías en producción bajo certificado ecológico.

**Tabla 2.** *Parámetros monitorizados para la monitorización medioambiental y socioeconómica del proyecto*

Sostenibilidad	Parámetros	Prácticas regenerativas*
<b>Económica</b>	Producción animal	ídem
	Coste alimentación	+10-15% autonomía forrajera
<b>Social</b>	Formación	Dinámicas clave para sensibilizar al sector. Más de 220 personas implicadas
	Investigación Acción participativa	
<b>Medioambiental</b>	Salud del suelo	+7% materia orgánica particulada
	Huella carbono	-10%

\* Prácticas regenerativas testadas: siembras directas, pastoreo dirigido e incremento del 7% de los tiempos de pastoreo, eliminación de fertilizantes químicos, incremento en la producción de hierba y reducción 4% en el uso de pienso concentrado.

## **ADOPCIÓN DE UN SISTEMA AGROFORESTAL SOSTENIBLE: IMPACTO PERCIBIDO POR LOS PRODUCTORES EN LOS AGROECOSISTEMAS HONDUREÑOS**

Mendoza, A.A., Resano, H., Mora, J.L. y Olaizola, A.

Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural. Universidad de Zaragoza.  
c/ Miguel Servet 177, 50013. Zaragoza. [aamf04@gmail.com](mailto:aamf04@gmail.com)

### **INTRODUCCIÓN**

Las laderas (pendiente > 12%) representan aproximadamente el 80% de la superficie de Honduras, siendo la principal actividad económica en ellas la pequeña agricultura de subsistencia (producción de cultivos mixtos: maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), *maicillo* o sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) y ganado), en su mayoría de secano y tradicionalmente basada en un sistema de tala y quema (STQ). Estos agroecosistemas presentan, en general, una alta degradación de suelos, comprometiendo la sostenibilidad en la producción agropecuaria de más de dos millones de personas del país (25% de la población total). En los últimos 12 años en el sudeste de Honduras se ha promovido una innovación en el sistema de explotación denominada Quesungual (SAQ) como alternativa al STQ. Según varios estudios, el SAQ reporta diversos beneficios ambientales, socioeconómicos, alimentarios y nutricionales tanto a los productores como a la sociedad en general (Ayarza et al., 2010; Mendoza et al., 2014), aunque son realmente escasos los estudios que evalúan dichos beneficios desde la perspectiva de los productores. Es por ello que el objetivo del presente trabajo es analizar las diferencias percibidas entre los productores que han adoptado un sistema agroforestal innovador (SAQ) y los que no (STQ), sobre los cambios producidos en los agroecosistemas y en la calidad de vida del hogar.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El STQ consiste en la tala y quema de parcelas en barbechos (*guamiles*) para la producción de cultivos por un período de uno a tres años, y el descanso en barbecho para permitir la regeneración de la vegetación por 20-30 años antes de volver al ciclo agrícola. Sin embargo, en la zona de estudio el descanso se ha reducido a siete años. En cambio, el SAQ es un sistema que incluye tecnologías para el manejo sostenible de los recursos de vegetación (nunca se usa fuego para eliminarla), suelo y agua en agroecosistemas tropicales de ladera con tendencia a la sequía (Ayarza et al., 2010).

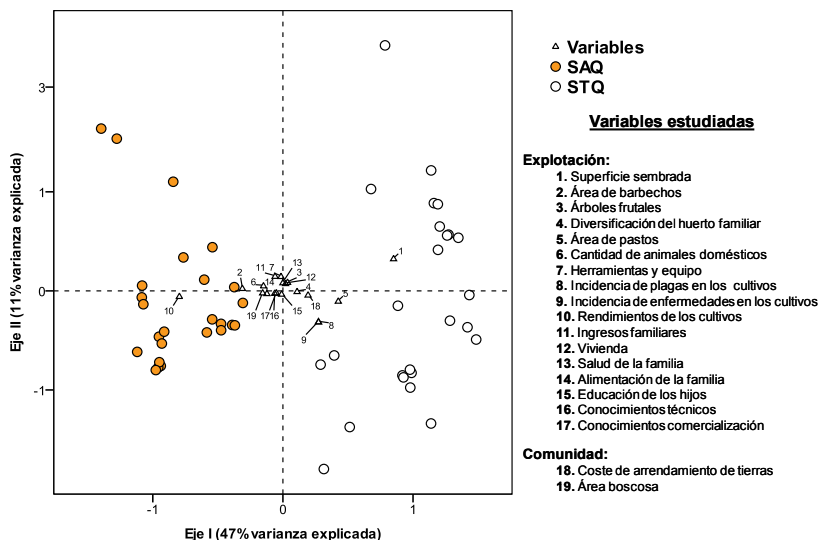
El estudio empírico se efectuó en seis comunidades del sudeste de Honduras, durante los meses de julio a octubre de 2013. La localidad presenta una altitud promedio de 900 ±200 msnm y pertenece a la zona de vida “bosque húmedo subtropical (cálido)” con más de 6 meses secos. Las precipitaciones anuales oscilan entre 900-1200 mm año<sup>-1</sup>, con una distribución bastante errática. En este estudio se seleccionaron 25 productores que han adoptado el SAQ (al menos durante diez 10 años) y otros 25 de comunidades vecinas que todavía practican el STQ, mediante un muestreo no probabilístico por cuotas. La información se recogió mediante una encuesta directa a los productores, basada en el marco de capitales de la comunidad (MCC) (Flora y Flora, 2013). Para analizar la percepción de la evolución de los agroecosistemas se empleó una escala de valoración ordinal (1=disminuyó, 2=similar y 3= aumentó). Para conocer la percepción de los impactos de los agroecosistemas en la calidad de vida del hogar, se utilizó una escala de valoración ordinal de 1 a 5 equilibrada comprendida entre 1=empeoró mucho y 5=mejoró mucho. Para visualizar las interrelaciones de las distintas variables estudiadas entre sí y los agroecosistemas STQ y SAQ, se realizó un análisis de correspondencias (AC) con el software CANOCO (versión 4,5). Además, se aplicó el test no paramétrico de U-Mann-Whitney para comparar las diferencias entre agroecosistemas, empleando IBM SPSS *Statistics* (versión 22).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El análisis de correspondencias (Figura 1) permite visualizar las interrelaciones entre las características influyentes en la percepción de los productores de la evolución de los agroecosistemas estudiados y el impacto en la calidad de vida del hogar en los últimos diez años. El primer eje, correspondiente al principal gradiente de variación, condensa por sí solo el 47% de la varianza total. Este eje segrega claramente los dos agroecosistemas objeto de estudio. Las explotaciones que practican el SAQ se localizan mayoritariamente en el semieje negativo, asociadas a cambios positivos percibidos recientemente por los productores en los



rendimientos de los cultivos. Por el contrario, las explotaciones con STQ se encuentran en su totalidad en el tramo positivo del primer eje, asociadas a la percepción de los productores a cambios recientes de ampliación en la superficie sembrada de granos básicos.

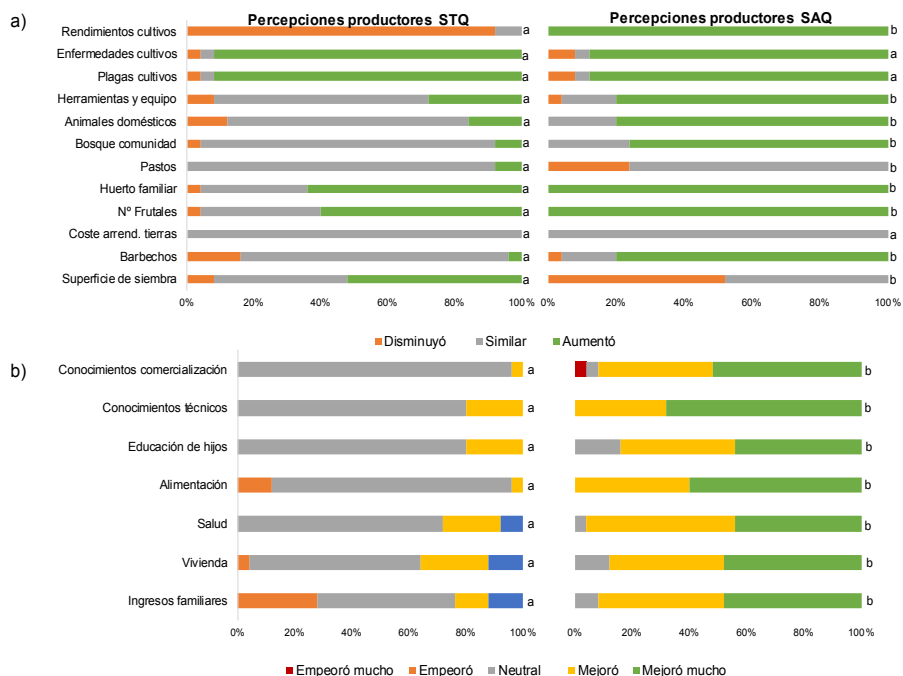


**Figura 1.** Puntuaciones de las variables y los agroecosistemas STQ y SAQ, sobre los dos primeros ejes obtenidos en el Análisis de Correspondencias. Las variables se expresan en una escala creciente (de menos a más).

El análisis inferencial comparativo (Figura 2) entre las explotaciones que han adoptado la innovación (SAQ) frente a las que no (STQ) muestra diferencias significativas en varias de las características de la percepción de los productores sobre la evolución de los agroecosistemas y el impacto en la calidad de vida del hogar en los últimos diez años.

Los productores que han adoptado el SAQ perciben que se ha producido un aumento en los últimos diez años en mayor proporción que los productores con STQ en varias características relacionadas con el sistema de explotación, incluyendo el área en barbecho, la cantidad de árboles frutales en la explotación, la diversificación del huerto familiar, el área boscosa de la comunidad, la cantidad de animales domésticos, la cantidad de herramientas y equipo y en los rendimientos de los cultivos de cereales y leguminosas de grano (mayor productividad). Además, los productores que han adoptado el SAQ perciben que se ha producido una disminución en mayor proporción que los productores con STQ en la superficie de siembra de los cultivos y pastos. Todo ello parece indicar que el SAQ es un sistema ecológicamente intensivo y sustentable. No se encontraron diferencias significativas entre STQ y SAQ en cuanto a la percepción del coste de arrendamiento de tierras a nivel comunitario y en la incidencia de plagas y enfermedades en los cultivos en los sistemas de producción objeto de estudio (Figura 2a).

Asimismo, los productores adoptantes del SAQ perciben en mayor proporción que los del STQ que se ha producido una mejora en los últimos diez años en varias características relacionadas con la calidad de vida del hogar, como son las referidas a los ingresos familiares, la vivienda, la salud, la alimentación de la familia, la educación de los hijos, los conocimientos técnicos sobre el manejo de la explotación y la comercialización de los productos agropecuarios (ver Figura 2b). Estos resultados están en consonancia con los obtenidos en varias investigaciones empíricas (Ayarza et al., 2010; Mendoza et al., 2014), las cuales revelan la existencia de diversos beneficios ambientales, socioeconómicos, alimentarios y nutricionales cuando los productores adoptan el SAQ.



**Figura 2.** Percepción de los productores STQ y SAQ sobre la evolución de los agroecosistemas en los últimos diez años y el impacto en la calidad de vida del hogar. Letras distintas entre las mismas características estudiadas indican diferencias significativas entre STQ y SAQ ( $p < 0,05$ ).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayarza, M. et al., 2010. *Renew. Agricul. and Food Syst.* 25(03), 219-227
- Flora C.B. & Flora J.L. (2013) *Rural communities: legacy and change*, 4th ed.
- Mendoza, A.A.; Mora, J.L. & Manrique, E. 2014. 53ª Reunión Científica de la SEEP. Potes (9-12 junio). pp 540-546.

**Agradecimientos:** Se agradece a los productores encuestados por su colaboración. Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Universidad de Zaragoza y el Banco Santander, como entidades convocantes y patrocinadoras de la beca del primer autor.

### ADOPTION OF A SUSTAINABLE AGROFORESTRY SYSTEM: THE PERCEIVED IMPACT BY SMALL FARMERS IN HONDURAN AGROECOSYSTEMS

**ABSTRACT:** We performed a comparative analysis between small farmers who have adopted an innovative Quesungual slash-and-mulch agroforestry system -QSMAS- and those who continue with the traditional slash-and-burn (SB) system. The empirical study was carried out in the southeast of Honduras, where 50 small farmers (25 SB and 25 QSMAS) completed a survey. Farmers' perceptions were investigated concerning the changes occurring in the agro-ecosystem and in their household quality life during the last 10 years. The main results revealed that those producers who have adopted the QSMAS *versus* SB perceived the presence of positive changes (environmental, socioeconomic and food benefits). Therefore, we may conclude that the QMSAS has great potential to improve small farmer's livelihoods within dry hillside areas.

**Keywords:** Perceptions, household quality life, small farmers, Quesungual slash and mulch agroforestry system.

## **VALORACIÓN DE INDICADORES DE SOSTENIBILIDAD EN DEHESAS POR DIFERENTES GRUPOS DE INTERÉS: APLICACIÓN DE UN ESTUDIO DELPHI**

Mesías, F.J., Escribano, M., Gaspar, P., Elghannam, A. y Eldsouky, A.  
Universidad de Extremadura. Avda. Adolfo Suarez, s/n – 06007 Badajoz. fjesmias@unex.es

### **INTRODUCCIÓN**

Las dehesas se localizan en el suroeste peninsular, ocupando una superficie total de 5,8 millones de hectáreas en España y 0,5 millones de hectáreas en Portugal (Joffre *et al.*, 1999; Gaspar *et al.*, 2008, Horrillo *et al.*, 2016). Los sistemas de producción animal en áreas de dehesas destacan por su alto valor medioambiental y socioeconómico, en los que la actividad ganadera juega un papel esencial en su mantenimiento y conservación, y donde los criterios de sostenibilidad y el máximo respeto de la producción agraria con el medio ambiente, van a ser aspectos claves en la gestión futura de las explotaciones

En este contexto, es preciso medir la importancia de diferentes indicadores de sostenibilidad que nos permitan un uso sencillo en sistemas ganaderos de dehesa y como son valorados éstos por los diferentes grupos de interés. Con este fin se ha constituido un panel de expertos de los ámbitos de: Investigadores de Centros de Investigación y de la Universidad, responsables de la Administración, Ganadería, Asociaciones y Organizaciones Agrarias y, de Organizaciones Medioambientales y de Desarrollo Rural con el que se ha trabajado aplicando el método Delphi.

El método Delphi es quizás el más popular de una serie de métodos de predicción cualitativa. Se ha utilizado como un método para generar predicciones en entornos de incertidumbre, donde no se puede recurrir a técnicas que utilizan información objetiva (Landeta y Barrutia, 2011). Se ha aplicado en campos muy variados, como gestión forestal (Edwards *et al.*, 2011), cambio climático y producción de alimentos (Kirezieva *et al.*, 2015). La metodología Delphi también se ha aplicado recientemente en sistemas agrarios, como por ejemplo en el análisis de tecnologías de monitorización animal (Busse *et al.*, 2015), en la modelización de sistemas de apoyo a la gestión de explotaciones (Tanure *et al.*, 2013), o en la valoración de los servicios ecosistémicos proporcionados por los agrosistemas (Rositano y Ferraro, 2014).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se planteó al panel de expertos una serie de preguntas para las que se les pidió que indicarán el grado de importancia conferida a cada indicador de sostenibilidad en función de su pertinencia o relevancia para medir la sostenibilidad de los sistemas de dehesa. Aunque el desarrollo de varias rondas de consulta con expertos es habitual en estudios Delphi, en este trabajo únicamente se presentan los resultados de una primera ronda.

El cuestionario se estructuró en 6 diferentes bloques o componentes. Dichos componentes se relacionan con la sostenibilidad ambiental, económica y social. Para la valoración de los indicadores se utilizó una escala Likert de 5 puntos desde -2 (Poco importante) a +2 (muy importante).

El requerimiento para seleccionar los panelistas fue tener un buen conocimiento de los sistemas de dehesas, bien desde la perspectiva de la administración, investigación, organizaciones agrarias, organizaciones medioambientales y de desarrollo rural y productores y empresas del sector. Los nombres finales fueron obtenidos por conferencia interna dentro del equipo de investigación, realizándose posteriormente un contacto personal con cada uno de seleccionados, con objeto de explicarles los objetivos y fundamentos de la investigación y obtener un compromiso de participación. El cuestionario se envió a un total de 72 expertos, siendo 36 los participantes finales. En la tabla 1 se representa el número de expertos por grupo que respondieron al cuestionario.

El desarrollo del panel se basó en la herramienta online *Google Docs* ([www.docs.google.com](http://www.docs.google.com)), en la que se diseñaron los cuestionarios y a través de la que se recopilaron las respuestas de los panelistas.

Los datos fueron analizados por medio de análisis de varianza desarrollados con el paquete estadístico SPSS v.19.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se recogen aquellos indicadores de sostenibilidad en los que se encontraron diferencias significativas entre las valoraciones o puntuaciones otorgadas por los grupos de interés. En relación a los usos del suelo y medio ambiente se observó (Tabla 2) que para el indicador “Contenido en materia orgánica del suelo en %”, el grupo que ha asignado una mayor puntuación media es el de universidad/investigación, mientras que el que le ha asignado una puntuación media menor son los grupos de administración y organizaciones medioambientales y de desarrollo rural. Otros indicadores como el “Tamaño de la explotación” tan sólo es considerado importante por los ganaderos. De igual manera, se observa que en el caso del indicador “Producción y consumo de energías renovables”, el grupo que le ha asignado una mayor puntuación media ha sido el de universidad/investigación. Sin embargo, para el indicador “Consumo de combustible fósil en litros/año”, son las asociaciones y organizaciones agrarias las que le han conferido una mayor importancia.

Es preciso destacar que a otros indicadores como el de “Huella de carbono” se les ha asignado una importancia alta por los investigadores mientras que la valoración ha sido neutra por parte del grupo de organizaciones medioambientales y de desarrollo rural. Otros indicadores como “Superficie de la explotación declarada como área natural o bajo protección”, “Diversidad de razas ganaderas autóctonas” y “Razas ganaderas autóctonas en peligro de extinción” han sido valorados de manera negativa por los ganaderos. En el caso del indicador “Diversidad de especies de cultivo”, el grupo que le ha dado la mayor puntuación media ha sido el de las organizaciones medioambientales y de desarrollo rural, mientras que el que le ha asignado la menor puntuación media ha sido el de la administración.

En relación a los indicadores económicos, los ganaderos han asignado la mayor puntuación media al indicador “Margen neto de la actividad ganadera en Euros/UGM”. Dentro de los indicadores de carácter técnico como son el “Intervalo entre partos”, la “Cubrición por monta natural” y “Edad de destete en meses” las mayores puntuaciones han sido asignadas por el grupo de las organizaciones medioambientales y de desarrollo rural.

En relación a los indicadores de carácter social como el “% de mujeres que trabajan en la explotación”, ha recibido la mayor puntuación media por parte del grupo de las asociaciones y organizaciones agrarias, mientras que el grupo de ganaderos le ha otorgado la menor puntuación media al igual que en el caso del indicador que hace referencia a la “Distancia al núcleo de población de más de 10000 habitantes” o “Distancia al matadero más cercano”. Otros indicadores como “Venta directa de los productos” ha sido valorado muy positivamente por las asociaciones y organizaciones agrarias al igual que en caso del indicador “Acceso permanente de los animales a espacios abiertos”.

A la vista de estos resultados se puede concluir que la visión que tienen los distintos grupos de interés sobre qué aspectos son relevantes a la hora de establecer criterios para medir la sostenibilidad es dispar. Por ello es pertinente emplear métodos cualitativos basados en la participación de grupos de interés, para poder así establecer un marco de evaluación de sostenibilidad en sistemas adhesionados que sea consensuado. El método Delphi es una herramienta eficaz para lograr este objetivo y, además, es un método que permite medir la importancia de varios indicadores de forma cualitativa, paso previo para poder establecer un sistema de ponderación de indicadores.

**Tabla 1.** Número de expertos por grupo

GRUPO DE EXPERTOS	NÚMERO DE EXPERTOS
Universidad/Investigación	14
Administración	6
Ganadería	7
Organizaciones medioambientales y de desarrollo rural	4
Asociaciones y organizaciones agrarias	5
TOTAL	36

**Tabla 2.** Puntaciones de los indicadores de sostenibilidad por los grupos de interés.

Indicador	G1	G2	G3	G4	G5	Sig.
Tamaño de la explotación (ha)	0,00	1,30	1,70	0,00	0,20	**
Contenido en materia orgánica del suelo (%)	1,92	1,00	1,57	1,5	1,00	*
Producción y consumo de energías renovables (% sobre total)	1,43	0,00	0,29	1,25	0,60	***
Consumo de combustible fósil (l)	1,21	0,00	0,43	1,75	1,00	**
Huella de carbono (tn de CO <sub>2</sub> e/ha)	1,46	0,40	0,67	1,00	0,00	**
Superficie de la explotación como área natural (%)	1,07	0,83	-0,29	1,25	1,00	**
Diversidad de razas ganaderas autóctonas (nº)	0,69	0,17	0,14	1,00	1,60	*
Razas ganaderas autóctonas en peligro de extinción (nº)	0,69	0,00	0,43	0,75	1,40	***
Diversidad de cultivos	1,08	0,67	0,86	1,00	1,80	**
Margen neto de la actividad ganadera en (Euros/UGM)	1,62	1,17	1,86	0,33	1,40	**
Intervalo entre partos (meses)	0,54	1,17	1,43	0,75	1,80	**
Cubrición por monta natural (Sí/No)	0,38	0,67	1,00	0,50	1,00	***
Edad de destete (meses)	0,08	1,17	0,57	0,67	1,40	**
% Mujeres que trabajadoras	0,57	0,00	-0,14	1,75	0,60	**
Distancia al núcleo de población de más de 10.000 habitantes más cercano (km)	0,79	1,33	0,00	0,25	1,00	*
Venta directa de los productos (Sí/No)	0,71	0,17	1,00	1,75	1,20	*
Acceso permanente de los animales a espacios abiertos (Sí/No)	0,92	1,67	1,00	2,00	1,80	*
Distancia al matadero más cercano (km)	1,00	1,00	0,00	1,25	1,60	*

G1: Centros de Investigación, G2: Administración, G3: Ganadería, G4: Asociaciones y organizaciones agrarias G5: Organizaciones medioambientales y de desarrollo rural.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Busse, M. 2015. *Agric. Syst.* 138, 55–65.
- Edwards, D. 2011. *Ecol. Indic.* 11: 81–89.
- Gaspar, P. 2009. *ITEA* 105(2): 117–141.
- Horrillo, A. 2016. *Agric. Syst.* 143,: 114–125.
- Joffre, R. 1999. *Agroforestry Systems*, 45, 57-79.
- Kirezieva, K. 2015. *Food Res. Int.* 68, 94–107.
- Landeta, J. y Barrutia, J. 2011. *Int. J. Forecast.* 27, 134–151.
- Rositano, F., y Ferraro, D.O. 2014. *Environ. Manag.* 53, 606–619.
- Tanure, S. 2013. *Agric. Syst.* 115, 104–116.

### ASSESSMENT OF SUSTAINABILITY INDICATORS IN DEHESA SYSTEMS BY DIFFERENT STAKEHOLDERS: APPLICATION OF A DELPHI STUDY

**ABSTRACT:** The paper analyzes the importance of different sustainability indicators used in Dehesa agroforestry systems and how they are valued by different stakeholders. To this end, a panel of experts has been established including participants from different backgrounds: Researchers from research institutes and universities, Administration staff, Farmers, members of Agricultural Associations and Organizations, and finally members of Environmental and Rural Development Organizations. A Delphi method has been carried out and the results shown in this paper are related to the first round of the Delphi Panel. It has been found significant differences in the importance given to sustainability indicators among the five groups of stakeholders. Therefore the aspects considered being relevant when establishing criteria for measuring sustainability may vary depending on the stakeholder group.

**Keywords:** Sustainability, dehesas, Delphi method, experts

## RECURSOS EMBEBIDOS EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE CORDERO: UN ANÁLISIS DE EMERGÍA EN SISTEMAS MIXTOS OVINO-CULTIVOS MEDITERRÁNEOS

Rodríguez-Ortega T.<sup>13</sup>, Bernués A.<sup>13</sup>, Olaizola A.M.<sup>23</sup> y Brown M.T.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural, Universidad de Zaragoza, C/ Miguel Servet 177- 50013 Zaragoza, España. <sup>3</sup>Instituto Agroalimentario de Aragón– IA2 - (CITA-Universidad de Zaragoza), Zaragoza, España. <sup>4</sup>Department of Environmental Engineering Sciences, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA. [trodriguez@cita-aragon.es](mailto:trodriguez@cita-aragon.es)

### INTRODUCCIÓN

La agricultura es la principal actividad por la cual la sociedad canaliza los flujos de energía renovable en productos que sostienen el bienestar humano (Rydberg and Haden, 2006). En particular, los sistemas ganaderos basados en el pastoreo tienen la habilidad de convertir amplias áreas de recursos naturales renovables y de libre disposición (y, por tanto, grandes cantidades de energía renovable) en alimentos animales sin competir con usos alternativos como la alimentación humana (Wilkinson, 2011). Sin embargo, la intensificación de la agricultura, incluyendo la producción animal, ha resultado en un incremento del consumo de energía no renovable con insumos como fertilizantes, pesticidas, mecanización, irrigación, etc., todos ellos dependientes de las energías fósiles (Pimentel, 2009). Es decir, la actividad agraria ha cambiado el papel central de la energía solar hacia fuentes de mayor calidad (energía más concentrada) pero no renovables. Sin embargo, las decrecientes reservas de petróleo, los impactos ambientales de su consumo y la búsqueda de actividades más sostenibles, hacen que la asignación de recursos energéticos sea una tarea central en agricultura, donde múltiples fuentes de materiales y energía pueden ser usados bajo diferentes sistemas de producción. En este contexto, nuestro objetivo fue cuantificar la contribución de los recursos naturales a la sostenibilidad de varios sistemas de producción mixtos ovino-cultivos, y de sus productos, en particular la carne de cordero.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un análisis de emergía (Odum, 1996) en tres explotaciones mixtas de ovino-cultivos Mediterráneos en el noreste español (Aragón) con diferentes grados de especialización, integración e intensificación de la producción. La emergía es la energía directa e indirecta embebida en un producto o servicio que es calculada considerando las diferentes calidades de las energías involucradas en el proceso de producción y expresándolas en una única unidad (emergía solar, medida en “sej” –solar emjoules–). La metodología sigue tres pasos: i) dibujar los diagramas de emergía que definen los límites del sistema (explotación) y establecen las relaciones entre componentes y procesos que conducen los flujos de emergía desde la naturaleza y la economía hasta los productos; ii) construir las tablas de emergía (una por cada producto) para organizar los diferentes insumos (alimentación, fertilizante, combustible, equipamiento, trabajo, etc.), sus cantidades y sus valores de emergía unitarios (procedentes de la bibliografía), para así convertirlos a emergía solar; iii) calcular los índices de emergía, que relacionan los flujos de emergía de la naturaleza con aquellos provenientes de la economía y que, en último término, nos proporcionan información sobre la sostenibilidad de los diferentes sistemas de producción y de sus productos y posibilidades de comparación con otras alternativas (Brown *et al.*, 2000). Las explotaciones analizadas se seleccionaron a partir de tipologías previas y se definieron como representativas de los sistemas “especializado en ovino-pastos de montaña” (E.O-PM), “mixto integrado ovino-cultivos permanentes” (MI.O-CP) y “mixto parcialmente integrado ovino-cultivos agrícolas” (MPI.O-CA) de acuerdo a encuestas iniciales (2014) y seguimientos durante un año agrícola (2014-2015), en el que también se recogieron datos de los insumos para el análisis de emergía (más detalles metodológicos y descripción de explotaciones en Rodríguez-Ortega *et al.* (2017)). La Tabla 1 muestra algunas características de los tres sistemas y sus estrategias de alimentación. La alimentación, que conlleva frecuentemente otros insumos como fertilizantes y pesticidas, es el aspecto más importante, tanto en términos económicos como energéticos, en la producción de carne de cordero.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La carne de cordero no presentó valores únicos de emergencia, sino un rango de valores de acuerdo a los diferentes sistemas de producción. La Figura 1 muestra que los valores de *eficiencia emergética* (energía necesaria para producir un julio de carne) de los sistemas E.O-PM y Ml.O-CP fueron inferiores (requirieron más sej por J de carne) que los del sistema MPI.O-AC debido a que este último mostró una productividad animal más elevada. Sin embargo, la emergencia en el sistema E.O-PM se originó en más del 60% de recursos naturales, en su mayoría renovables, debido al predominante uso de pastos semi-naturales. El uso de recursos naturales no llegó al 55% en el sistema MPI.O-AC, de los cuales sólo un 26% fueron renovables, por el mayor uso de superficies agrícolas; mostrando el sistema Ml.O-CP valores intermedios. Al analizar otros indicadores (Figura 2), se observó que la *intensificación*, aunque produce más carne de cordero por unidad de energía empleada, resulta en productos con un mayor *estrés ambiental* y una menor *auto-suficiencia*, contribuyendo a una menor *renovabilidad* y *sostenibilidad*. Así, la producción de carne de cordero fue 1,9 y 1,3 veces más intensiva y eficiente, respectivamente, en el sistema MPI.O-AC que en el basado en el pastoreo (E.O-PM), pero 5,1 veces menos sostenible. Los trade-offs entre intensificación y sostenibilidad, frecuentes en los sistemas productivos (Ripoll-Bosch *et al.*, 2012), plantean un reto a la “intensificación sostenible” de la agricultura. No obstante, la intensificación no siempre implica mayor eficiencia debido a manejos por debajo del óptimo (baja prolificidad del sistema Ml.O-CP), lo que sugiere que un mejor manejo en casos particulares podría mantener o incrementar la eficiencia y la sostenibilidad disminuyendo la intensidad. En términos económicos, la producción extensiva puede ser más resiliente a las inestabilidades del mercado, aunque también es más vulnerable a la variabilidad climática, como se observa en la alta *dependencia* del sistema E.O-PM debido a la escasez de pastos durante la lactación. Sin embargo, la emergencia ambiental, predominante en la producción extensiva, no se reconoce en el precio de la carne de cordero, tal y como muestra el indicador de *energía intercambiada*, que relaciona la energía de la carne con la representada en el dinero pagado por ella al ser comercializada por el ganadero. Como señalan Campbell and Tilley (2014), la emergencia ambiental del sector primario no es tan valorada como en otros sectores de la economía.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brown, M.T. et al., 2000. In: Brown, M.T. (Ed.), Proceedings from the First Biennial Energy Analysis Research Conference, Centre for Environmental Policy, Gainesville, FL, 1999, pp. 1–14.
- Campbell, E.T. & Tilley, D.R., 2014. *Ecosyst. Serv.* 7, 128-140.
- Odum, H.T., 1996. John Wiley & Sons, Inc.
- Pimentel, D., 2009. *Energ.* 2, 1-24.
- Ripoll-Bosch, R. et al., 2012. *Agr. Syst.* 105, 46-56.
- Rodríguez-Ortega, T. et al., 2017. *J. Cleaner Prod.* 144, 171-179.
- Rydberg, T. & Haden, A.C., 2006. *Agric., Ecosyst. Environ.* 117, 145-158.
- Wilkinson, J.M., 2011. *Anim.* 5, 1014-1022.

**Agradecimientos:** Proyecto INIA RTA2011-00133-C02-02, beca pre-doctoral INIA del primer autor y la colaboración de los ganaderos.

**Tabla 1.** Descripción de las explotaciones analizadas.

	Especializado O-PM	Mixto integrado O-CP	Mixto parcialmente integrado O-CA
Número de ovejas	1150	550	510
Prolificidad (nº corderos/nº partos)	1,37	1,29	1,55
Tiempo de pastoreo total, TPT (% anual)	93	78	25
Vegetación semi-natural (% de TPT)	68.5	2.5	1.2
Cultivos forrajeros (% de TPT)	29.2	86.0	34.0
Rastrojeras (% de TPT)	2.3	11.5	64.8
Cultivos cosechados (kg materia seca)	8922	68738	373592
Alimentación propia (% de integración)	100	100	35
Alimentación externa (t de concentrado)	187	23,9	61,5

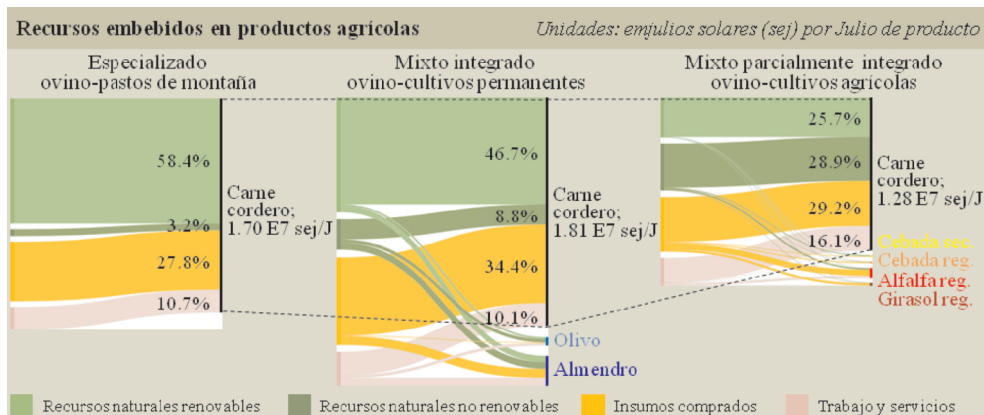


Figura 1. Origen de los recursos embebidos en los productos agrícolas.

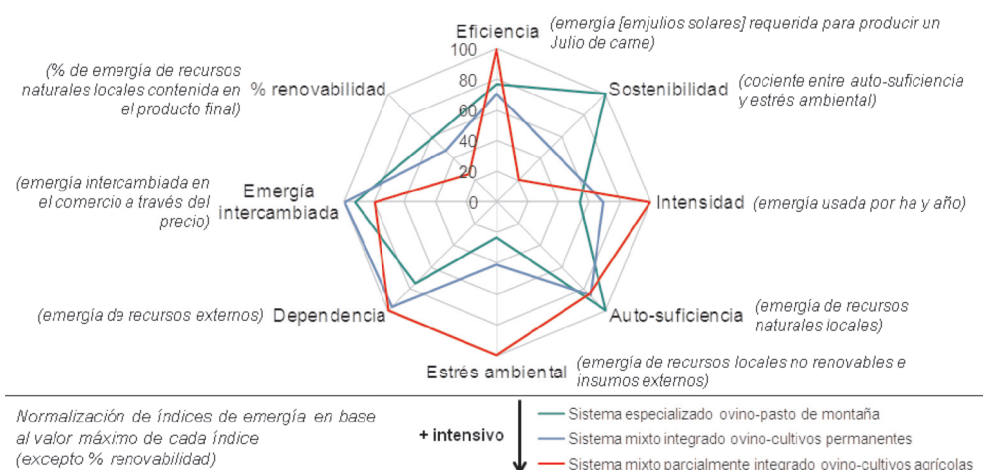


Figura 2. Índices de energía en la producción de carne de cordero.

## RESOURCE EMBODIMENT IN LAMB MEAT PRODUCTION: AN EMERGY ANALYSIS IN MEDITERRANEAN SHEEP-CROP FARMING SYSTEMS

**ABSTRACT:** The embodiment of resources in agricultural products depends on the way they are made, i.e., the production system. We applied emergy analysis on three contrasting sheep-crop farming systems according to different degrees of specialization, integration and intensification of production in Mediterranean Spain. We studied emergy values and indices of lamb meat production (and other agricultural products not presented here). We found that the different feeding strategies of each system, which are combined with other inputs such as fertilizers and pesticides, have a high impact on meat production indicators. Thus, lamb meat production was 1.9 and 1.3 times more intensive and efficient, respectively, in the partially-integrated mixed system than in the pasture-based sheep system, but 5.1 times less sustainable. Our findings suggest that further support of agricultural development based on local and renewable natural resources and best practices is necessary to ensure long-term farming sustainability and social welfare.

**Keywords:** farm management, sustainability, intensification, efficiency.



## LA RESPUESTA AL ESQUILEO DURANTE EL ORDEÑO VARÍA SEGÚN LA RAZA DE OVEJAS LECHERAS

Elhadi, A.<sup>1</sup>, Salama, A.A.K.<sup>1</sup>, Such, X.<sup>1</sup>, Albanell, E.<sup>1</sup>, y Caja, G.<sup>1</sup>  
Toral, P.G.<sup>2</sup>, Hervás, G.<sup>2</sup> y Frutos, P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España. <sup>2</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas, Grulleros, León, España. [abdelalaali.elhadi@uab.cat](mailto:abdelalaali.elhadi@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

El esquila es una práctica ganadera que se realiza, tanto por la lana, como para mejorar el bienestar y la producción de los ovinos. Como resultado, se modifican los límites de la zona termo-neutra y se inducen respuestas adaptativas para mantener la homeostasis de los ovinos (Russel et al., 1985; Symonds et al., 1988; Aleksiev, 2008). Además, el esquila aumenta la transferencia de calor animal-ambiente, especialmente en condiciones de frío, lo que eleva el ritmo metabólico y la producción de calor, lo que tiene especial utilidad a final de la gestación (Cam y Kuran, 2004). Piccione et al. (2002) observaron una elevación de 1°C en la temperatura corporal de las ovejas después del esquila, como reacción al estrés por frío. En los países mediterráneos, el esquila se realiza al principio del verano y, en España, es habitual esquilar a mediados de mayo, antes de iniciar la monta y de llegar el calor. Existe poca información sobre los efectos directos del esquila en ovejas lecheras en plena lactación, con resultados contradictorios en producción y composición de leche (Aleksiev, 2008; Rassu et al., 2009). Esquilar ovejas lecheras durante el periodo de ordeño en invierno, debería reducir la temperatura corporal, lo que aumentaría el ritmo metabólico y la ingestión de alimento. Este efecto podría también aumentar la producción de la leche o modificar su composición, debido al cambio de los perfiles hormonales y de partición de nutrientes entre reservas corporales y ubre.

El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta al esquila de 2 razas de ovejas lecheras, de diferente nivel de producción y composición de la leche, durante la lactación y en condiciones de estabulación en invierno.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y manejo:** Se utilizaron 48 ovejas lecheras de raza Manchega (MN, n = 24) y Lacaune (LC, n = 24) del Servicio de Granjas y Campos Experimentales de la UAB en Bellaterra. La ración consistió en heno de alfalfa *ad libitum* y concentrado que se ofreció individualmente en la sala de ordeño en dos porciones de acuerdo con sus necesidades (MN, 450 g/d; LC, 650 g/d) estimadas utilizando el programa INRation (v.4.06).

**Tratamientos experimentales:** El experimento duró 6 semanas, centrado en el tratamiento de esquila, y consistió en un diseño factorial 2x2 (raza x tratamiento) con grupos equilibrados de 6 ovejas, cada uno, asignados al azar. Los tratamientos fueron:

- Control (CO) sin esquilar desde el año anterior (MN, n = 12; LC = 12).
- Esquiladas (ES) a mitad del experimento (MN, n = 12; LC = 12).

Todas las ovejas se adaptaron a la ración 2 sem antes de iniciar el periodo de medición,

**Ordeño y control lechero:** El ordeño se realizó 2 veces al día (7 y 17 h) en una sala 2x12 con línea alta (Amarre Azul-1, DeLaval, Alcobendas) y 12 unidades de ordeño (DeLaval SG-TF100) con medidores automáticos (MM25SG). Los parámetros de funcionamiento fueron de 40 kPa, 120 p/min y 50% y la desconexión de pezoneras por flujo (<0,1 L/min) o tiempo (>3 min). Los pezones se desinfectaron al acabar el ordeño en una solución iodada (P3-iodshield, Ecolab Hispano-Portuguesa, Barcelona).

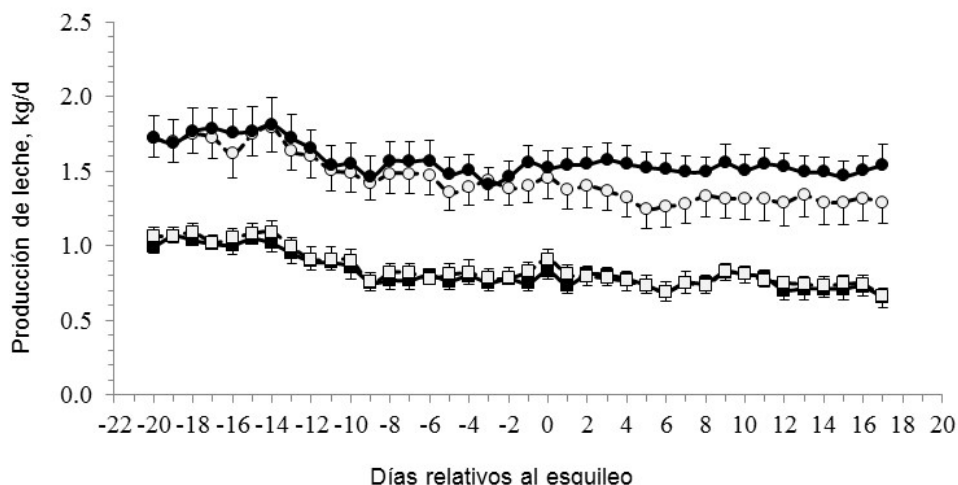
**Procedimientos de muestreo y medida:** La producción de leche se controló diariamente durante todo el experimento. La composición de leche se analizó (NIRSystems 5000, Foss, Hilleröd, Dinamarca) para cada oveja los d -3, 3, 5, 7 y 15, con respecto al esquila. El perfil de ácidos grasos (AG) de muestras de leche (d -4, 3 y 15) de cada grupo se analizó por cromatografía de gases (Toral et al., 2015) a partir de la grasa separada por centrifugación (1000 x g). El peso y la condición corporal de las ovejas se evaluaron los d -15, 0 y 15. La extensión del vellón se valoró subjetivamente antes de esquilar utilizando una escala de 3 puntos (precisión, ±0,5 puntos). El vellón esquilado se pesó utilizando una báscula electrónica (precisión, ±50 g). Las cantidades de ración ofrecida y rechazada se midieron a diario en cada grupo de 6 ovejas. La temperatura rectal se registró los d -1, 1, 3, 7 y 15,

utilizando un termómetro clínico digital (precisión,  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ). Por otro lado, se tomaron muestras de sangre de la yugular los días -7, 3, 7 y 15 para análisis de glucosa, NEFA, insulina, cortisol e IGF-1 en plasma.

**Análisis estadístico:** Se utilizó un modelo mixto mediante PROC MIXED para mediciones repetidas de SAS (v.9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Las medias se expresaron como LSM y se separaron mediante PDIFF a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La temperatura ambiente durante el experimento fue de  $12,6 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ . El peso de lana de las ovejas LC fue menor que en las MN ( $0,75 \pm 0,09$  vs.  $1,04 \pm 0,10$  kg/oveja;  $P = 0,038$ ) y su vellón tendió a ser menos extenso que en MN ( $1,39 \pm 0,07$  vs.  $1,95 \pm 0,13$ ;  $P = 0,079$ ), respectivamente. Consecuentemente, pese a la suave temperatura del aprisco, se observó una mayor disminución de la temperatura corporal entre CO y ES, en las MN ( $-0,36 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$ ;  $P < 0,001$ ) que en las LC ( $-0,01 \pm 0,09^{\circ}\text{C}$ ;  $P = 0,931$ ). Además, la ingestión aumentó un 5% en LC-ES vs. LC-CO ( $3,01 \pm 0,04$  vs.  $2,86 \pm 0,04$ ;  $P = 0,002$ ), pero no en MN ( $2,50 \pm 0,04$  kg MS/d;  $P = 0,381$ ). Como respuesta, LC-ES aumentaron un 10% ( $P = 0,049$ ) su producción de la leche respecto a LC-CO (Figura 1).



**Figura 1.** Efecto del esquila (CO, control; ES, esquiladas) en la producción de leche de ovejas Lacaune (○, LC-CO; ●, LC-ES) y Manchega (□, MN-CO; ■, MN-ES).

En el caso de las ovejas MN, no se detectó diferencia en la producción de leche ( $P = 0,261$ ), de acuerdo con McBride et al. (1984) y Aleksiev (2008) en ovejas cruzadas Suffolk y Tsigai esquiladas durante la lactación, respectivamente. Ruíz et al. (2008) tampoco encontraron efectos en la producción de leche de ovejas Latxa esquiladas al final de gestación.

Por otro lado, no se observaron diferencias en la composición de la leche entre tratamientos en ambas razas (Tabla 1), aunque las LC, las producciones diarias de proteína (9%,  $P = 0,044$ ) y lactosa (10%,  $P = 0,012$ ) fueron mayores en LC-ES que en LC-CO, de acuerdo con de producción de leche anteriormente comentado. El perfil de AG de la leche no varió entre tratamientos en la LC (Tabla 1), pero mostró tendencias a aumentar en el contenido total de AG saturados (1%;  $P = 0,104$ ) y disminuir en el total de AG poli-insaturados (-2%;  $P = 0,057$ ) en las ovejas MN (Tabla 1), lo que parece indicar el uso de las reservas de grasa en las MN. Sin embargo, estas diferencias no llegaron a afectar a los índices de aterogenicidad o de actividad de la  $\Delta 9$  desaturasa (Bouattour et al., 2008) del perfil de AG de la leche.

No se observaron diferencias en los resultados de los metabolitos (glucosa, NEFA) y hormonas (insulina y cortisol) analizadas en el plasma de las ovejas durante el período experimental ( $P = 0,119$  a  $0,893$ ; Tabla 1), excepto un aumento del 3% en la glucosa de las ovejas MN-ES en comparación con las ovejas MN-CO ( $P = 0,050$ ).

**Tabla 1.** Efectos del esquila en los indicadores metabólicos en plasma, la composición de leche y su perfil lipídico (g/100 g AG totales) en 2 razas de ovejas lecheras.

Raza	Item	Control	Esquiladas	SEM	P =
Lacaune	Insulina, ng/mL	0,43	0,44	0,08	0,893
	Cortisol, ng/mL	6,54	5,41	0,74	0,293
	AGNE <sup>1</sup> , mmol/L	0,125	0,095	0,014	0,119
	Glucosa, mg/100 mL	65,7	66,2	1,1	0,765
	Grasa, %	6,89	6,65	0,22	0,401
	Proteína, %	5,80	5,74	0,06	0,495
	Células somáticas, log <sub>10</sub>	5,36	5,24	0,16	0,608
	AG saturados, % AG	70,9	70,3	0,8	0,584
	AG mono insaturados, % AG	22,8	23,3	0,6	0,591
	AG poli-insaturados, % AG	6,2	6,4	0,2	0,681
Manchega	Insulina, ng/mL	0,34	0,40	0,05	0,388
	Cortisol, ng/mL	5,64	3,81	1,13	0,268
	AGNE, mmol/L	0,115	0,100	0,008	0,172
	Glucosa, mg/100 mL	63,2	65,2	0,7	0,050
	Grasa, %	8,98	9,14	0,18	0,514
	Proteína, %	6,50	6,59	0,10	0,545
	Células somáticas, log <sub>10</sub>	5,09	5,36	0,12	0,139
	AG saturados, % AG	70,2	70,8	0,1	0,104
	AG mono insaturados, % AG	23,4	23,0	0,2	0,232
	AG poli-insaturados, % AG	6,4	6,3	0,1	0,057

<sup>1</sup>: Ácidos grasos no esterificados

**Agradecimientos:** Proyecto AGL-2013-44061-R (Plan Nacional, MINECO, España) y al Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ) por la beca de M.Sci. a A. Elhadi.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aleksiev, Y. 2008. Bulg. J. Agric. Sci. 14:87-92
- Bouattour, M.A., Casals, R., Albanell, E., Such, X. & Caja, G. 2008. J. Dairy Sci. 91:2399-2407
- Cam, M.A. & Kuran, M. 2004. J. Anim. Sci. 17:1669-1673
- McBride, G. & Christopherson, R. 1984. Can. J. Anim. Sci. 64:379-389
- Piccione, G., Caola, G. & Refinetti, R. 2002. Small Rumin. Res. 46:211-215
- Rassu, S.P.G., Manca, M.G., Dias Francesconi, A.H., Mereu, A. & Nudda, A. 2009. Ital. J. Anim. Sci. 8:462
- Ruíz, R., García, A., Ugarte, E., Arranz, J., Beltrán, D.I. & Oregui, L.M. 2008. EAAP Annual meeting, Vilnius, p. 194 (Abstr.)
- Russel, A., Armstrong, R. & White, I. 1985. Anim. Prod. 40:47-53
- Symonds, M., Bryant, M. & Lomax, M. 1988. J. Agric. Sci. 111:137-145
- Toral, P.G., Hervás, G., Carreño, D. & Frutos, P. 2015. J. Dairy Sci. 99:1133-1144.

#### RESPONSE TO SHEARING DURING MILKING VARIES BY BREED OF DAIRY EWES

**ABSTRACT:** The effects of shearing during milking were studied in 2 breeds of dairy ewes (Manchega, n = 24; Lacaune (n = 24). Ewes were penned indoors under mildwinter conditions and fed ad libitum. Treatments were: CO (control) and ES (shorn). Fleece was heavier in MN and rectal temperature only varied in MN-ES ewes (-0.37°C). Lactational responses to shearing varied according to breed, the results in LC being most marked than in MN. Feed intake increased in LC-ES (5%; P = 0.002), compared to LC-CO, but did not vary in MN ewes. As a result, LC-ES ewes yielded 10% more milk (1.38 ± 0.06 vs. 1.52 ± 0.05 L/d; P = 0.049) than LC-CO ewes, but no differences were detected in MN ewes (0.74 ± 0.03 L/d; P = 0.261). Shearing did not change milk composition and plasma values, BW and BCS. In conclusion, shearing lactating ewes during winter, is a suitable management option for improving intake and milk production of high-yielding dairy ewes, without deleterious effects neither on physiological indicators nor milk composition.

**Keywords:** dairy sheep, lactation, milking, shearing

## MODELIZACIÓN DEL EFECTO DEL ESTRÉS POR CALOR EN DIFERENTES ZONAS DE ESPAÑA Y EL IMPACTO TÉCNICO Y ECONÓMICO DE LAS MEDIDAS DE CONTROL/REDUCCIÓN

Espinoza, O. y Calsamiglia, S.

Servei de Nutrició i Benestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona. [sergio.calsamiglia@uab.cat](mailto:sergio.calsamiglia@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

El estrés calórico (**EC**) en las vacas lecheras es resultado de la combinación de una serie de factores ambientales que provoca la disminución de la producción de leche y la fertilidad (Kadzere et al., 2002). El grado de las consecuencias económicas del EC son muy variables, ya que dependen de un gran número de factores (región geográfica, manejo, genética, precio de leche, etc.) (Dhuyvetter et al., 2002). La principal estrategia para reducir el impacto del EC se basa en sistemas de enfriamiento evaporativos (**SEE**) aspersores y ventiladores (Chen et al., 2016). La evaluación en la rentabilidad de este tipo de inversiones a medio y largo plazo puede resultar complicada debido al gran número de factores técnicos y sus interacciones que deben de ser contempladas para una aproximación más realista, lo cual solo puede ser logrado mediante modelos matemáticos complejos. El uso de una herramienta de simulación probabilística en la que el usuario pueda configurar las características propias de la granja, ha demostrado ser capaz de explorar estas consecuencias a medio y largo plazo de una manera accesible y practica (Calsamiglia et al., 2016). El objetivo del presente trabajo pretendió mediante el uso de un modelo de simulación de granjas, evaluar los efectos del EC y el impacto técnico y económico de sistemas de enfriamiento evaporativos en 3 zonas de España.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la estimación de los efectos del EC se obtuvieron datos climatológicos históricos diarios (24 h) de temperatura (° C) y humedad relativa (HR %) de los años 2006 a 2016, de 3 zonas de España, Dos Hermanas en Andalucía (**DH**), Toledo en Castilla de la Mancha (**TL**) y Lugo en Galicia (**LG**) (SiAR, 2016). Posteriormente se calculó el índice de temperatura y humedad (**ITH**) diario de acuerdo a la fórmula del NRC (1971). El valor de ITH establecido al cual se empezaban a observar los efectos del EC fue  $\geq 68$  (Zimelman et al., 2009). A partir de estos cálculos se empleó el modelo propuesto por St. Pierre (2003), para calcular la duración del EC y la disminución de la producción de leche. Para simular los efectos del EC y el impacto del SEE durante 5 años, se utilizó un modelo de simulación de granjas estocástico disponible en línea ([www.simuladordegranjas.es](http://www.simuladordegranjas.es)), en el cual se crearon 3 granjas con las mismas características técnicas y economías. La cuales fueron granjas de 300 vacas, 30,5 l/vaca presente (10800 l/vaca/año), una tasa de preñez del 15 % y un precio de leche de 0,310 euros litro. En las cuales se simularon 3 escenarios para cada una de las zonas estudiadas; (1) **CTR** (Control), (2) **EC** (Efectos del EC) y (3) **EC+SEE** (Efectos del EC mas el impacto del SEE). Para los efectos del EC y EC+SEE se seleccionó en la interfaz del simulador un efecto severo para DH, normal para TL y ligero para LG los cuales solo se ajustaron para coincidir con los cálculos realizados anteriormente (Tabla. 1). La reducción de los efectos del EC por el SEE fue de un 50 %. La inversión inicial en los SEE los cuales constaba con ventiladores y aspersores se calculó en 65 euros vaca con una amortización a 7 años, los costes variables de mantenimiento, agua y electricidad del sistema fueron de 6 euros vaca/mes de funcionamiento.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ITH con las medias mensuales de 10 años para cada zona se muestra en la Figura 1. DH muestra la carga más elevada de unidades de ITH al año con 12672 seguida de TL 8633 y LG 2228, lo cual representa una pérdida de producción de leche en litros año para DH de 738, TL 461 y LG 95. El margen bruto fue superior en los entornos de EC+SEE, que en EC en DH y TL, aunque no supero al CTR. Los costes de alimentación se elevaron en las 3 zonas debido a efecto del SEE, aun así, resulto rentable en DH y LG. En 5 años de

simulación el aumento de margen de ganancia logró que el retorno de inversión se viera reflejado a partir del año 3 para DH y 4 para TL. La amplia gama de factores contemplados y proyecciones que pueden llevarse a cabo en el simulador permiten realizar aproximaciones realistas de posibles inversiones que se puedan llevar a cabo en las granjas lecheras, y esto en cierta medida aumentar la rentabilidad de las granjas.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Calsamiglia, S., Castillejos, L., Astiz, S., López, C., & Baucells, J. 2016. Herd Health Magnament: Dairy, WBC-716.
- Chen, J., Schütz, K., Tucker, C. 2016. J. Dairy Sci. 99: 4607-4618.
- Dhuyvetter, K., Kastens, T., Brouk, M., Smith, J., & Harner J. 2000. Heart of America Dairy Management Conf., St. Joseph, MO.
- NRC. 1971. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Kadzere, C., Murphy, M., Silanikove, N., & Maltz, E. 2002. Livest. Prod. Sci. 77:59–91.
- SiAR. Sistema de Información Agroclimática para el Regadío. (Acceso 15 de enero de 2017, <http://portal.magrama.gob.es/websiar/Inicio.aspx>).
- St-Pierre, N., Cobanov, B., & Schnitkey, G. 2003. J. Dairy Sci. 86 (E.Suppl.): 52–77.
- Zimbelman, R., Rhoads, R., Rhoads, M., Duff, G., Baumgard, L., & Collier, R. 2009. Paginas 158–168 en Proc. Southwest Nutrition and Management Conference, Tempe, AZ. Collier R., ed. Uni. of Arizona, Tucson.

### MODELING THE HEAT STRESS EFFECTS IN DIFERENTS ZONES IN SPAIN AND THE TECHNICAL AND ECONOMIC IMPACTS OF THE CONTROL AND REDUCTION ACTIONS

**ABSTRACT:** One of the most important causes of profitability reduction in dairy farms are the consequences of heat stress that drive to milk production losses and fertility. To estimate and evaluate these consequences it can be difficult for the large number of factors that need to be counted. For this reason, the present study pretended to evaluate these consequences in 3 zones of Spain using a dairy farms simulator tool. Climatic data from Dos Hermanas, Toledo and Lugo where incorporated to a model to estimate the effects of heat stress. After this in the dairy farms simulator 3 different scenarios were created CTR (No Heat stress effects), EC (Heat stress effects) and EC+SEE (Heat stress effects and cooling system). The results of this study show and increment in dairy farm profitability in Dos Hermanas and Toledo, but not for Lugo.

**Keywords:** Dairy, Heat Stress, Cooling.

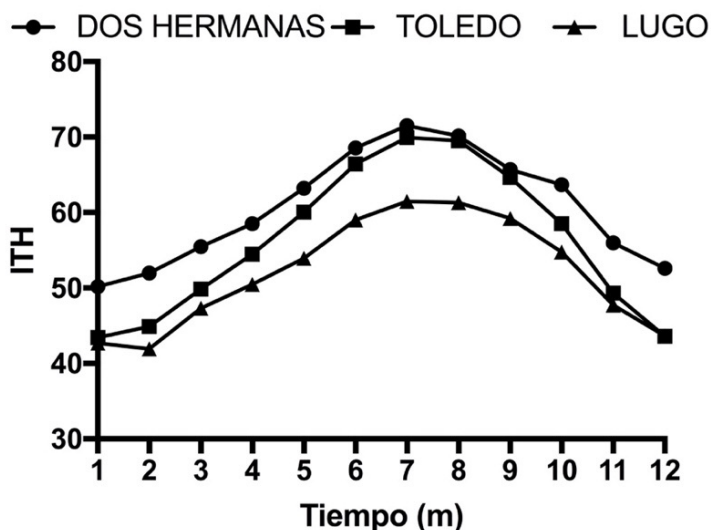
**Tabla 1.** Perfil de entradas para simular los efectos del EC y el estrés calórico más enfriamiento (EC+SEE).

	EC			EC+SEE		
	DH <sup>1</sup>	TL <sup>2</sup>	LG <sup>3</sup>	DH <sup>1</sup>	TL <sup>2</sup>	LG <sup>3</sup>
Perdida de producción de leche (%)	30	25	10	15	12	5
Disminución de la ingesta de MS <sup>4</sup> (%)	25	20	15	12	10	7
Disminución en la fertilidad (%)	55	50	45	27	25	22
Disminución proteína (%)	12	8	4	6	4	2
Disminución grasa (%)	12	8	4	6	4	2
Disminución de detección de celos (%)	55	50	25	22	25	40
Tiempo del efecto (Meses)	4	3	2	4	3	2

<sup>1</sup>Severo, <sup>2</sup>Moderado, <sup>3</sup>Ligero, <sup>4</sup>Materia seca.

**Tabla 2.** Efectos del estrés calórico (EC) y el impacto técnico económico de la inversión en sistemas de enfriamiento (EC+E) con 5 años de simulación para cada zona.

	CTR	EC			EC+SEE		
		DH	TL	LG	DH	TL	LG
<b>Indicadores técnicos</b>							
Producción de leche (l/día)	30.8	28.6	29.1	30.3	29.8	29.8	30.7
Pérdida producción de leche (l/vaca/año)	-	852	651	210	365	394	64
Carga de ITH (unidades/año)	-	12672	8633	2228	12672	8633	2228
Grasa (%)	3.72	3.57	3.67	3.65	3.68	3.75	3.68
Proteína (%)	3.23	3.11	3.14	3.22	3.12	3.25	3.19
Días abiertos (d)	160	163	171	165	164	160	159
Tasa de preñez (%)	14	12	12	13	13	14	13
<b>Indicadores económicos</b>							
Costo alimentación (€/vaca/año)	2157	1980	2017	2102	2068	2085	2128
Ingresos de venta de Leche (€x1000 año)	1060	962	997	1035	1019	1072	1096
Margen bruto (€/vaca/año)	269	144	213	253	190	240	248
Margen bruto (€/año)	80750	43204	64084	76137	57263	72030	74430



**Figura 1.** Patrón medio mensual de los años 2006-2016, del índice de temperatura y humedad (ITH), para cada una de las zonas estudiadas.

## **EFFECTO DE LA BASE GENÉTICA SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS Y ECONÓMICOS AL DESTETE DE EXPLOTACIONES DE DEHESA: INFORMACIÓN PRELIMINAR**

Mariscal, G., Callejo, A. y Daza, A.

Departamento de Producción Agraria, E T S de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica, Ciudad Universitaria 28040 Madrid.

[argimiro.daza@upm.es](mailto:argimiro.daza@upm.es)

### **INTRODUCCIÓN**

Como consecuencia de las elevadas exigencias de los cebaderos industriales, en aras a la reducción del coste de producción del añojo cebado, hemos asistido, en las últimas décadas, en el ecosistema de la Dehesa, a una clara regresión de la explotación de vientres autóctonos y paralelamente a una inusitada expansión de la explotación de vacas cruzadas y de vacas de razas de marcada aptitud cárnica tales como la Charolés, Limusín, Rubia de Aquitania, etc. Dada la importancia censal y el apreciable peso económico que el subsector del vacuno de carne productor de terneros al destete tiene en la Dehesa y el cambio de escenario genético acontecido en los últimos años en dicho ecosistema, hemos planteado un trabajo descriptivo cuyo objetivo fundamental es, mediante la realización de encuestas cortas y sencillas a los ganaderos, estudiar la influencia de la base genética actual de las explotaciones de vacas de cría de la Dehesa sobre sus resultados técnicos y económicos al destete.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se han recabado datos de 18 explotaciones de vacas de cría situadas en la comarca de Cáceres-Trujillo, correspondientes a la campaña ganadera de 1 de octubre de 2015 a 30 de septiembre de 2016. Las explotaciones del estudio observaban paridera continua y produjeron terneros al destete de cuatro tipos genéticos distintos: Charolés en pureza (CHxCH), Charolés x (Charolés x Retinta) CH x (CHxR), Limusín x (Charolés x Retinta) LI x (CHxR) y Limusín en pureza (LlxLI). Los datos obtenidos en cada explotación fueron: vacas productivas presentes, vacas que parieron, terneros nacidos, terneros muertos al nacimiento, terneros muertos durante la lactación, carga ganadera (CG), número de toros sementales y número de novillas para reposición. Con los datos recabados se calcularon la fertilidad anual (FA), mortalidad de terneros al nacimiento (MN), mortalidad de terneros durante la lactación (ML) y productividad numérica al destete por vaca (PND<sub>v</sub>) y por hectárea (PND<sub>ha</sub>). Se estimó la suplementación alimenticia, según productividad de cada tipo de explotación, como la diferencia entre las necesidades energética de la vaca tipo (INRA, 2007) y las disponibilidades de pasto de las explotaciones (Jiménez Mozo et al., 1987) y su coste correspondiente (SA). Se consideraron, además, los costes de amortización del ganado (AG), higiosanitarios (H), mano de obra (MO), transporte (T) y varios (V), así como los ingresos por vaca (I<sub>v</sub>) y por hectárea (I<sub>ha</sub>) derivados de la producción de terneros al destete. Los márgenes brutos por vaca (MB<sub>v</sub>) y por hectárea (MB<sub>ha</sub>) se obtuvieron como la diferencia entre ingresos y costes. Los datos recabados se analizaron mediante análisis de varianza con el tipo genético de la explotación como factor principal y como covariables la relación vacas/toro para la FA, la carga ganadera para las variables dependientes PND<sub>ha</sub>, SA, V, CT<sub>v</sub>, CT<sub>ha</sub>, I<sub>ha</sub>, MB<sub>v</sub> y MB<sub>ha</sub> y el tamaño de explotación para las variables MO, T, CT<sub>v</sub>, CT<sub>ha</sub>, I<sub>ha</sub>, MB<sub>v</sub> y MB<sub>ha</sub>. Mediante regresión se relacionaron varias variables. Todos los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS16.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La fertilidad anual fue significativamente superior ( $P < 0,05$ ) en las explotaciones LlxLI que en las CHxCH y de vacas cruzadas CHx(CHxR). Las explotaciones CHxCH presentaron una mortalidad de terneros al nacimiento más elevada que las obtenidas en las explotaciones CHx(CHxR) y Llx(CHxR) y similar que la observada en las LlxLI. El tipo genético no tuvo efecto significativo sobre la mortalidad de terneros durante la lactación y las productividades numéricas al destete por vaca y por hectárea fueron significativamente superiores en las explotaciones LlxLI y Llx(CHxR) que en las CHxCH y CHx(CHxR) (Tabla 1). La relación

encontrada entre fertilidad anual (FA) y relación vacas/toros (V/T) respondió a la ecuación de regresión:  $FA = 1,136 - 0,0629 \ln(V/T)$  ( $R^2 = 0,33$ ,  $RSD = 0,035$ ,  $P < 0,012$ ).

**Tabla 1. Efecto del tipo genético sobre los resultados productivos al destete.**

Variable	Tipo genético				eem	P <
	CH x CH	CH x (CH x R)	LI x (CH x R)	LI x LI		
n	4	4	7	3		
Nº vacas	79,94 <sup>a</sup>	48,00 <sup>b</sup>	29,41 <sup>bc</sup>	10,62 <sup>c</sup>	9,64	0,0008
FA	0,92 <sup>c</sup>	0,89 <sup>bc</sup>	0,95 <sup>ab</sup>	0,97 <sup>a</sup>	0,014	0,007
MN %	9,13 <sup>a</sup>	4,22 <sup>b</sup>	2,69 <sup>b</sup>	6,51 <sup>ab</sup>	1,41	0,027
ML %	3,56	2,56	2,75	0,00	1,16	0,33
PND <sub>v</sub>	0,80 <sup>b</sup>	0,83 <sup>b</sup>	0,90 <sup>a</sup>	0,91 <sup>a</sup>	0,014	0,0004
PND <sub>ha</sub>	0,35 <sup>b</sup>	0,35 <sup>b</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,007	0,003

n = nº de explotaciones, FA = fertilidad anual, MN = mortalidad de terneros al nacimiento, ML = mortalidad de terneros durante la lactación, PND<sub>v</sub> = productividad numérica al destete por vaca, PND<sub>ha</sub> = productividad numérica al destete por hectárea. eem = error estándar de la media. Medias con distintos superíndices difieren  $P < 0,05$ .

**Tabla 2 Efecto del tipo genético sobre los resultados económicos al destete.**

	Tipo genético				eem	P <
	CH x CH	CH x (CH x R)	LI x (CH x R)	LI x LI		
<b>Costes</b>						
AG	61,57	56,11	56,51	73,28	3,57	0,083
SA	222,98 <sup>a</sup>	158,32 <sup>b</sup>	147,98 <sup>b</sup>	183,34 <sup>b</sup>	13,89	0,0058
H	35,04 <sup>a</sup>	32,23 <sup>b</sup>	31,57 <sup>b</sup>	33,86 <sup>ab</sup>	0,83	0,037
MO	33,43	28,95	27,71	42,45	6,21	0,38
T	104,02	90,06	86,20	132,07	19,33	0,38
V	16,48	16,49	16,94	17,18	5,82	0,44
CT <sub>v</sub>	486,90 <sup>a</sup>	387,72 <sup>bc</sup>	364,70 <sup>c</sup>	471,43 <sup>ab</sup>	32,10	0,036
CT <sub>ha</sub>	218,27 <sup>a</sup>	167,38 <sup>bc</sup>	175,73 <sup>c</sup>	210,08 <sup>ab</sup>	13,40	0,050
<b>Ingresos</b>						
I <sub>v</sub>	548,81 <sup>b</sup>	523,30 <sup>b</sup>	553,00 <sup>b</sup>	594,95 <sup>a</sup>	8,84	0,0022
I <sub>ha</sub>	229,50 <sup>bc</sup>	221,88 <sup>c</sup>	239,47 <sup>b</sup>	261,10 <sup>a</sup>	4,31	0,0015
<b>M. Bruto</b>						
MB <sub>v</sub>	50,04	132,79	192,23	133,89	31,73	0,065
MB <sub>ha</sub>	11,22	54,50	63,74	51,01	14,40	0,16

AG = amortización del ganado, SA = suplementación alimenticia, H = higiosanitarios, MO = mano de obra, T = transporte, V = varios (impuestos, seguros, etc), CT<sub>v</sub> = costes totales por vaca, CT<sub>ha</sub> = costes totales por hectárea, I<sub>v</sub> = ingresos por vaca, I<sub>ha</sub> = ingresos por hectárea, MB<sub>v</sub> = margen bruto por vaca, MB<sub>ha</sub> = margen bruto por hectárea. eem = error estándar de la media. Medias con distintos superíndices difieren  $P < 0,05$ .

Las explotaciones que observan paridera continua, en el escenario ganadero de la Dehesa, logran fertilidades más elevadas que la paridera concentrada en 4-6 meses en otoño-invierno (Daza, 2014). El intervalo de fertilidad encontrado por Campos y Sesmero (1987), en un conjunto de explotaciones de vacas de cría de la Dehesa correctamente manejadas, fluctuó entre 0,86 y 0,99 y el número de terneros vendidos por vaca productiva varió entre 0,82 y 0,91, valores que concuerdan con los obtenidos en nuestro trabajo. La mortalidad de terneros al nacimiento depende del tipo genético de la vaca y del toro, del orden de parto y de factores ambientales como la alimentación de la vaca en el último tercio de gestación. La dificultad al parto, muy relacionada con la mortinatalidad de terneros, aparece en vacas muy conformadas como la Charolés y en las razas autóctonas de la España húmeda (Montserrat



et al., 1991; Goyache et al, 2000). En la Dehesa, la mortinatalidad de terneros se incrementa a medida que en las vacas aumentan el porcentaje de sangre Charolés (Daza, 2014). En la mortalidad nacimiento-destete influyen condiciones climáticas desfavorables y el estado sanitario de la madre y del ternero. En nuestro experimento la mortalidad de terneros durante la lactación fue más baja que al nacimiento y no estuvo afectada por el tipo genético. La productividad numérica anual declarada en una encuesta realizada en Andalucía a ganaderos de vacas de cría ascendió a 0,8 terneros por vaca, valor más bajo que el encontrado en nuestro trabajo (Maroto et al., 2015).

Como cabía esperar el coste inherente a la suplementación alimenticia fue superior en las explotaciones CHxCH que en las restantes y el coste higiosanitario fue superior en las explotaciones CHxCH que en las de vacas cruzadas debido a los costes adicionales en asistencia veterinaria (Tabla 2). Los costes de mano de obra y de transporte se reducían con el aumento del tamaño de explotación y los costes varios no inherentes a la vaca (contribución rústica, amortización de cercas e instalaciones) se reducían con el aumento de la carga ganadera. Los ingresos por vaca y por hectárea fueron superiores en las explotaciones LlxLI y el  $MB_v$  tendió a ser más bajo en las explotaciones CHxCH que en las restantes. Entre el margen bruto por hectárea ( $MB_{ha}$ ) y la carga ganadera (CG) se observó la relación:  $MB_{ha} = 41,44 + 481,39 CG - 681,36 CG^2$  ( $R^2 = 0,47$ ,  $RSD = 16,80$ ,  $P < 0,02$ ).

El rendimiento medio por hectárea obtenido por Vicente-Amores (2015) en explotaciones salmantinas, sin contabilizar subvenciones de la UE, fue de 35 €/ha, valor más bajo que el valor medio obtenido en nuestro trabajo. Se concluye que en las explotaciones CHxCH de producción, para aumentar su rendimiento económico es prioritario reducir la mortalidad de terneros al nacimiento mediante la selección y el manejo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Campos, P., Sesmero, J.1987. En: Conservación de las dehesas portuguesa y española (Ed P. Campos y M. Martín) Ed MAPA, pp 487-534 ● Daza, A. 2014. Vacuno de carne con criterios económicos. Ed MAGRAMA-Agrícola Española, 320 pp ● Goyache et al. 2000. Archivos de Zootecnia, 49:481-492 ● INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Ed INRA ● Jiménez Mozo et al.1987. En: Conservación de las dehesas portuguesa y española (Ed P. Campos y M. Martín) Ed MAPA, pp 51-86 ● Maroto et al. 2015. AIDA XVI Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 21-23 ● Monserrat et al. 1991. En: Vacuno de carne en extensivo. Ed Junta de Extremadura, pp 47-70 ● Vicente-Amores, F.M. 2015. AIDA XVI Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 30-32.

#### EFFECT OF GENETIC TYPE ON PRODUCTIVE AND ECONOMIC RESULTS AT WEANING OF DEHESA FARMS: PRELIMINARY INFORMATION

**ABSTRACT:** Eighteen suckler cows farms located in Cáceres-Trujillo region (Spain) were monitored. Such farms produced weaned calves of genetic types Charolés or Limusín, or Charolés x (Charolés x Retinta) or Limusín x (Charolés x Retinta) under continuous calving. In all farms we obtained the following data: stocking rate, fertility, calves mortality at birth and during suckling and annual percentage of cows replacement. We also estimated the annual cost and profit and gross margin per cow and per hectare (from October of 2015 to September of 2016) according to the genetic type of the calf. The calves production per cow and per hectare were higher in Limusín and Limusín x (Charolés x Retinta) farms. The cost of supplementary feeding per cow was positively related with stocking rate. The labour and transport costs were reduced with farm size. The total costs per cow and per hectare were significantly lower in Limusín x (Charoles x Retinta) than in Charolés or Limusín farms. The gross margin per cow tended ( $P < 0,065$ ) to be higher in Limusínx(CharolésxRetinta) farms. To increase the profit in Charolés farms it is necessary decrease the mortality of calves at birth by means of selection and management.

**Key words:** productivity, gross margin, cows, Dehesa.

## **EFFECTO DE VARIOS FACTORES EN EL PESO AL DESTETE DE LOS TERNEROS EN UNA EXPLOTACIÓN COMERCIAL**

Maroto Molina, F., Gómez Cabrera, A., Guerrero Ginel, J.E., Garrido Varo, A., Adame Siles, J.A. y Pérez Marín, D.C.

Grupo de Ingeniería de Sistemas de Producción Agroganadera, Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Ctra. Madrid-Cádiz, km 396, 14014, Córdoba, España. [g02mamof@uco.es](mailto:g02mamof@uco.es)

### **INTRODUCCIÓN**

En las explotaciones de vacuno de carne de las zonas de dehesa, el peso al destete es un dato importante para la toma de decisiones (por ejemplo, de selección de los reproductores) ya que la mayor parte de estas explotaciones venden los terneros tras el destete para que sean engordados en cebaderos. No obstante, el peso al destete es un rasgo complejo, pues depende de la capacidad de crecimiento del ternero y de la aptitud maternal de la vaca, entre otros muchos factores (Sellers et al. 1970). Por ello, es preciso descomponer la varianza de los datos de peso al destete para que puedan ser utilizados en la toma de decisiones. Existen algunos estudios que evalúan la influencia de diversos factores en el peso al destete y otros datos relativos al crecimiento de los terneros, pero la mayoría de los mismos se han llevado a cabo con datos de fincas experimentales o de grupos de selección (Molina et al. 1992; Goyache et al. 2003). El objetivo del presente trabajo es evaluar y cuantificar la influencia de varios factores en el peso al destete, usando para ello datos recopilados en las condiciones propias de una explotación comercial.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los datos utilizados proceden de una explotación comercial situada en Almodóvar del Campo (Ciudad Real) y corresponden al periodo comprendido entre enero de 2002 y diciembre de 2015. El clima de la zona se caracteriza como mediterráneo templado, con veranos cálidos y secos e inviernos suaves. La precipitación media anual en el periodo considerado fue de 407 mm y la temperatura media anual de 14°C (SIAR, 2016).

La explotación se ubica en una dehesa de unas 300 ha que comparten un rebaño de ovino de carne de unas 550 ovejas y un lote de vacuno de unas 80 nodrizas. En el año 2002 las vacas eran mayoritariamente de raza Morucha, pero a lo largo de los años se han llevado a cabo cruces por absorción con toros Limusin (registrándose los datos raciales de las novillas de reposición) de tal forma que en 2015 coexisten vacas Moruchas con vacas cruzadas de diferentes grados de absorción. Además, existe un lote de nodrizas de raza Limusin adquiridas fuera de la explotación.

Los reproductores están todo el año en pastoreo libre, recibiendo alimentación suplementaria (concentrados y forrajes conservados) en determinadas épocas de escasez de pastos, sobre todo en verano. La suplementación depende de la biomasa herbácea disponible y del estado fisiológico de las vacas y, por tanto, varía de año a año. La cubrición es anual. Los terneros se alimentan exclusivamente con leche materna y pasto hasta el destete, que se produce a una edad variable en función de la disponibilidad de pastos para las vacas.

La base de datos analizada contiene los siguientes datos, para un total de 1014 terneros: nº crotal, fecha de nacimiento, sexo, nº crotal de la vaca, raza o cruce de la vaca (el toro siempre es Limusin), nº parto de la vaca, edad de la vaca, fecha de destete y peso al destete.

Para la cuantificación de la influencia de los diferentes factores se ha realizado un análisis de varianza mediante un modelo lineal general, en el que se ha considerado el peso al destete como variable dependiente, el año de nacimiento, la estación del año, el sexo del ternero, la raza de la vaca y el nº parto (o la edad de la vaca) como factores fijos, y la edad al destete como covariable. También se han considerado todas las interacciones dobles posibles entre los distintos factores. La significación de las diferencias entre las medias mínimo cuadráticas correspondientes a cada valor de los factores estudiados se ha evaluado mediante el test de Bonferroni. Todos los cálculos se han llevado a cabo con el programa estadístico SPSS v18.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los factores estudiados, así como las interacciones año\*estación y año\*edad al destete tienen un efecto significativo sobre el peso al destete ( $P < 0,05$ ). En conjunto, el modelo explica el 78,3% de la varianza de los datos.

**Efecto del año:** se observan diferencias interanuales significativas en el peso al destete estandarizado a 129 días (la edad media al destete en la explotación estudiada es inferior a los 180 días habituales en los sistemas de dehesa). Cabe destacar que existe una correlación alta ( $R = 0,71$ ) entre el peso al destete estandarizado y la precipitación anual en el periodo considerado (Figura 1). En efecto, la precipitación acumulada, junto a su distribución a lo largo del año, determina la disponibilidad de biomasa herbácea en las dehesas, lo cual a su vez está muy relacionado con la producción de leche de las vacas y, por ende, el crecimiento de los terneros. La alimentación suplementaria aportada no parece ser suficiente para paliar los efectos de una menor disponibilidad de pasto. La diferencia entre el año más lluvioso y el más seco del periodo es de 493 mm, con un efecto en el peso medio al destete de 42,5 kg, es decir, 0,33 kg/día.

**Efecto de la estación:** la estación de nacimiento mostró un efecto significativo en el peso al destete, siendo significativamente mayor en los terneros nacidos en invierno (157 kg) que en los nacidos en otoño (143 kg) y, en estos últimos, significativamente mayor que en los nacidos en primavera (139 kg) y verano (134 kg). No existen diferencias significativas entre estos dos últimos. Los terneros nacidos en invierno crecen en invierno-primavera, meses en los que normalmente existen más recursos pastables en las dehesas. Sin embargo, la disponibilidad estacional de pastos varía interanualmente, como muestra la significación de la interacción año\*estación.

**Efecto del sexo:** el peso al destete es significativamente mayor en los machos (148 kg) que en las hembras (139 kg), lo cual está relacionado con una mayor capacidad de crecimiento de los primeros y, posiblemente, con un mayor peso de nacimiento (no disponible en este estudio).

**Efecto de la raza de la vaca:** las medias mínimo cuadráticas correspondientes a cada raza o cruce se muestran en la Tabla 1. Las vacas de raza Morucha producen terneros al destete significativamente más pesados que las vacas cruzadas y las Limusinas, no existiendo diferencias significativas entre estas últimas. Pese a que cabe esperar un peso al nacimiento y una capacidad de crecimiento menores en los terneros con un mayor porcentaje de genética Morucha, en la fase predestete prevalecen las buenas aptitudes maternas de las Moruchas y su mejor adaptación a las condiciones de la dehesa. Según Martín (1983) la producción de leche de la vaca explica el 77,6% de la varianza del crecimiento del ternero.

**Efecto del nº parto de la vaca:** se observan diferencias significativas en el peso al destete de los terneros procedentes de vacas de primer parto (134 kg), de segundo parto (144 kg) y de tercer parto en adelante (154 kg). Dado que la edad media al primer parto en la explotación estudiada es baja (2,2 años) cabe esperar que en los primeros partos las vacas aún están en desarrollo y, por ello, los recursos destinados a la lactación sean menores. La edad de la vaca tuvo un menor peso en el modelo que el número de parto, por lo que se ha usado este último.

Luque et al. (1995) también obtuvieron efectos significativos de los factores estudiados en el presente trabajo en el crecimiento predestete de terneros Retintos, si bien la cuantificación de dichos efectos difiere de los valores obtenidos en este estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

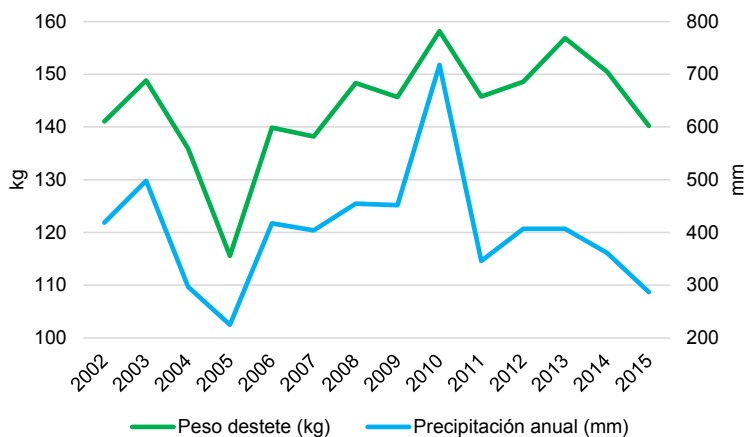
Goyache, F., Fernández, I., Royo, L.J., Álvarez, I. & Gutiérrez, J.P. 2003. *Archiv Tierzucht* 46(3): 235-243. • Luque, A.J., Molina, A., Berlanga, M.E., Delgado, J.V. & Jiménez, J.M. 1995. *Arch. Zootec.* 44: 193-203. • Martín, M. 1983. *Pastos* 13: 161-174. • Molina, A., Serrano, M.I., Burgos, A., Jiménez, J.M., Salado, F.M., Cabeza de Vaca, F., Espárrago, E. & Rodero, A. 1992. *Arch. Zootec.* 41: 543-548. • SIAR. 2016. [crea.uclm.es/siar/datmeteo](http://crea.uclm.es/siar/datmeteo) • Sellers, H.I., Willham, R.L. & DeBaca R.C. 1970. *J. Anim. Sci.* 31(1): 5-12.

**Agradecimientos:** agradecemos la cesión desinteresada de los datos por la ganadera, María Luisa Aránguez, y su digitalización por el estudiante Carlos Andrés Ospina Catimay, así como la financiación del proyecto LIFE 11 BIO/ES/726 durante el análisis de los datos.

**Tabla 1.** Efecto de la raza de la vaca en el peso al destete de los terneros.

Raza vaca	Peso al destete		
	Nº terneros	Media mínimo cuadrática*	Error típico
Morucha	107	149,79 <sup>b</sup>	2,58
Morucha x Limusín (50%)	431	140,80 <sup>a</sup>	1,64
Morucha x Limusín (≥ 75%)	278	142,15 <sup>a</sup>	1,72
Limusín	184	142,80 <sup>a</sup>	1,86

\*Diferentes letras indican diferencias significativas.



**Figura 1.** Correlación entre las medias mínimo cuadráticas de peso al destete y la precipitación anual.

### EFFECT OF VARIOUS FACTORS ON WEANING WEIGHT OF BEEF CALVES IN A COMMERCIAL FARM

**ABSTRACT:** Weaning weight is an important data regarding decision-making in dehesa beef cattle farms. The objective of this study was to evaluate and quantify the effects of several factors on weaning weight of beef calves using data from a commercial farm. Data come from a dehesa farm sited in Almodóvar del Campo (Ciudad Real) and refer to 1014 weaned calves in the period 2002-2015. A General Linear Model was used to evaluate the effect of year of birth, season of birth, calf sex, dam breed and parity. All factors showed significant effects on weaning weight, as well as the interactions year\*season and year\*weaning age. Differences among years showed an important correlation with annual precipitation ( $R = 0.71$ ). Weaning weight was higher for calves born in winter, male calves, calves from Morucha dams and calves from dams from the third parturition onwards.

**Keywords:** beef cattle; decision making; on-farm data, weaning weight.

## EFICIENCIA DE IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA Y RECOGIDA DE DATOS DE LECHE EN UN SISTEMA AUTOMÁTICO PARA OVEJAS Y CABRAS LECHERAS

Nieddu, G.<sup>1</sup> y Caja, G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sezione di Scienze Zootecniche, Dipartimenti di Agraria, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia. <sup>2</sup>Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España. [gerardo.caja@uab.es](mailto:gerardo.caja@uab.es)

### INTRODUCCIÓN

El control de producciones en ovino y caprino lechero es esencial para la mejora genética y la rentabilidad de las explotaciones. De acuerdo con ICAR (2016), existen diferentes métodos de control lechero según modalidad y carácter oficial o no (A, B, C, D y E), frecuencia (a.m., p.m. o alterno) y número de visitas a la granja durante la lactación (2-6). En España, sólo 442 explotaciones y 305.042 ovejas lecheras (10,3% del censo, de las cuales un 84,4% son de razas autóctonas) realizaron control lechero en 2015 (ICAR, 2017). La tendencia actual es decreciente en todas las razas, excepto en la Manchega. Esto es debido, en gran parte, a la implantación generalizada de la identificación electrónica (e-ID) y a la adopción de métodos semi-automáticos para el control lechero, como viene realizando desde 1999 la Asociación de Ganaderos de Raza Manchega (AGRAMA) en Castilla-La Mancha (Gallego et al., 2010). Por otro lado, según Milán et al. (2014), los ganaderos de Castilla-León declaran que pagan 1,62 €/oveja y año (0-5,05 €) por un servicio de control lechero alterno mensual (AT4), aunque el coste real debe ser muy superior.

La utilización de la e-ID ha demostrado ser una herramienta adecuada para reducir el tiempo y coste del control lechero en ganado caprino (Caja et al., 1999; Ait-Saidi et al., 2008) y ovino (Ait-Saidi et al., 2014ab), así como en otros tipos de controles de producción (e.g., cuaderno de partos, peso, inventario). Otra ventaja añadida es la mayor calidad de los datos por disminución de errores. La aplicación de las nuevas tecnologías en ganadería (Caja et al., 2016) permite realizar el control lechero de forma automatizada mediante el empleo de la e-ID oficial (obligatoria) y medidores electrónicos aprobados por ICAR para el control oficial de la producción de leche en ovino y caprino (i.e., Afikim, DeLaval y Lactocorder-WMB). Sin embargo, se desconoce la robustez de los sistemas disponibles en el mercado y la validez de los datos recogidos en la práctica. Este estudio tiene por objeto valorar la eficacia de recogida automática de datos del sistema de identificación y ordeño actualmente ofrecido por DeLaval, para explotaciones de ovino y caprino lechero en España.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y manejo:** Se utilizaron un total de 159 ovejas (Manchega, n = 65; Lacaune, n = 67) y cabras lecheras (Murciano-Granadina, n = 27) a mitad de lactación ( $1,48 \pm 0,03$  L/d;  $111 \pm 34$  d), pertenecientes al Servicio de Granjas y Campos Experimentales (SGCE) de la UAB. Las condiciones de explotación del rebaño fueron de tipo semi-intensivo, con pastoreo (6 h/d) en praderas de secano y complementación según necesidades en el aprisco.

**Ordeño y control lechero:** El estudio se inició a partir de la instalación de una nueva sala de ordeño en la granja del SGCE de la UAB (2×12, línea alta y salida rápida lateral; Amarre Azul-1, DeLaval Equipos, Alcobendas), con 4 brazos cambiadores de lado (sistema SG300), 12 unidades de ordeño (SG-TF100) con medidores automáticos (MM25SG) y desconexión automática de pezoneras (ajustadas a flujo <0,1 L/min o tiempo >3 min) de DeLaval International (Tumba, SE). El ordeño diario (7 y 17 h) se realizó a 40 kPa, 120 p/min y 50% pulsación. La producción de leche se controló en cada ordeño y durante toda la lactación.

**Identificación electrónica:** Los animales estaban identificados, de acuerdo a la normativa oficial de la UE (CE 21/2004, 933/2008 y 759/2009) y española (RD 685/2013), con crotales plásticos de bandera y bolos ruminales electrónicos (e-B) oficiales de tecnología HDX (e-B<sub>HDX</sub>, n = 69; Datamars, Bedano, SW) o FDX-B (e-B<sub>FDX</sub>, n = 90; Allflex-Azasa, Madrid). La sala de ordeño disponía de 2 portales de identificación con paneles multi-reader (DeLaval), con sólo garantía de lectura para dispositivos e-ID de tecnología HDX. En previsión de problemas de lectura, se dispuso de crotales electrónicos de botón y tecnología HDX (e-C<sub>HDX</sub>) para ovino y caprino (Allflex-Azasa). Para comprobar la capacidad de lectura de todos los dispositivos en condiciones dinámicas, se utilizó un lector ISO (F310, Datamars) de eficacia comprobada (Ait-Saidi et al., 2013), instalado en el lado izquierdo de una manga de manejo de 50 cm de ancho. La eficacia de lectura dinámica (DRE) se calculó a partir de 8

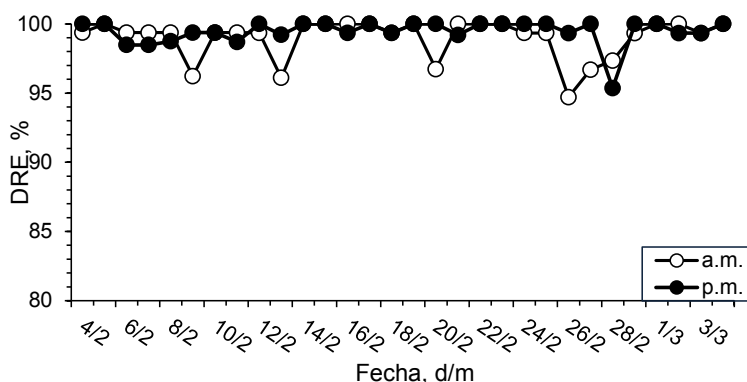
pases por manga en 2 d y se expresó como:  $DRE = (\text{transpondedores leídos/transpondedores presentes}) \times 100$ .

**Captura y proceso de datos:** Los datos capturados en cada ordeño por el sistema DeLaval se descargaron diariamente de forma automática a un computador fijo y se procesaron con el programa AIPro Windows SG 7.2 Herd Management System (DeLaval). Los datos obtenidos fueron contrastados con las observaciones manuales recogidas durante 30 d y la eficacia de captura de los datos de control lechero (MRE) se expresó como:  $MRE = (\text{datos capturados/animales presentes}) \times 100$ .

**Análisis estadístico:** Se utilizó un modelo lineal mixto para medidas repetidas con el paquete R v.3.0.2 (R Core Team, Viena, Austria) y la significación se declaró a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

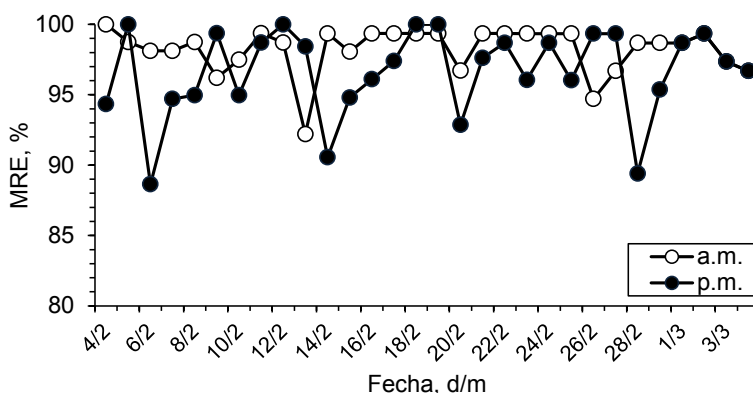
Los ensayos llevados a cabo inicialmente en condiciones prácticas de ordeño, comprobaron la incapacidad de lectura conjunta de bolos e-B<sub>FDX</sub> ( $DRE < 20\%$ ) y e-B<sub>HDX</sub> ( $DRE > 90\%$ ). Por ello, se seleccionó la opción de lectura de dispositivos HDX únicamente de acuerdo a lo indicado por DeLaval. En consecuencia, a todos los animales con e-B<sub>FDX</sub> ( $n = 90$ ) se les colocó un e-C<sub>HDX</sub> en la oreja izquierda. El valor medio de DRE en manga de manejo (velocidad media de paso,  $0,45 \pm 0,09$  m/s), fue  $94,9 \pm 0,9\%$ , aunque varió según dispositivos (HDX vs. FDX,  $99,8 \pm 0,3$  vs.  $86,7 \pm 2,6\%$ , respectivamente;  $P < 0,001$ ) y confirmó la superioridad de los HDX en condiciones de mezcla de dispositivos, de acuerdo con Ait-Saidi et al. (2013). No se observaron pérdidas o fallos de funcionamiento de ninguno de los dispositivos e-ID durante los 30 d de estudio. La evaluación del sistema de DeLaval, utilizando únicamente lectores HDX permitió recoger 9.540 datos, siendo los valores medios de DRE ( $99,2 \pm 0,2\%$ ) y MRE ( $97,4 \pm 0,2\%$ ) aparentemente satisfactorios. Sin embargo, puntualmente se observaron errores de identificación del 4-5% de los animales (Figura 1), atribuyendo su ID a otro de la misma tanda de ordeño, lo que fue corregido manualmente.



**Figura 1.** Eficacia de lectura dinámica (DRE) de ovejas y cabras lecheras identificadas con bolos y crotales HDX. La lectura de bolos FDX tuvo una DRE  $< 20\%$  y fue descartada.

Por otro lado, los valores de MRE difirieron entre ordeños (a.m. vs. p.m.,  $98,2 \pm 0,3$  vs.  $96,6 \pm 0,6\%$ ;  $P = 0,023$ ), tal como muestra la Fig. 2, debido a las producciones bajas ( $< 0,4$  kg/ordeño) y a errores de detección del final de ordeño. En estos casos, además de no obtenerse muestras de leche representativas, la producción (desconocida) se sumó a otra oveja. El rango de medida aceptado por ICAR (2016) es de 0,3-6,0 kg ( $\pm 5\%$ ). El programa no permitió corregir errores pasados 2 d. Al eliminar los errores detectados, los MRE fueron similares entre ordeños (a.m. vs. p.m.,  $99,0 \pm 0,3$  vs.  $98,8 \pm 0,3\%$ ;  $P = 0,58$ ).

En conclusión, los resultados obtenidos indicaron la escasa lectura de dispositivos FDX-B, de acuerdo con las indicaciones del equipo, la necesidad de un nivel de producción  $> 0,4$  L por ordeño y problemas en la gestión de datos que hacen necesaria la corrección manual. Por todo ello, parece necesario realizar la mejora del sistema DeLaval-AIPro antes de poder recomendarlo para el control lechero automático de ovino y caprino en condiciones de granja.



**Figura 2.** Eficacia de toma de datos individuales de producción de leche (MRE) en el control lechero de ovejas y cabras en los ordeños de mañana y tarde (datos sin corregir).

**Agradecimientos:** Università degli Studi di Sassari, por una beca de estancia a Giusy Nieddu, y al personal del SGCE de la UAB por su ayuda.

#### 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., Salama, A.A.K., Carné, S. 2014a. J. Dairy Sci. 97:7505-7514
- Ait-Saidi, A., Caja, G. & Mocket, J.H. 2013. XV Jornadas sobre Producción Animal, AIDA, Zaragoza, pp. 91-93
- Ait-Saidi, A., Caja, G., Salama, A.A.K. & Milán J.J. 2014b. J. Dairy Sci. 97:7515-7524
- Caja, G., Peris, S., Conill, C., Nehring, R., Roca, R., Ribó, O. & Milán, M. J. 1999. EAAP Publ. No. 95:406-411
- Caja, G., Castro-Costa, A. & Knight C.H. 2016. J. Dairy Res. 83:136-147
- Gallego, R., Garcés, A., García, O., Domínguez, C. & Caja, G. 2009. 60<sup>th</sup> EAAP Annual Meeting, Barcelona, p. 486 (Abstr.)
- ICAR. 2016. [www.icar.org/wp-content/uploads/2016/03/Guidelines-Edition-2016.pdf](http://www.icar.org/wp-content/uploads/2016/03/Guidelines-Edition-2016.pdf)
- ICAR. 2017. [www.icar.org/wp-content/uploads/2017/01/Slides-meeting-goats-and-sheep-held-in-Puerto-Varas-on-25-October-2016.pdf](http://www.icar.org/wp-content/uploads/2017/01/Slides-meeting-goats-and-sheep-held-in-Puerto-Varas-on-25-October-2016.pdf)
- Milán, M.J., Frendi, F., González-González, R., Caja, G., 2014. J. Dairy Sci. 97:5239-5249.

#### ELECTRONIC IDENTIFICATION AND DATA COLLECTION EFFICIENCIES OF AN AUTOMATED MILK RECORDING SYSTEM IN DAIRY SHEEP AND GOATS

**ABSTRACT:** A total of 159 dairy sheep (n = 132) and goats (n = 27) were used to evaluate the dynamic reading efficiency (DRE) and milk yield recording efficiency (MRE) by an automated milking system. Animals wore electronic rumen boluses of half-duplex (e-B<sub>HDX</sub>, n = 69) and full-duplex (e-B<sub>FDX</sub>, n = 90) technologies. The milking parlor (2×12) had 2 multi-reader walk-by panels and electronic milk meters (MM25SG) of DeLaval. Data were processed by the AIPro Windows SG 7.2 Herd Management System (DeLaval). A very low DRE <20% was observed for e-B<sub>FDX</sub> and the FDX option was cancelled in the system. Consequently, those animals wearing e-B<sub>FDX</sub> were also e-ID with an HDX electronic ear tag (e-EHDX, n = 90) in the left ear. Overall DRE was evaluated with an ISO multi-reader (Datamars F310) and was 94.9 ± 0.9%, on average, varying by technology (HDX vs. FDX, 99.8 ± 0.3 vs. 86.7 ± 2.6%, respectively; P < 0.001). The automated milk recording system was evaluated during 30 d using only the e-HDX (9,540 data). On average, DRE and MRE were 99.2 ± 0.2 and 97.4 ± 0.2%, respectively, the MRE values being greater for a.m. vs. p.m. (98.2 ± 0.3 vs. 96.6 ± 0.6%; P = 0.023) which was due to failures when milk yield <0.4 L. Corrected MRE slightly increased and did not differ between a.m. and p.m. (99.0 ± 0.3 vs. 98.8 ± 0.3%, respectively; P = 0.577). Our results showed the need of HDX devices when the automatic milk recording system of DeLaval is used. Moreover, we considered unsuitable the use of the MM25 meters and the AIPro software for yields <0.40 L/milking.

**Key words:** electronic identification, milk recording, reading efficiency

**Article removed**

This article was not presented at the Congress

**Artículo eliminado**

Este artículo no fue presentado a las Jornadas



**Article removed**

This article was not presented at the Congress

**Artículo eliminado**

Este artículo no fue presentado a las Jornadas

**Article removed**

This article was not presented at the Congress

**Artículo eliminado**

Este artículo no fue presentado a las Jornadas

## COMPARACIÓN DE DOS SISTEMAS DE MANEJO REPRODUCTIVO SOBRE LA EFICIENCIA PRODUCTIVA EN OVEJAS LACAUNE LECHERAS

Pesántez-Pacheco J.L.<sup>1,2</sup>, Torres-Rovira L.<sup>2</sup>, Hernández F.<sup>3</sup>, Gonzalez-Martin J.V.<sup>4,5</sup>, Gonzalez-Bulnes A.<sup>2</sup> y Astiz, S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca - Ecuador. <sup>2</sup>Departamento de Reproducción Animal, INIA, Madrid. <sup>3</sup>Granja Cerromonte SL, San Juan de la Encinilla, Ávila. <sup>4</sup>TRIALVET S.L, Madrid. <sup>5</sup>Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

[jose.pesantez@ucuenca.edu.ec](mailto:jose.pesantez@ucuenca.edu.ec)

### INTRODUCCIÓN

Uno de los principales objetivos en producción de ovino lechero es reducir el número de días improductivos de los animales, logro que se consigue principalmente con la intensificación reproductiva (Pollott y Gootwine, 2004). Un posible sistema se basa en cinco parideras/año (Lewis *et al.*, 1996; Nicolo *et al.*, 2008). Sin embargo, en rebaños grandes, este sistema supone una concentración del número de partos, y por ende de corderos, limitada a 5 momentos del año. Una manera de homogenizar la producción es repartir el número de partos en un mayor número de parideras en el año. Así pues, el objetivo del presente trabajo fue investigar los efectos de sistemas de manejo reproductivo de cinco respecto a diez parideras por año en ovejas lecheras Lacaune bajo una gestión intensiva. Estos datos nos ayudarán a establecer protocolos encaminados a una mejora de la gestión reproductiva del hato ovino lechero y a una mejor distribución de la carga de trabajo en un sistema intensivo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio incluye datos de 3800 ovejas de raza Lacaune de una granja ("Granja Cerromonte", San Juan de la Encinilla, Ávila), entre 2010 y 2015. En esta granja los animales se alojan en patios cubiertos y reciben alimentación en ración mezclada (TMR) adaptada según requerimientos, sin salida a pastos. Las ovejas son sometidas en parte a un protocolo de sincronización e introducción de machos controlada a los parques donde se mantienen durante 25d en el sistema de cinco parideras al año (5P) y 28d en el sistema de 10 parideras al año (10P), para permitir la monta natural. La relación hembra/macho es de 5:1 en lotes sincronizados y de 20:1 en lotes sin sincronización. El diagnóstico de gestación se realiza mediante ecografía trans-abdominal a los 35 y 60d tras la monta. El sistema de manejo reproductivo de la granja varió del sistema 5P durante los años 2010 a 2012 al 10P durante 2014 a 2015; considerándose el año 2013 como periodo de transición. El sistema de manejo (5P vs 10P) influyó sobre el tamaño de los lotes de partos, con una media 800-1000 partos/lote en 5P y de 400-500 partos/lote en 10P. Los datos de rendimiento de las ovejas fueron recogidos, almacenados y validados usando el software de la granja (Alpro para Windows; DeLaval, Tumba, Suecia). En total se incluyeron 23023 lactaciones. Todos los datos recopilados se resumen como promedios  $\pm$  desviación estándar o como porcentajes. Se utilizó un análisis ANOVA para el estudio de las diferencias con posterior análisis de desigualdad de Bonferroni, en caso necesario. La diferencia estadística significativa aceptada fue de  $P < 0.001$  dado el gran tamaño muestral.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran datos descriptivos de los animales incluidos en el estudio. En esta tabla se puede observar que el porcentaje de eliminación en ovejas adultas, así como la mortalidad en corderos, se va reduciendo a medida que se establece una mayor intensificación del ritmo reproductivo; estos resultados ya han sido observados en otros estudios sobre intensificación del manejo reproductivo (Lewis *et al.*, 1996; El-Saied *et al.*, 2006). La menor concentración de los animales en lotes de partos, permite una mejor gestión de la carga de trabajo y laboral del personal, mejorando la atención a los animales. Y por otro lado la menor concentración de parto y por ende de corderos lo que se relaciona con una reducción de los problemas sanitarios y de mortalidad (Roger, 2008; Fthenakis *et al.*, 2012). En la tabla 2 se recogen los resultados productivos en cada uno de los periodos y se puede observar que el sistema intensivo de parideras no alteró el nivel de producción por lactación ni por oveja presente. Sin embargo, la producción láctea diaria fue mayor en el sistema 5P ( $P < 0,0001$ ), mientras que la longitud de la lactación era sensiblemente mayor en

el sistema 10P ( $P<0,0001$ ), reduciendo levemente el periodo de secado ( $P<0,0001$ ) y aumentando también levemente el intervalo entre partos en este sistema de 10P ( $P<0,0001$ ). Los resultados de este estudio proporcionan información sobre los rendimientos productivos y reproductivos obtenidos bajo dos diferentes ritmos de reproducción intensiva. Con una media ya optimizada de partos/oveja y año que se debe mantener (1,43 en 5P y 1,40 en 10P;  $P>0,01$ ), uno de los principales objetivos de estos sistemas es homogenizar la producción a lo largo del año, tanto en litros de leche, como en corderos. Así pues, sin observarse elevaciones productivas en 10P, sí obtenemos una reducción del porcentaje de desechos en adultas y notable de mortalidad de los corderos, esto se debe a un mejor control de la vida productiva y reproductiva de la oveja, aumentando su vida útil, reduciendo el porcentaje de eliminación (El-Saied *et al.*, 2006). Si bien, hay que reseñar que en 2014 se invirtió en una instalación específica para los corderos, que contribuyó también a esta reducción de mortalidad. Aun así, la inversión para dicha instalación sólo pudo afrontarse con el sistema de 10P ya que reduce el número de corderos/paridera, y permitió un tamaño de naves menor, respecto de si hubiera sido el sistema 5P. Por otro lado, como reportan otros autores; la duración de la lactación no siempre se asocia con una mayor producción láctea total (Pollott y Gootwine, 2004). Sin embargo, el acortamiento del periodo seco, junto con el alargamiento de las lactaciones reduce los días improductivos por oveja, lo que posiblemente sea la causa de no reducirse la producción media por oveja, aunque la producción por día sí sea levemente menor. Otros autores ya han asociado periodos secos más largos en ovino con un menor rendimiento económico (Hernández *et al.*, 2012). En conclusión, un sistema de manejo reproductivo más homogéneo de 10 parideras/año no afectó negativamente a la producción láctea, pero sí influyó positivamente en la duración de la lactación, así como en la duración del periodo seco, en la reducción de los días improductivos/oveja y en la mejora de la mortalidad en corderos y de desecho en adultas. Además, mejoró sustancialmente el manejo de la explotación, al distribuir la carga de trabajo de manera más homogénea durante el año y al optimizar el uso de las instalaciones, al permitir inversiones de otro modo no afrontables.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fthenakis, G., Arsenos, G., Brozos, C., Fragkoua, A., Giannenas, N., Giadinis, I., Mavrogianni, V., Papadopoulou, E., Valasi, I. 2012. *An.Rep.Sc.* 130:198-212.
- El-Saied, U., De La Fuente, L.F., San Primitivo, F. 2006. *Liv Sc* 101:180-190
- Hernández, F., Elvira, L., Gonzalez-Martin J.V., Astiz, S. 2012. *J of D Res.* 79:352-360.
- Lewis, R.M., Notter, D.R., Hogue, D.E., Magee, B.H. 1996. *J. A. Sci.* 74:1511-1522.
- Nicolo, G., Morris, S.T., Kenyon, P.R., Kemp, P.D., Morel, P.C. 2008. *New Zea J of Ag Res.* 51:397-407.
- Pollott, G.E., Gootwine, E. 2004. *J D. Sci* 87:3690-3703.
- Roger, P.A., 2008. *Sm Ru Res* 76 104-111.

**Tabla 1.** Descripción de las características de una explotación de ovino Lacaune lechero bajo dos sistemas de manejo reproductivo entre los años 2010 y 2015.

	Años					
	2010	2011	2012	2013	2014	2015
<b>Media adultas en explotación (n)</b>	3359	3538	3844	4082	4094	4008
<b>Lactaciones incluidas (n)</b>	3422	3881	3956	3923	3673	4168
<b>Ovejas incluidas (n)</b>	2858	3066	3253	3253	3158	3484
<b>Producción /oveja/año (l)</b>	411±225,4	462±285,6	410±251,0	436±272,6	442±228,8	424±199,5
<b>Eliminación anual ovejas* (%)</b>	50,88 (1709/3359)	40,28 (1425/3538)	36,37 (1398/3844)	34,03 (1389/4082)	34,93 (1430/4094)	26,21 (1430/4008)
<b>Corderos producidos (n)</b>	3975	5316	5998	4110	4774	6580
<b>Mortalidad anual corderos (%)</b>	43.35 (3041/7016)	29.60 (2235/7551)	25.18 (2019/8017)	50.84 (4250/8360)	39.02 (3055/7829)	10.11 (740/7320)

\* porcentaje de eliminación calculado en base a las ovejas adultas presentes, y no en base a la población total productiva (=adultas más cría >6m)

**Tabla 2.** Rendimientos productivos de ovejas Lacaune lecheras bajo dos sistemas de manejo reproductivo entre los años 2010 y 2015.

	Sistema 5P (2010-2012)	Periodo Transición (2013)	Sistema 10P (2014-2015)	Valor de P
Lactaciones/ año de estudio	3753 (11259)	3922 (3922)	3920 (7839)	
Producción /lactación (l)	349±185,3 <sup>a</sup>	362±182,5	351±157,8 <sup>a</sup>	ns
Producción /oveja y año (l)	428±254,0 <sup>a</sup>	436±272,5	433±214,1 <sup>a</sup>	ns
Duración de la lactación (d)	192±75,5 <sup>a</sup>	201±72,1	218±74,7 <sup>b</sup>	<0,0001
Producción diaria (l/d)	1,73±1,65 <sup>a</sup>	1,68±0,63	1,66±0,56 <sup>b</sup>	<0,0001
PS (d)	69±34,8 <sup>a</sup>	58±33,0	54±38,3 <sup>b</sup>	<0,0001
IPP (d)	283±49,6 <sup>a</sup>	280±43,1	302±43,6 <sup>b</sup>	<0,0001

Se comparan los promedios de cada período reproductivo (excluyendo el de transición de 2013) en cada parámetro productivo. <sup>a,b</sup>, Valores en la misma fila difieren estadísticamente con  $P < 0,001$ . Sistema 5P= Sistema de 5 parideras/año; Sistema 10P= Sistema de 10 parideras/año; PS= longitud del periodo de días de secado; IPP= Intervalo entre partos.

#### COMPARISON OF THE EFFECT OF TWO REPRODUCTIVE MANAGEMENT SYSTEMS ON THE PERFORMANCE OF LACAUNE DAIRY SHEEP

**ABSTRACT:** The objective of this work was to evaluate the effect of two different reproductive management systems on several productive and reproductive indexes of Lacaune dairy ewes under intensive management. Hence, we compared a system with five breeding groups/year versus a system with 10 breeding groups (system 5P vs. 10P). Data were collected from 3,800 lactating sheep between the years 2010 and 2015. The percentage of culling, as well as the mortality of the lambs, were reduced in the 10P system. The milk yield was not affected in average, although daily milk production was higher in the 5P system ( $P < 0.0001$ ), because lactation length was increased in the system 10P. In conclusion, a more intensive reproductive management 10P does not affect the average milk yield by lactation, but it positively influences the lactation length, and mainly the mortality in lambs and adults. Finally, it has a direct positive impact on the better use of labour and facilities throughout the year.

**Keywords:** reproductive management, Lacaune sheep, dairy

## DESARROLLO DE HERRAMIENTAS BASADAS EN TIC PARA LA MONITORIZACIÓN DE GANADO EN PASTOREO

Santiago, C.<sup>1,2</sup>, Callejero C.<sup>2</sup>, Gómez I.<sup>2</sup> y 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). <sup>2</sup> Senso Wave, C/Federico Cantero Villamil 2B, 28935 Móstoles (Madrid). fvicente@serida.org

### INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un interés creciente en el desarrollo de dispositivos electrónicos basados en tecnologías de la información y la comunicación (TIC) con mayor sensibilidad y capacidad de almacenaje para el estudio de las actividades del ganado. En sistemas extensivos, donde los animales pasan largos períodos en libertad, estos dispositivos facilitan el estudio del comportamiento. Sin embargo, los dispositivos disponibles normalmente tienen poca autonomía de la batería. Por este motivo, es interesante testar collares que provean datos a través de un sistema GPS y un acelerómetro de 3 ejes durante largos períodos de tiempo sin limitaciones de batería. La información acerca del comportamiento individual y social de los animales puede ser utilizado como un indicador de salud, bienestar y del estatus reproductivo (O'Callaghan et al., 2003; Roelofs et al., 2005). Además, el estudio de actividades específicas como el pastoreo pueden mejorar nuestra comprensión acerca de la vegetación ofertada (Lockyer and Champion, 2001). Existen diferentes dispositivos comerciales basados en acelerómetros de 3 ejes que han sido probados en la monitorización de determinadas conductas del ganado bovino como estar tumbado, estar de pie y alimentarse (Vázquez Diosdado et al., 2015), también se han encontrado modelos para la predicción del celo en vacas de leche (Yin et al., 2013). El objetivo del estudio fue estudiar la influencia que tienen las condiciones ambientales en el comportamiento a través de la elaboración de etogramas en vacas Holstein en producción semi-extensiva y testar el potencial de collares provistos con acelerómetro en los 3 ejes para el análisis del comportamiento animal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue llevado a cabo en dos períodos: en agosto de 2016 con siete vacas Holstein (dos múltiparas y cinco primíparas) y en octubre de 2016 con cinco vacas Holstein (dos múltiparas y tres primíparas). Todos los animales portaron collares que integran un acelerómetro de 3 ejes, un módulo GPS, un microcontrolador con firmware integrado y una batería de larga duración. El hardware fue diseñado para capturar información cada 11 minutos. La clasificación de las diferentes actividades y posiciones de los animales se codificó a través de un catálogo conductual en el que se incluyeron 10 conductas: selección de alimentos, alimentación, rumia, beber, rascarse, reposo, locomoción, conductas agonísticas, afiliativas y sexuales. Los animales permanecían durante 16 horas al día a lo largo del experimento en parcelas de una hectárea. El comportamiento de los animales fue registrado mediante etogramas realizados entre los ordeños de mañana y tarde mediante un registro multifocal activado por unidades de tiempo cada dos minutos, tras un período de entrenamiento de tres horas al día durante 10 días. Los datos de temperatura y humedad relativa fueron incluidos en cada etograma. Como la sensación térmica depende de la acción conjunta de la temperatura, humedad relativa, ventilación y radiación solar, se calculó el índice de temperatura y humedad (THI) mediante la ecuación:  $THI = (9/5 T^{\circ}C + 32) - (11/2 - 11/2 HR) \times (9/5 T^{\circ}C - 26)$  (NOAA, 1976).

En agosto, se registraron secuencias de etogramas de 10 a 20 minutos durante 11 días en los períodos de pastoreo, siendo el tiempo total observado de 508 minutos. En octubre, se registraron secuencias de etogramas de 30 minutos durante 11 días en los períodos de pastoreo, siendo el tiempo total observado 608 minutos. Se elaboró una base de datos enfrentando los datos capturados por los collares y los etogramas en el ensayo de octubre. Para la validación de los datos capturados por los collares, se seleccionaron los datos en los que había coincidencia temporal entre los datos de los collares y las observaciones del etograma, sumando un total de 403 observaciones. Se calculó y analizó el porcentaje de tiempo dedicado a cada conducta para cada período. Los resultados de los registros de los etogramas fueron analizados mediante análisis de varianza usando como factores el mes de

ensayo, la temperatura, la humedad, sus interacciones y el THI. La capacidad de predicción de los valores del acelerómetro en los 3 ejes se evaluó con el algoritmo de aprendizaje Random forest con R (R Core Team, 2016) en el que se comparan las conductas observadas con los datos registrados por el acelerómetro, expresando el resultado como porcentaje de error de la predicción respecto a la observación en los registros del etograma.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de conductas observadas (tabla 1) representa la proporción de tiempo en el que las vacas realizaron una conducta durante el registro. En agosto, el reposo fue la conducta más común (23,8%) seguida por la rumia y rascarse (17,0 y 10,6% respectivamente), siendo el pastoreo la conducta menos frecuente (9,0%) durante el período de observación del comportamiento. En octubre, la conducta de pastoreo fue la más común (40,2%) seguida por el reposo y la rumia (24,0 y 20,6% respectivamente). El efecto del mes fue significativo ( $P<0,001$ ) sobre las conductas de pastoreo y rumia. En ambos periodos, la temperatura tuvo un efecto significativo sobre la conducta de reposo ( $P<0,001$ ) con un incremento del tiempo de reposo con la temperatura. Aunque no hubo diferencias significativas sobre la conducta de pastoreo debido a la temperatura, la interacción de esta con el mes produjo diferencias significativas ( $P<0,05$ ) observándose una elevada correlación entre el pastoreo y la temperatura en agosto ( $R^2=0,797$ ), con un importante descenso en la conducta de pastoreo con el incremento de la temperatura dentro del rango registrado durante el ensayo (21-27°C), lo que podría ser debido a estrés por calor (Figura 1). Mientras, en octubre, en el que la temperatura osciló entre 13 y 19°C, la correlación entre el pastoreo y la temperatura fue menor ( $R^2=0,179$ ). La humedad ambiental afectó significativamente a las conductas de pastoreo y reposo ( $P<0,001$ ) teniendo ambas mayor correlación en agosto ( $R^2=0,369$  y  $R^2=0,443$  respectivamente), mientras que no se observó esta correlación en octubre. El efecto del THI fue significativo para todas las conductas excepto el reposo ( $P<0,001$ ), con una disminución general de las actividades cuando se incrementa el THI, pero presentando en su conjunto bajas correlaciones en ambos periodos.

**Tabla 1.** Porcentajes de tiempo en que las vacas realizaron una conducta en dos periodos de estudio. Efecto conjunto de los factores ambientales en los dos periodos de observación.

	Agosto	Octubre	Efectos ambientales								
Observaciones (n)	1776	1520	M	T	H	THI	T×H	T×M	H×M	T×H×M	rsd
Minutos de registro	508	608									
Pastoreo (%)	9,0	40,2	***	NS	***	***	NS	*	NS	**	0,254
Rumia (%)	17,0	20,6	**	NS	NS	***	NS	NS	**	***	0,191
Rascarse (%)	10,6	5,6	NS	NS	NS	***	NS	***	*	NS	0,112
Reposo (%)	23,8	24,0	NS	***	***	NS	NS	NS	***	***	0,206
Otros (%)	39,5	9,6	***	***	NS	***	NS	**	***	***	0,184

M=me s. T=temperatura. H=humedad. THI= índice de temperatura y humedad. T×H = interacción temperatura y humedad. T×M=interacción temperatura y mes. H×M= interacción humedad y mes. T×H×M=interacción temperatura, humedad y mes.

rsd: desviación estándar residual; NS: No Significativo ( $P>0,05$ ); \* $P<0,05$ ;  $P<0,01$  \*\*\* $P < 0,001$

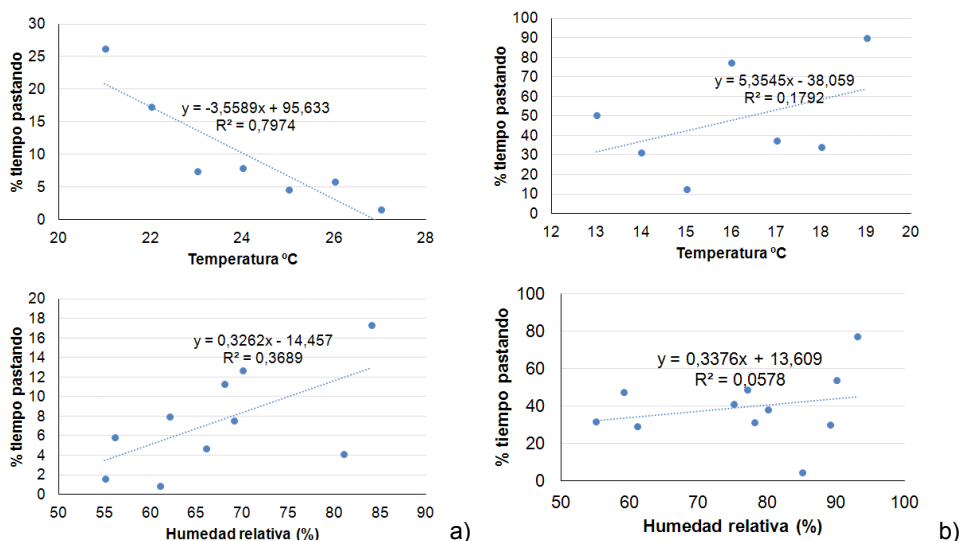
Los valores de aceleración en los 3 ejes provenientes de los collares en el periodo de octubre permiten diferenciar la actividad de pastoreo del resto de conductas registradas con un 70% de acierto, mientras que la capacidad de predicción del comportamiento de alimentación en comedero se redujo al 31% y de descanso tan solo al 14%. Con los datos de aceleración en los 3 ejes recogidos en el ensayo de otoño, no es posible predecir la actividad de rumia. Estos resultados ponen en evidencia la importancia de que se integre en una mayor base de datos provenientes de los collares para realizar una predicción apropiada, incorporando, además, en modelos futuros los factores climáticos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Kilgour R.J., 2012. Appl. Anim. Behav. Sci. 138: 1-11. • Lockyer D.R., Champion R.A., 2001. Agric. Ecosyst. Environ. 86: 237-246. • NOAA, 1976. Regional Operations Manual Letter: 31-

76. • O'Callaghan K.A., et al., 2003. Anim. Welf. 12: 605-610. • Ravagnolo O, et al. 2000. J. Dairy Sci.83: 2120-2125. • RCore Team. 2016. R foundation for Statistical Computing. • Roelofs J.B., et al., 2005. Theriogenology 64: 1690-1703. • Vazquez Diosdado J.A., et al., 2015. Anim. Biotelem. 3: 15. • Yin L., et al., 2013. Journal of Computers 8: 2590-2597.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por la Unión Europea a través del programa de innovación Horizon2020 SME instrument, No 726605.



**Figura 1.** Porcentaje de tiempo en que las vacas estuvieron en pastoreo durante las observaciones en el periodo de agosto (a) y octubre (b) y su relación con la temperatura y humedad.

## DEVELOPING A TOOL BASED ON ICT TO MONITORING LIVESTOCK AT PASTURE

**ABSTRACT:** Animal welfare is increasingly important, likewise the use of pasture land in sustainable dairy farming systems. Recent engineering advances, miniature technologies and the decreasing cost of electronic technologies has allowed the development of 'sensing solutions' that automatically collect and transfer data. Thus, electronic devices have been developing a tool that helps farmers to locate and monitor the activities of their herds especially in extensive farming systems. The tool was calibrated and validated in two periods (August and October) through the elaboration of ethograms in Holstein cows in extensive production. The methodology used in ethograms was scan sampling by instantaneous observation looking at different behaviours: searching for food, eating, rumination, drinking, grooming, resting, locomotion, agonistic, affiliative and sexual behaviours. The direct observations of the dairy cows due to the regular milking (twice per day) together with GPS recorders and the three-axis accelerometer activity provide opportunities to increase the data collection to improve the accuracy of this tool for extensive systems. Preliminary results from ethograms and the tool show that the time spent grazing and resting was influenced by the temperature and the humidity especially in August. The acceleration values in the 3 axes from the collars allow differentiating the grazing activity from the other behaviors registered with a 70% of success. More calibration from the tool is required.

**Keyword:** three-axis accelerometer, GPS, behaviour, ethograms, welfare, grazing systems.



## **EL CEBO EN LAS EXPLOTACIONES DE VACUNO DE RAZA TUDANCA EN CANTABRIA: RESULTADOS PRELIMINARES**

Vázquez, I.<sup>1</sup>, Olaizola, A.M.<sup>2</sup>, Resano, H.<sup>2</sup> y Serrano, E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria.

<sup>2</sup>Departamento de CC. Agrarias y del Medio Natural. Universidad de Zaragoza.

Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (Universidad de Zaragoza-

CITA). [ibanvazquez@cifacantabria.org](mailto:ibanvazquez@cifacantabria.org)

### **INTRODUCCIÓN**

La Tudanca es una raza de bovino rústica, autóctona de Cantabria y en peligro de extinción, incluida en la Indicación Geográfica Protegida (IGP) “Carne de Cantabria” (Serrano et al., 2013). Pese a ello, no existe tradición en el cebo de los terneros en las explotaciones y la mayoría se venden como pasteros, a una edad inferior a los 6 meses, para ser acabados en cebaderos de otras regiones (Humada, 2015). La realización del cebo en la propia explotación, permite obtener un producto amparado con IGP (Atance et al., 2003; Olaizola et al., 2012). No obstante, para fomentar el desarrollo de esa estrategia de diferenciación, es importante averiguar cuáles son los factores internos y externos a la explotación que determinan la actividad del cebo.

El objetivo del presente trabajo, es analizar las características productivas y socio-económicas de las explotaciones con bovino Tudanco según la realización del cebo, y explorar las relaciones de esta actividad con el entorno de las explotaciones.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se ha realizado una encuesta personal a finales de 2014 a 18 explotaciones de vacuno Tudanco, seleccionadas según la dimensión (3 más de 100 unidades ganaderas (UG), 8 entre 50 y 100 UG, 7 menos de 50 UG) y localización comarcal (9 Saja-Nansa, 2 Costa Occidental, 4 Besaya, 2 Campoo, 1 Pas-Miera-Pisueña). El cuestionario recoge información sobre el manejo de la explotación y la estructura productiva y socioeconómica. Además, se ha utilizado información correspondiente a los años 2014 y 2015, relativa a la población, economía, sociedad y territorio del municipio en donde se localiza la explotación (ICANE, 2017).

Los principales métodos de análisis aplicados son la estadística descriptiva, los contrastes no paramétricos (Kruskal-Wallis) y el análisis factorial de correspondencias múltiples (AFCM), para analizar las relaciones del entorno con la actividad de cebo.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Entre las 18 explotaciones con ganado Tudanco encuestadas, se consideran 7 las orientadas al cebo por la mayor relevancia de esta actividad en porcentaje de terneros cebados (> 15% del total vendidos) e ingresos por su venta (> 20% del total bovino).

Una vez clasificadas las explotaciones, se ha contrastado la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre ellas respecto a algunas características estructurales, de manejo y resultados económicos (Tabla 1). Las explotaciones orientadas al cebo tienen una Superficie Agraria Útil (SAU) (28 ha) y dimensión de las parcelas (1,9 ha por parcela) ligeramente superior, aunque no presentan diferencias significativas ( $P > 0,05$ ). Por el contrario, se observan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) en la mayor superficie de pastos comunales utilizada en las que ceban (109 ha), además de una tendencia ( $P \leq 0,1$ ) a una mayor permanencia en los mismos durante el otoño. También existen diferencias respecto al tamaño de rebaño, siendo mayor la dimensión media en las que ceban (70 UG bovino); así como una tendencia a una mayor dimensión por unidad de trabajo (41 UG bovino/UTA).

En cambio, no se observan diferencias significativas entre orientaciones ( $P > 0,05$ ), en las UTA, ni en el elevado porcentaje de ella que es de tipo familiar. Se aprecia una tendencia ( $P \leq 0,1$ ) a una mayor dimensión de las familias en las que ceban (4,6 miembros), y diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) en la mayor ocupación exterior de sus miembros. Estos resultados, coincidirían con alguna trayectoria de evolución

observada en las explotaciones de vacuno de montaña, en las explotaciones pluriactivas que habían comenzado a cebar (García-Martínez, et al., 2009).

**Tabla 1. Principales características productivas y socioeconómicas de las explotaciones, según la orientación al cebo**

	CEBO	NO CEBO	TOTAL	St	P
% Terneros cebados (s. vendidos)*	56,9	3,5	24,3	35,8	-
% Ingresos cebo (s. total bovino)*	48,2	6,0	22,4	25,2	-
Superficie Agraria Útil (SAU) (ha)	28,0	25,5	26,4	14,1	,683
Dimensión media parcelas (ha/ parcela)	1,9	1,7	1,8	1,6	,135
Superficie pasto comunal (ha)	108,9	39,8	66,7	61,7	,029
% Días estancia en otoño pastos comunales	28,0	21,0	23,6	7,6	,097
Unidades ganaderas bovino (UG bovino)	69,8	43,7	53,8	30,9	,042
UG bovino/ Unidad de Trabajo Año (UTA)	41,0	28,4	33,3	13,9	,063
Unidad de Trabajo Año (UTA)	1,9	1,5	1,6	0,7	,384
% UTA familiar	96,6	96,0	96,2	11,6	,804
Miembros familia (numero)	4,6	3,4	3,8	1,3	,060
% Miembros familia con otra actividad lucrativa/Total	31,2	12,1	19,5	19,1	,043
Ingresos totales (€)	55.017	28.369	38.732	31.226	,042
% Ingresos venta de animales (s. ingresos totales)	44	38	41	15	,556
Costes totales (€)	28.664	14.762	20.168	16.284	,016
Valor añadido bruto (VAB)	31.935	16.111	22.265	22.005	,077

\*Variables que definen orientación. **St**= desviación típica. **Ingresos totales**= Subvenciones + ventas de animales (bovino y otros). **Costes totales**= Consumos intermedios (específicos + generales) + factores externos (arrendamientos + salarios + intereses); no incluye amortizaciones ni costes de oportunidad. **Valor Añadido Bruto**= Ingresos totales – Consumos intermedios.

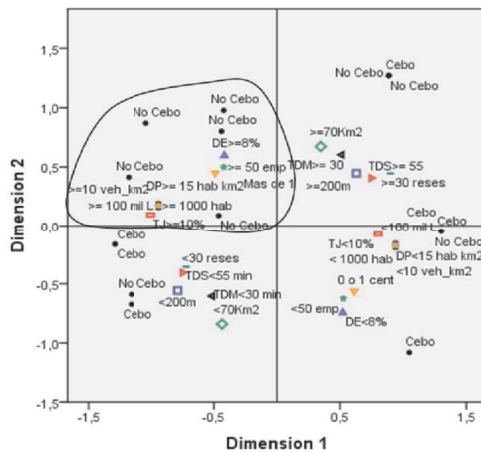
Las explotaciones especializadas en el cebo presentan una tendencia ( $P \leq 0,1$ ) a la obtención de mejores resultados económicos en Valor Añadido Bruto (VAB) con 32 mil € anuales. Estos se deben al mayor volumen de actividad productiva, pues tanto los ingresos como los costes, que difieren significativamente, son el doble en las que ceban. Las subvenciones, suponen el 56 y 62% de los ingresos totales en las que ceban y no ceban respectivamente, mostrando, por tanto, la gran dependencia que hacia ellas tienen estos sistemas (Veysset et. al., 2005).

**Tabla 2. Variables del entorno de las explotaciones analizadas en el AFCM**

Variables	Categorías	Medidas Discrim.		Variables	Categorías	Medidas Discrim.	
		Dim1	Dim2			Dim1	Dim2
Altitud en metros	<200m	0,495	0,248	Centros enseñanza	0 o 1	0,300	0,252
	>=200m				Más de 1		
Superficie en Km2	<70Km2	0,151	0,565	Tiempo matadero (min)	<30 min	0,264	0,363
	>=70Km2				≥ 30 min		
Población (habitantes)	< 1000	0,882	0,030	Tiempo Santander (min)	<55 min	0,560	0,165
	≥1000				≥55 min		
Densidad de población (hab./km2)	<15	0,882	0,030	Cuota lechera media (L/exp.)	<100	0,882	0,030
	≥15				≥100		
Tasa juventud*	<10%	0,803	0,007	Vacuno (cabezas)	<30	0,647	0,159
	≥10%				≥30		
Demandantes empleo*	<8%	0,218	0,444	Densidad vehículos (nº/km2)	<10	0,882	0,030
	≥8%				≥10		
Densidad de empresas (nº/1000 hab.)	<50	0,222	0,311				
	≥ 50						

\*Tasa de juventud=% < de 15 años s. pobl. total; Demandantes de empleo=% personas s. pobl. total

En la tabla 2 aparecen las 13 variables categóricas analizadas en el AFCM, con dos clases cada una y, aproximadamente, igual número de explotaciones. El AFCM, ha convergido en la 8ª iteración, explicando mediante dos ejes factoriales un 75,5% de la variabilidad total de los datos (inercia media 0,378). El primer eje, de mayor inercia (55,3%), agrupa municipios con mayor tasa de juventud, densidad de vehículos, cuota lechera media por explotación y población (Figura 1); el segundo en cambio, está caracterizado por mayor superficie del municipio, más demandantes de empleo y mayor tiempo de desplazamiento a matadero. Parece determinarse una asociación en el segundo cuadrante superior izquierdo, que afecta a 5 explotaciones no orientadas al cebo. Estas se corresponden con municipios de mayor dinamismo socio-económico (superior número de habitantes y densidad de población, gente joven, demandantes de empleo, densidad de vehículos y empresas, y centros de enseñanza), lo que quizás ha podido influenciar en la no diversificación de la actividad agraria en el cebo.



**Figura 1.** Diagrama bi-espacial del AFCM

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Atance, I. 2003. Distribución y consumo 68: 68-81.
- Olaizola, A. 2012. ITEA 18: 646-562.
- Serrano, E. 2013. XV Jornadas AIDA-ITEA, 736-738.
- Humada, M.J. 2015. Tesis doctoral.
- García, A. 2009. Animal 3, 152-165.
- ICANE. 2017. Fichas municipales de Cantabria.
- Veysset, P. 2005. INRA Prod. Anim., 18 (4): 265-275.

**Agradecimientos:** Al INIA por la financiación del proyecto RTA 2012-00084-C03, a Ángel Valentín, Javier García, Javier Terán, Marcos Domínguez, Fátima Gómez, a la Asociación de Productores de la Raza Tudanca y ganaderos encuestados.

### FATTENING ON TUDANCA CATTLE FARMS IN CANTABRIA: PRELIMINARY RESULTS

Eighteen Tudanca cattle farmers in Cantabria were interviewed at the end of 2014 to identify the presence of productive and socio-economic farm differences in terms of their fattening activity. Moreover, the relationship with the environment were also analyzed. Results revealed the existence of distinctive characteristics based on the cattle fattening activity. Findings also suggest the presence of a higher degree of economic and social viability for developing these activities. In addition, these farms seem to be located in territories with a lower socio-economic dynamism.

**Keywords:** autochthonous breed, cattle farms, fattening, multiple correspondence analysis

## **MODIFICACIONES EN EL SISTEMA DE SUMINISTRO DE AGUA DE CERDOS EN CRECIMIENTO Y FINALIZACIÓN**

Dolz, N., Sancho, V., Iborra, M. y Babot, D.

Dpto. Ciencia Animal. Universidad de Lleida. Avda. Rovira Roure 192, 25198 Lleida.

[noedolz@gmail.com](mailto:noedolz@gmail.com)

### **INTRODUCCIÓN**

La gestión de los purines sigue siendo una de las dificultades de la producción porcina en Cataluña debido a sus implicaciones medioambientales. Uno de los factores básicos en la generación de purines es la ineficiencia en la gestión del agua. En las explotaciones porcinas es tan importante la cantidad de agua (volumen, velocidad y presión) disponible para el cerdo, como la forma en que se subministra (tipo de bebedero, número de puntos, ubicación y disposición) Babot et al., (2009). Mediante cazoletas se disminuye el uso de agua por parte de los animales y se reduce la producción de purín (Brumm et al., 2000; Álvarez-Rodríguez et al., 2013b). Por tanto, una incorrecta gestión de las variables mencionadas, como puede ser conducir caudales inadecuados, puede incrementar el volumen de agua derrochada y consecuentemente el purín producido. Durante el periodo de crecimiento-acabado, la ingesta de agua del cerdo oscila de 1,9 hasta 6,8 l día<sup>-1</sup> dentro de la zona termo neutral Brumm et al., (2000), en función del tipo de bebedero y su disposición. Con un bebedero de chupete sin cazoleta mal gestionado los cerdos de engorde pueden perder más de la mitad del agua que usan Brooks, (1994).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia de la variación de altura y el flujo de los puntos de suministro de agua sobre su uso y desperdicio, así como sobre los parámetros productivos de los animales.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio tuvo lugar en el Centro de estudios porcinos de Torrelameu (Lleida). Constó de cuatro tratamientos con un diseño factorial 2x2 con los efectos posición y presión, donde cada tratamiento se replicó 4 veces y en cada réplica se incluyeron un total de 5 animales.

Dos de los tratamientos mantuvieron cazoletas fijas situadas a una altura de 18 cm del slat (F), y los otros dos (M) dispusieron de cazoletas móviles donde se elevó la altura a 26 cm del slat a las 14 semanas de vida para adaptarse a la altura de los animales. En dos de los tratamientos (BP) se mantuvo un flujo de 1.52 l/min (presión nominal de 0,8 bar), mientras que en los otros dos tratamientos (AP) se mantuvo un flujo de 2.48 l/min (presión nominal de 2,5 bar). En ambos casos se comprobó la presión del agua por sala diariamente. En todos los corrales se instaló el bebedero Aquaglobe 3110HP. Con el fin de evitar sesgos debido a condiciones ambientales desiguales, la temperatura y humedad relativa ambientales se registraron de forma continua cada 30 minutos con data logger Testo.

Las condiciones de manejo fueron similares a las de una explotación comercial, la edad de entrada fue a las 10 semanas de vida y la duración de la fase de engorde de 16 semanas. Se siguió un plan de alimentación de tres fases, donde los animales dispusieron de pienso y agua ad libitum. Se utilizaron un total de 80 machos enteros (Large White x Landrace) x Pietrain.

Para cuantificar el agua desperdiciada, se instaló un sistema de recogida de agua sobrante debajo de cada cazoleta. Este sistema estaba formado por una cazoleta suplementaria de acero inoxidable, conectada a un depósito de 25 l situado en la zona de fosa. La holgura entre la cazoleta de bebida y la cazoleta de recogida de agua desperdiciada fue de 10mm.

Quincenalmente se registró de manera individual el peso vivo de los cerdos, el consumo de pienso se evaluó en base a la cantidad de alimento ofertado y rehusado en cada corral.

Las variables principales del estudio para evaluar la eficiencia del uso del agua fueron el uso de agua diario (UA) por corral y el agua desperdiciada recolectada (DA) de manera semanal en cada corral. Las variables productivas fueron el consumo medio diario de pienso (CMD) por corral quincenalmente, la ganancia media diaria (GMD) y el índice de conversión de pienso (IC) por corral quincenalmente. En todos los casos la unidad experimental fue el corral.

Los datos fueron analizados mediante el programa JMP Pro 12 (SAS Institute INC., USA). Se utilizó un modelo lineal generalizado en el que se consideró la posición del bebedero, el flujo de agua y sus interacciones como efectos fijos.

Tras comprobar que las variables tuvieran una distribución normal se usó un test T-student para detectar las diferencias entre medias, considerando  $\alpha < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El uso de agua (UA) se vio afectado significativamente tanto por la posición de la cazoleta como por el flujo de agua y por la interacción entre ambos. Los detalles de la interacción entre los efectos posición y flujo en toda la duración del ciclo se muestra en la (tabla 1). Se observa que el UA en el tratamiento MxBP fue significativamente inferior a FxAP FxBP y MxAP. Respecto a MxBP el UA se redujo 0,785; 0,573;  $0,631 \pm 0,119$  l *animal*<sup>-1</sup> *día*<sup>-1</sup> respectivamente.

En todo el ciclo de 112 días, el uso de agua mostró diferencias significativas tanto al variar la posición como cuando se varía el flujo, reduciendo así UA en un 8,9% y 10,2% en los tratamientos M y BP, respectivamente (tabla 2). Aunque con bebederos de chupete sin cazoleta, Li et al. (2005) observaron también que un incremento del flujo derivaba en mayores cantidades de uso de agua ( $p=0,03$ ), pero en su caso la altura fija no aumentaba de forma significativa el agua usada por parte de los animales. Los valores de UA obtenidos en el presente estudio, fueron ligeramente inferiores que otros estudios similares con cazoletas (Li et al., 2005; Álvarez-Rodríguez et al., 2013a) y sustancialmente inferiores a los estudios realizados con chupetes sin cazoleta (Brumm et al., 2000; Li et al 2005; Álvarez-Rodríguez et al., 2013b).

El desperdicio de agua (DA) se vio afectado significativamente tanto por la posición como por el flujo de agua y por la interacción de ambos. La interacción FxBP aumentó el DA respecto a las combinaciones MxAP y MxBP (tabla 1). Cuando analizamos los efectos fijos, flujo y posición (tabla 2), se obtuvieron diferencias significativas en agua desperdiciada en el efecto posición del bebedero, pero no en el efecto flujo. Observamos que los tratamientos F incrementaron un 79,5% respecto a los M. Si bien en ambos casos (posición y flujo) se obtuvieron diferencias significativas en uso de agua, solo en el caso de la posición se observó un incremento del agua desperdiciada. Los porcentajes de desperdicio de agua con cazoleta obtenidos fueron inferiores a los reportados por Li et al. (2005) con chupete sin cazoleta y con flujos de agua menores. En el estudio anteriormente citado, con 0,6 y 1,23 l *min*<sup>-1</sup> se obtuvieron valores de 8,9 y 19,9% de DA respectivamente, en comparación a este estudio con cazoletas en el cual con 1,52 y 2,45 l *min*<sup>-1</sup> se ha obtenido un 1,4 y 2,1%.

Así como el uso de agua, la cantidad purín producido (PP) se redujo de manera muy importante respecto a estudios homólogos, situándose en valores entre 0,7 y 2,3 l *anim*<sup>-1</sup> *día*<sup>-1</sup>. Los valores reportados por Brumm et al. (2000) fueron desde 4,6 a 7 l *anim*<sup>-1</sup> *día*<sup>-1</sup> y los de Álvarez-Rodríguez et al. (2013) de 6,6 a 10,5 l *anim*<sup>-1</sup> *día*<sup>-1</sup>. Estos autores, como en el caso del presente estudio, no observaron diferencias significativas en reducción de volumen de purín. Esta disminución podría deberse a un manejo eficiente del agua en las instalaciones o también a una evaporación de los purines desde la fosa, efecto fue reportado por Tavares et al. (2014).

En lo que respecta a las variables productivas CMD, GMD, IC, como en el caso de otros estudios previos (Brumm et al., 2000; Li et al 2005; Álvarez-Rodríguez et al., 2013b) no se evidenciaron diferencias de crecimiento significativas ni para el efecto posición ni para flujo.

En conclusión, el presente estudio muestra que el uso de agua se reduce ajustando la posición del bebedero y manteniendo un menor flujo en los puntos de suministro de agua. El desperdicio de agua aumenta de manera significativa cuando se mantiene la cazoleta a una altura fija en toda la duración del ciclo de engorde. No obstante, no se pudieron demostrar diferencias significativas en producción de purín ni en rendimientos productivos de los cerdos de engorde.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez-Rodríguez, J., Hermida, B., Parera, J., et al. 2013. Anim Prod Sci 53:328–334. • Babot D, Forcada F, Vidal A, Buxadé C. 2009. Ganado porcino: Diseño de alojamientos e instalaciones. Servet. • Brumm M., Dahlquist J., Heemstra J. 2000. Swine Heal Prod 8:51–

57. • Li YZ., Chénard L., Lemay SP., Gonyou HW. 2005. J Anim Sci 83:1413–1422. • Tavares JMR., Filho PB., Coldebella A., Oliveira PA. 2014. Livest Sci 169:146–154.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen al personal técnico del Centre d'Estudis Porcins (CEP Diputació de Lleida, Spain) su asistencia técnica en el desarrollo del estudio.

**Tabla 1.** Resultados de la interacción entre posición y flujo para las variables; Uso de agua (UA l animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) Desperdicio de agua (DA l animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) Producción de purín (PP l animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) Consumo medio diario pienso (CMD g animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) ganancia media diaria (GMD g animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) índice de conversión de pienso (IC g g<sup>-1</sup>)

	FxAP		FxBP		MxAP		MxBP		se
<b>agua</b>									
UA	4,189	a	3,977	a	4,034	a	3,403	b	0,0846
DA	0,071	ab	0,105	a	0,047	b	0,051	b	0,0127
PP	1,933		1,910		1,954		1,852		0,2231
<b>productivas</b>									
CMD	1,793		1,770		1,727		1,706		0,0840
GMD	0,796		0,802		0,805		0,788		0,0190
IC	2,364		2,216		2,202		2,177		0,0859

Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

**Tabla 2.** Detalles de los efectos posición y flujo en toda la duración del ciclo en las siguientes variables Uso de agua (UA l animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) Desperdicio de agua (DA l animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) Producción de purín (PP l animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) Consumo medio diario pienso (CMD g animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) ganancia media diaria (GMD g animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) índice de conversión de pienso (IC g g<sup>-1</sup>)

	F	M	sig	AP	BP	sig	se
<b>agua</b>							
UA	4,083	3,719	***	4,111	3,690	***	0,060
DA	0,088	0,049	**	0,059	0,078		0,009
PP	1,875	1,830		1,904	1,801		0,170
<b>productivas</b>							
CMD	1,782	1,716		1,760	1,738		0,060
GMD	0,799	0,797		0,800	0,795		0,013
IC	2,290	2,189		2,283	2,196		0,061

\* indica  $p < 0,05$  \*\*indica  $p < 0,01$  \*\*\*indica  $p < 0,001$

## EFFECT OF FLOW RATE AND HEIGHT OF BOWL DRINKERS IN GROWING-FATTENING PIGS

**ABSTRACT:** Reducing water waste, and therefore the total volume of manure produced, is one of the ways to lower the environmental impact of intensive pig farming. The aim of this trial was to evaluate the influence of flow rate and height variation on bowl drinkers on their use and waste as well as on the productive parameters of the animals. 80 pigs were used in a 2×2 factorial design to determine effects of bowl (unadjusted 18cm vs adjusted 18-26 cm) and flow rates (1,5 vs. 2,5 L/min) on water intake and wastage. Water use was increased on the unadjusted height and higher flow rate treatments ( $P < 0,01$ ). Water wastage was increased ( $P < 0,01$ ) on the unadjusted vs. recommended bowl. Slurry production and productive performance there was not significant differences in both effect. Water wastage can be controlled through drinker management.

**Keywords:** drinking behavior, pigs, water intake, water wastage

## RACIONAMIENTO DE CONEJOS EN ENGORDE POR LIMITACION DE ACCESO AL ALIMENTO: EFECTO SOBRE LA PERFORMANCE PRODUCTIVA

Gonçalves, S.<sup>1</sup>, Soares, M.L.<sup>1</sup>, Cerqueira, J.O.L.<sup>1,2</sup>, Inês Calhoa<sup>3</sup>, Oliveira, J.<sup>4,5</sup>, Y Araújo, J.P.<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. <sup>2</sup>Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal. <sup>3</sup>De Heus Nutrição Animal, Cartaxo, Portugal. <sup>4</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viseu, Viseu. <sup>5</sup>Centro de Estudos em Educação, Tecnologias e Saúde (CI&DETS), IP Viseu. <sup>6</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo. pedropi@esa.ipvc.pt

### INTRODUCCIÓN

La alimentación de los conejos es uno de los factores que más influye en la rentabilidad de una granja. La mejora de la eficiencia de producción de conejos para carne depende del aumento de la productividad en la maternidad y en engorde, y de la disminución del índice de consumo y de la mortalidad (Duperray, 2016). En las últimas décadas, para controlar las enfermedades entéricas (ex enteropatía epizoótica del conejo – EEC), para mejorar la productividad en cunicultura, el crecimiento de conejos y reducir el uso de antibióticos en el destete, la investigación se ha centrado en las estrategias nutricionales (Trocino et al., 2013). En términos generales, la restricción de alimento puede ser eficaz para mejorar la salud digestiva (Gidenne et al., 2012), aumentar la digestibilidad de la dieta (Knudsen et al., 2014) mejorar la eficiencia alimenticia (Bovera et al., 2013) y reducir la excreción de nitrógeno de granjas de conejos (Gidenne et al., 2013). Los resultados más relevantes sobre los efectos de la restricción de alimentos se basan en conejos que viven en grupos (5-8 conejos), considerando las curvas teóricas *ad libitum*, ajustadas periódicamente (Knudsen et al., 2014) o limitar el tiempo de acceso al comedero (Romero et al., 2010). Este estudio tuvo como objetivo determinar los indicadores de producción en una explotación cunicola industrial con sistema semi-intensivo y técnica de racionamiento alimentario.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En una granja industrial de 1.750 conejas reproductoras con ambiente controlado, se han estudiado dos lotes de engorde, en un total de 864 conejos Hyplus. El manejo por bandas es de 42 días, con destetes realizados a 30 de mayo (lote 1) y 11 de julio (lote 2). Por lote se han acompañado 48 jaulas (9 conejos/jaula), 4% del total de animales en engorde. Se han realizado pesadas de camadas a los 36, 39, 43, 46, 49, 52, 56, 59 y 64 días de edad, totalizando 864 pesadas/banda. La metodología de la restricción de pienso consistió en el tiempo de acceso al comedero respetando la siguiente metodología: de 35 a 39 días de edad, 9 horas de acceso al pienso; de 39 a 43 días, 10 horas; de 43 a 46 días, 10:30 horas; de 46 a los 50, 11 horas; de 50 a 53 días, 11:30 horas; de 53 a 59 días, 12 horas; de 59 a 62 días, 13 horas; y de 62 a 67 días, coincidiendo la fecha de sacrificio, 14 horas de pienso disponible. Se administró a todos los lotes un pienso de engorde entre los 35-52 días y un pienso de acabado (sin coccidiostático) entre los 53-67 días. Los datos han sido analizados por el test *t-student* (IBM-SPSS - ver. 22) para evaluar la influencia del lote en el peso vivo a los 36 días, 64 días y en la ganancia media diaria (GMD). Se realizó una regresión lineal de los pesos vivos en relación a la edad, para evaluar lo crecimiento de los conejos en los dos lotes.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El control de la ingesta de alimentos es una práctica muy extendida en la cría de animales (Rommers et al., 2004). El conejo de engorde se alimenta tradicionalmente *ad libitum*. Sin embargo, se han estudiado diversas técnicas de restricción de alimentos, algunas basadas en la limitación del tiempo de acceso al comedero. El promedio de conejos destetados por parto en este estudio en los dos lotes (9,2) fue superior al mencionado por Coutelet (2015). La salida de los conejos para el matadero se llevó a cabo a los 67 días de edad en los dos lotes, con pesos vivos a salida de 2,36 kg y 2,41 kg por conejo, y 18,18 kg y 19,51 kg por inseminación, respectivamente, en lote 1 y 2 (Tabla 1). La GMD estimada fue 43,9 g/día y 45,1 g/día, con un buen ajuste entre edad y peso vivo ( $R=0,98$  y  $R=0,96$ ) (Figura 1). No

hubo diferencias significativas entre lotes para el PV a los 36 y 64 días de edad y para la GMD. Los pesos medios globales al destete han sido de 1,0 kg y a los 64 días de 2,2 kg, con un GMD de 42,90 g/día para los dos lotes (Tabla 2). La GMD es similar a la obtenida por Gidenne et al. (2009) (43,5 g/día) con alimentación de conejos *ad libitum*, pero inferior a los 46,1 g/día (*ad libitum*) y 44,9 g/día (*restricción diaria*) (Birolo et al., 2016). El coeficiente de variación (CV) del PV ha disminuido entre los 36 días de edad y los 64 días, significando una mayor uniformidad del peso final. Sin embargo, el CV ha sido superior en lote 2 coincidiendo el engorde con el mes de julio/agosto. Se puede desatacar el bajo CV para los tres indicadores. Las tasas de mortalidad fueron de valor reducido (2,4 y 2,0%, respectivamente, en los lotes 1 y 2, resultado similar al obtenido por Perrier (1998) con conejos alimentados con el 80% del nivel de *ad libitum* y inferiores a los 6,5% de Birolo et al. (2016), con restricción diaria. También Gidenne et al. (2009) y Tumová et al. (2006) encontraron una disminución significativa en la mortalidad con conejos sometidos a programas de restricción alimentaria. Es destacable la repetibilidad de los resultados entre los lotes, traduciéndose en la ausencia de diferencias en indicadores fundamentales como el PV, GMD y la mortalidad. De todos modos, el racionamiento debe siempre evaluarse teniendo en cuenta el bienestar animal y su comportamiento productivo. Por consiguiente, parece promisorio aplicar una restricción alimentaria moderada en los conejos de engorde.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Birolo, M., Trocino, A., Zuffellato, A., Xiccato, G. 2016. Anim. Feed Sci. Technol. 222: 194-203.
- Bovera, F., Lestingi, A., Piccolo, G., Iannaccone, F., Attia, Y.A., Tateo, A. 2013. Animal 7: 1-7.
- Coutelet, G., 2015. Cuniculture.info. 42: 39-40.
- Dalle Zotte, A., Rémignon, H., Ouhayoun, J. 2005. Meat Sci. 70: 301-306.
- Duperray, J. 2016. VIII Jornadas de Cunicultura ASPOC, 42-66.
- Gidenne, T., Feugier, A., 2009. Animal. 3-4: 501-508.
- Gidenne, T., Combes, S., Fortun-Lamothe, L. 2012. Animal 6: 1407-1419.
- Gidenne, T., Combes, S., Fortun-Lamothe, L. 2013. Anim. Feed Sci. Technol. 183: 142-150.
- Knudsen, C., Combes, S., Briens, C., Coutelet, G., Duperray, J., Rebours, G., Salaun, J.M., Travel, A., Weissman, D., Gidenne, T. 2014. Livest. Sci. 169: 96-105.
- Perrier, G., Ouhayoun, J. 1996. Proc 6th World Rabbit Cong. 3: 225-232.
- Romero, C., Cuesta, S., Astillero, J.R., Nicodemus, N., De Blas, C. 2010. World Rabbit Sci. 18: 211-218.
- Rommers, J.M., Meijerhof, R., Noordhuizen, J.P.T.M., Kemp, B. 2004. Animal Rep. Sci. 81: 151-158.
- Trocino, A., García, J., Carabaño, R., Xiccato, G. 2013. World Rabbit Sci. 21: 1-15.
- Tumova, E., Zita, L., Stolc, L. 2006. Czech J. Ani. Sci. 51: 214-219.

**Agradecimientos:** Al Sr. Miguel Leal de la Cuniminho (Marrancos-Vila verde), por la posibilidad de realización del presente estudio en su explotación. J. Oliveira agradece al FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P. (projeto UID/Multi/04016/2016) e al CI&DETS por el apoyo.

**Tabla 1.** Indicadores productivos en los dos lotes

Lote	1	2	Sig.
Edad a la salida (días)	67	67	-
Peso vivo medio/conejo al sacrificio (kg)	2,36	2,41	-
Peso vivo conejos vendidos por inseminación (kg/IA)	18,18	19,51	-
Tasa de mortalidad en el engorde (%)	2,40	2,00	-
Peso vivo medio/conejo a los 36 días (kg)	1,02	0,99	<i>ns</i>
Peso vivo medio/conejo a los 64 días (kg)	2,23	2,19	<i>ns</i>
Ganancia media diaria (g/día)	43,08	42,90	<i>ns</i>

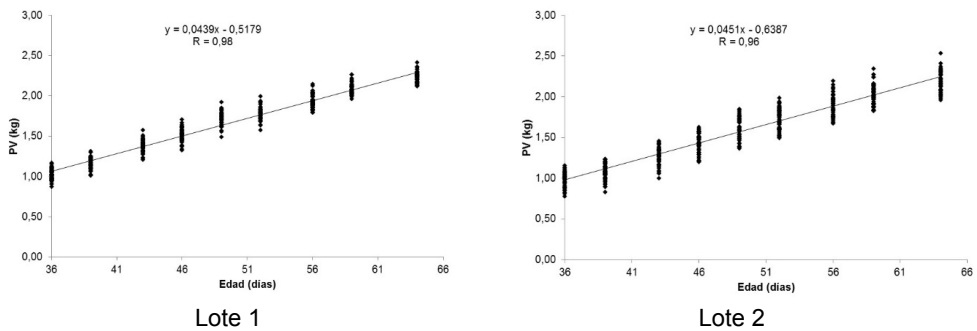
*Sig.*: nivel de significación; *ns*: diferencias no significativas.



**Tabla 2. Peso vivo (kg) y ganancia media diaria (g/día) de conejos en los dos lotes de engorde**

Indicador	Lote	Media±dt	Mínimo	Máximo	CV (%)
PV (36 días)	1	1,02±0,07	0,87	1,17	6,43
	2	0,99±0,09	0,78	1,16	9,20
	Sig.	ns			
PV (64 días)	1	2,23±0,07	2,12	2,42	2,94
	2	2,19±0,13	1,96	2,54	5,84
	Sig.	ns			
GMD	1	43,08±1,68	37,30	46,43	3,89
	2	42,80±3,73	33,73	54,71	8,69
	Sig.	ns			

Sig.: nivel de significación; ns: diferencias no significativas.



**Figura 1. Crecimiento de conejos en los dos lotes**

### GROWING RABBITS FEED RESTRICTION BY TIME-LIMITED ACCESS: EFFECT ON PRODUCTIVE PERFORMANCE

**ABSTRACT:** The efficiency of rabbit meat production depends on the reproductive and productive results. The feeding of rabbits is one of the factors that influence the profitability of a farm. The feed restriction for growing rabbits is a practice in many countries, because it reduces the incidence of digestible disorders, particularly epizootic rabbit enteropathy. This study aimed to determine productive indicators on a farm in the semi-intensive system that has adopted the feed restriction technique. In a commercial farm with 1.750 females, two lots of fattening rabbits were studied, on a total of 864 rabbits spread over 96 cages. The results were analyzed by *t-student* test to evaluate the influence of lots on live weight at 36 days, 64 days and average daily gain-ADG. There were no significant differences in live weight and ADG between lots, with 1.0 kg at weaning and 2.2 kg at 64 d. The ADG were 43.08 g / day for lot 1 and 42.90 g / day for lot 2. The mortality rate in the lot 1 and 2 (2.4% and 2.0%) was low. For each artificial insemination 18.18 kg in lot 1 and 19.51 kg in lot 2 were achieved. This feeding strategy represents a double benefit in terms of feed costs and lower mortality of growing rabbits.

**Keywords:** Cuniculture, Average daily gain, Mortality, Feed restriction

## **CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL CABALLO DE LA MONTAÑA ASTURIANA**

Lomillos, J.M.<sup>1</sup>, Armenteros, J.A.<sup>1</sup>, Álvarez, A.<sup>2</sup>, Gómez-Seco, C.<sup>3</sup>, Fernández-Alegre, E.<sup>4</sup> y Alonso, M.E.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Asociación de Criadores de Ganado Equino de la Montaña Asturiana (ACGEMA), Oviedo.

<sup>3</sup>Departamento de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. <sup>4</sup>IDESGAL, Universidad de León. [marta.alonso@unileon.es](mailto:marta.alonso@unileon.es)

### **INTRODUCCIÓN**

Las razas de caballos autóctonos españoles existentes hasta el siglo XIX no eran adecuadas para el tiro pesado y desde que a finales del siglo XVI Juan Jerónimo de Tiutti introdujera en nuestro país sementales flamencos, napolitanos y daneses, buscando aumentar la corpulencia de los caballos autóctonos, se ha recorrido un largo camino de intentos, fracasos y éxitos hasta conseguir actualmente la consolidación de diversas poblaciones dedicadas a la producción de caballos cuya aptitud principal es la producción de carne.

Tomando como base la cabaña de yeguas autóctonas, los Servicios de Cría Caballar del Ministerio de Defensa realizaron, a partir de los años 30 del siglo pasado, una destacada labor de mejora utilizando diversas razas, de las cuales el postier bretón resultó ser la más adecuada para formar las principales razas de carácter cárnico de España cuyos estándares se fijaron en las siguientes fechas: hispano-bretón (H-B) en 1998, en 1999 el burguete (B), en 2001 la jaca navarra (JN), en 2008 el caballo pirenaico catalán (CPC) y en 2015 el caballo de monte del País Vasco (CMPV).

En el Principado de Asturias existen efectivos de caballos pesados criados en la montaña sin estar encuadrados en ninguna agrupación racial reconocida. El objetivo del presente trabajo es analizar y caracterizar racialmente dichos efectivos comprobando si existen diferencias con los efectivos H-B que puedan sustentar su consideración como nueva raza.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Entre los meses de mayo de 2015 y abril de 2016 se llevó a cabo un estudio morfológico sobre un total de 147 ejemplares pertenecientes a socios de la Asociación de Criadores de Ganado Equino de la Montaña Asturiana (ACGEMA) de los cuales 28 fueron machos y 119 hembras, repartidos en los siguientes concejos con el objetivo de que la muestra fuera lo más representativa posible de toda la población: Teverga, Lena, San Martín del Rey Aurelio, Belmonte de Miranda, Grado, Mieres, Tineo, Ribadesella, Oviedo, Siero, Salas y Laviana.

Para la comparación se emplearon datos procedentes del estudio realizado para la caracterización de la raza H-B por miembros de este equipo de investigación (Alonso, 1999) sobre 54 machos y 135 hembras de los municipios de Villablino, Pola de Gordón, La Robla, Boñar y Cistierna en la provincia de León.

En ambos trabajos se procedió al registro en diversas jornadas de campo de los parámetros que aparecen en las Tablas 1 y 2, utilizando compás de brocas, cinta métrica y bastón de Aparicio.

El estudio estadístico para analizar las diferencias entre ambos grupos equinos se llevó a cabo mediante ANOVA de una vía empleando el programa SPSS para Windows (versión 15.0).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

A la vista de los resultados obtenidos en el presente trabajo los machos del caballo de la montaña asturiana presentan alzada a la cruz media de 147 cm y un diámetro longitudinal de 183 cm encuadrándose como animal sublongilíneo, pues el índice de cortedad relativa es de 90.

La longitud de la cabeza es de 65 cm y su anchura 24 cm, resultando proporcionada con el resto del cuerpo, unida al cuerpo por un cuello de buen desarrollo muscular, corto y ligeramente arqueado, con crinera y tupé abundantes y de longitud de las crines entre media y larga. El dorso ligeramente ensillado termina en grupa doble y redondeada en la mayoría de los casos. La cola de nacimiento medio, poblada y con crines largas. Extremidades robustas, con brazos y antebrazos musculados con un hueco subesternal de 69 cm,

perteneciendo al grupo de animales “cerca de tierra”, carácter deseable en los productores de carne. En general se puede definir como un caballo corpulento y robusto, sublongilíneo, de carácter tranquilo que facilita el manejo y capas uniformes.

En las hembras la alzada a la cruz media es de 144 cm y la longitud corporal de 184 cm. El cuello caracterizado por sus tablas musculadas es corto y de aspecto piramidal, con crinera y tupé abundantes y de longitud media. El dorso tiende en mayor medida al ensillamiento y la grupa es doble y larga, 64 cm, con una anchura media de 55 cm, de modo que los índices pelvianos resultan adecuados para el parto al tiempo que proporcionan una buena conformación carnicera. La cola suele ser de nacimiento medio con crin abundante y larga. En líneas generales, las hembras del caballo de la montaña asturiana presentan unos caracteres “maternales” adecuados para su explotación en sistemas extensivos.

Comprobamos la existencia de diferencias estadísticamente significativas con los datos de los caballos H-B de la provincia de León publicados por Alonso (1999) tanto en el caso de machos como de hembras (Tablas 1 y 2). Los valores medios coinciden con los presentados en el estudio de Gómez et al. (2012) también de León, salvo en el caso del diámetro longitudinal que resulta superior en el estudio del año 2012 debido a que se realizó en los efectivos de la zona de Babia mientras los publicados en 1999 presentan resultados de toda la provincia. Se eligió la población de caballos H-B de la provincia de León por ser los geográficamente más próximos pudiendo existir entre ellos mayores similitudes que con otras poblaciones tanto de la propia raza H-B localizadas en Burgos y Palencia, como de razas de aptitud cárnica como el B o el CPC. Como se puede comprobar los caballos de la montaña asturiana son significativamente más largos tanto en la longitud de la grupa como de todo el cuerpo, aspectos muy deseables pues en el lomo y cadera se encuentran piezas de alto valor en carnicería. Por otro lado su alzada es inferior, aunque no así su corpulencia dado que presentan una alzada al hueso subesternal o longitud de pierna menor, resultando ser animales con menores pérdidas por las extremidades en la canal.

Comprobamos como los valores medios de los parámetros estudiados tanto en machos como en hembras son diferentes a los publicados en el estudio de Gómez et al. (2012) para las razas CPC, B, H-B y JN, especialmente en los parámetros mencionados anteriormente que reflejan la longitud corporal y el espacio de hueso subesternal. El valor medio de longitud de la grupa de los caballos asturianos solo resulta similar al mencionado por Druml et al. (2008) en la raza austriaca Noriker de caballo de tiro.

Las significativas diferencias encontradas en los parámetros morfológicos valorados parecen justificar la consideración de la población de caballos de la montaña asturiana como una nueva raza de caballos pesados.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, M.E. 1999. El caballo Hispano-Bretón. En: Razas equinas de Castilla y León, (Ed) Junta de Castilla y León, Consejería de Agricultura y Ganadería. Gráficas Varona, Salamanca: 177-225.
- Gómez, M.D., Azor, P.J., Alonso, M.E., Jordana, J., Valera, M. 2012. Morfological and genetic characterization of Spanish heavy horse breeds: Implications for their conservation. *Livest. Sci.* 144: 57-66.
- Druml, T., Baumung, R., Sölkner, J. 2008. Morphological analysis and effect of selection for conformation in the Noriker draught horse population. *Livest. Sci.* 115 (2-3): 118-128.

**Agradecimientos:** Este estudio fue promovido por la Asociación de Criadores de Ganado Equino de la Montaña Asturiana (ACGEMA) con el apoyo y la financiación del Principado de Asturias.

**Tabla 1.** Resultados del ANOVA de una vía realizado entre los valores medios  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de diferentes parámetros morfológicos registrados en caballos machos de la montaña asturiana (CMA) e hispano-bretones (H-B). \*\*\*  $p < 0,0001$  \*\*  $p < 0,001$

	Media ( $\pm$ D.E.) CMA	Media ( $\pm$ D.E.) H-B	F <sub>(1, 80)</sub>	p
Alzada Cruz	146,9 $\pm$ 4,9	153,5 $\pm$ 5,2	30,51968	***
Alzada Dorso	140,1 $\pm$ 5,1	144,9 $\pm$ 5,4	15,60491	**
Alzada Grupa	148,1 $\pm$ 5,4	154,1 $\pm$ 5,2	24,16740	***
Anchura Iliaca	55,1 $\pm$ 7,5	62,1 $\pm$ 3,4	33,04078	***
Longitud Grupa	65,1 $\pm$ 6,3	54,8 $\pm$ 3,7	84,67055	***
Diámetro Longitudinal	183,4 $\pm$ 10,6	166,1 $\pm$ 7,6	71,71615	***
Alzada hueco subesternal	69,2 $\pm$ 3,8	76,5 $\pm$ 6,2	32,52812	***
Longitud de la cabeza	64,9 $\pm$ 4,7	74,9 $\pm$ 5,1	74,50206	***
Anchura de la cabeza	24,4 $\pm$ 1,5	27,2 $\pm$ 1,4	68,08508	***

**Tabla 2.** Resultados del ANOVA de una vía realizado entre los valores medios  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de diferentes parámetros morfológicos registrados en yeguas de la montaña asturiana (CMA) e hispano-bretonas (H-B). \*\*\*  $p < 0,0001$

	Media ( $\pm$ D.E.) CMA	Media ( $\pm$ D.E.) H-B	F <sub>(1, 252)</sub>	p
Alzada Cruz	144,4 $\pm$ 5,2	154,3 $\pm$ 4,6	251,4447	***
Alzada Dorso	137,8 $\pm$ 5,3	146,4 $\pm$ 4,9	177,3101	***
Alzada Grupa	146,5 $\pm$ 6,2	154,9 $\pm$ 4,6	149,7840	***
Anchura Iliaca	55,2 $\pm$ 7,2	63,5 $\pm$ 3,9	120,9383	***
Longitud Grupa	63,8 $\pm$ 5,8	55,1 $\pm$ 10,0	69,7064	***
Diámetro Longitudinal	184,6 $\pm$ 9,9	167,3 $\pm$ 18,1	86,3190	***
Alzada hueco subesternal	66,8 $\pm$ 4,6	74,9 $\pm$ 3,8	238,6719	***
Longitud de la cabeza	64,6 $\pm$ 3,4	75,4 $\pm$ 4,0	516,0185	***
Anchura de la cabeza	23,8 $\pm$ 1,7	27,3 $\pm$ 1,2	359,7355	***

## TITLE: MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ASTURIAN MOUNTAIN HORSES

**ABSTRACT:** There is a population of heavy horses that grazes in the Asturias mountains without being framed in any recognized breed. The aim of this work is to analyze and characterize this population and to verify if there are differences with the Hispano-Bretón horse breed that can support their consideration as a new breed.

The asturian mountain horses have mean values of height at withers 147 and 144 cm and a body length of 183 and 185 cm, being classified as sublongilineal animals with double and rounded rump of great length 65 and 64 cm, sturdy extremities, with muscular arms and forearms with a leg length of 69 and 67 cm, males and females respectively, belonging to the group of animals "near of land", a desirable character in meat producers.

We verified the existence of statistically significant differences with the data of the H-B horses of the province of Leon both for males and females, been significantly longer both in rump length and body length, very desirable aspects because the great economic value of the loin and hip pieces.

The significant differences found in the assessed morphological parameters could to justify the consideration of the asturian mountain horse population as a new breed of heavy horses.

**Keywords:** Body measures, heavy horse, meat production.

## CARACTERIZACIÓN DE LOS BEBEDEROS PORCINOS A NIVEL DE LABORATORIO

Parera, J.<sup>1</sup>, Sancho, V.<sup>2</sup>, Dolz, N.<sup>2</sup>, Ortiz, C.<sup>1</sup>, Piñol, A.<sup>1</sup> y Babot, D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Área de Fertilización y Gestión de la Materia Orgánica del Servicio de Suelos y Gestión Medio Ambiental de la Producción Agraria. Departamento de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (DARP) de la Generalitat de Catalunya. <sup>2</sup> Grupo Gestión Porcina.

Departamento de Producción Animal de Agrotecnio-Centre Estudis Porcins-Universitat de Lleida. Avenida Rovira Roure, 191 (25198) Lleida. [iparera@gencat.cat](mailto:iparera@gencat.cat)

### INTRODUCCIÓN

La optimización de los recursos y la gestión posterior de los desechos cada vez tienen una importancia mayor para la viabilidad de la explotación ganadera. Uno de los recursos más consumidos y cada vez más limitantes es el agua. El engorde de los casi 18 millones de cerdos anuales producidos en España (Magrama, 2017) implica un consumo de entre 7,5 y 9,5 hectómetros cúbicos de agua, teniendo en cuenta que por cada quilo de pienso consumido (MS) el animal bebe entre 2,2 y 2,8 litros de agua (Quiles y Hevia, 2004). A nivel individual, un cerdo de engorde consume entre 400 y 500 litros de los cuales, según Mroz *et al.* (1995) el 30% del agua consumida se eliminará en la orina, el 28% en las heces y el 29% en la piel y en los pulmones.

Actualmente hay muchas tipologías y casas comerciales de bebederos. La elección del tipo de chupete dependerá: del destino (para humedecer el pienso y/o para el consumo de agua de los animales), de la tipología de los animales a que va destinado (lechones, cerdas, engorde...), de si dispone o no de un sistema de retención del agua (cazoleta, sin cazoleta, recipiente del comedero), de la tipología de chupete (pitorro, pico-pato, bola y cilindro) y si dispone de algún sistema de regulación (control de presión, diferentes diámetros del orificio de salida, etc.).

Para controlar el consumo de agua es necesario saber los caudales de agua (l/min) que abastecen los bebederos así como la presión del agua en las conducciones.

En este sentido, el objetivo de este trabajo es estudiar cómo afecta el tipo de bebedero y la presión del circuito de agua en el caudal de agua suministrada a los animales (l/min). En base a los resultados obtenidos también se pretende sensibilizar al sector de la importancia de la selección de bebederos para una gestión eficiente del agua, para ello se diseñan fichas descriptivas de los diferentes bebederos (material de fabricación, el dimensionamiento, el sistema de regulación y de protección y el caudal a diferentes presiones).

### MATERIAL Y MÉTODOS

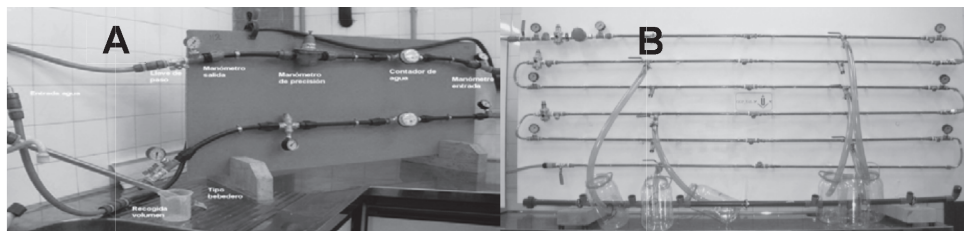
Los chupetes se componen de diferentes piezas, algunas de las cuales son comunes en los diferentes modelos. Todos disponen de un pitorro, un muelle y una carcasa. El diseño de estas tres piezas varía según tipo y modelo. La mayor parte de los bebederos también disponen de filtro y, algunos de ellos, también disponen de un sistema de regulación. Los sistemas de regulación basan su funcionamiento en la generación de pérdidas de carga en la entrada de agua de los chupetes de forma que repercute en el caudal de salida.

Se han caracterizado un total de 23 bebederos de manera individual donde se ha descrito (el material, las dimensiones, los pesos, los diferentes componentes y las diferentes posiciones para poder ser utilizado) y se ha evaluado *la fuerza que realiza el muelle dentro del bebedero* en estado de reposo con la ayuda de un dinamómetro (Fidens-IP2) y de un tensor. Se ha medido también los caudales a diferentes presiones de circuito de agua (0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 2,5 - 3 - 3,5 - 4 bar).

Para poder realizar este análisis se diseñó un circuito donde se pudiera controlar y modificar la presión y medir el caudal de salida (figura 1). Se realizó un total de 5 repeticiones por cada tipo de chupete analizado.

Finalmente, se valoró el efecto de la pérdida carga en una misma línea del circuito de agua para la utilización simultánea de diferentes bebederos ya que la presión óptima a nivel de bebedero no es la misma cuando se analiza a nivel de circuito. Se diseñó un circuito (figura 1) que disponía de 3 reguladores de presión y de 7 manómetros para poder simular el efecto de la pérdida de presión que tiene lugar en una línea de distribución de agua. Se estudiaron diferentes situaciones, a presión nominal inicial constante (4 y 2 bar) y disminuyendo la presión a lo largo del circuito (4, 2 y 1 bar).

Se hace análisis estadístico de la presión, la tipología de chupete y de las repeticiones realizadas por cada tipo de chupete.



**Figura 1.** A) Circuito de agua para realizar el análisis individual de caudal de los chupetes a diferentes presiones; B) Circuito de agua donde se analizó el efecto de la pérdida de presión.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De manera general, a medida que incrementa la presión del circuito de agua incrementa el caudal de salida de los bebederos ( $P > 0,05$ ), pasando de un promedio de 1,255 l/min a una presión del circuito está a 4 bar, a un promedio de 2,622 l/min cuando la presión del circuito sube hasta 4 bar. La mayor parte de recomendaciones de caudal se sitúa entre 1 litro minuto para engorde y gestación y valores próximos a 2 litros/minuto para gestación (Gonyou, 1996; Alvarez y Babot 2015).

Cuando se analiza teniendo en cuenta el modelo comercial, la variabilidad del caudal según la presión aún es mayor. En los modelos de chupetes de bola analizados (n: 4), cuando la presión del circuito está a 4 bar, la variación de caudal entre modelos puede llegar a ser de 3,5 l/min, (máx.: 4,5 l/min – mín.: 1 l/min). También hay un modelo que independientemente de la presión del circuito de agua (1 – 4 bar) el caudal es constante (1 l/min). Cuando se analiza los chupetes de pitorro, aún hay más diferencias de caudales según la presión. Por ejemplo, cuando la presión es de 4 bar el caudal del chupete de las diferentes casas comerciales se sitúa entre 1 a 6,5 l/min (figura 2).

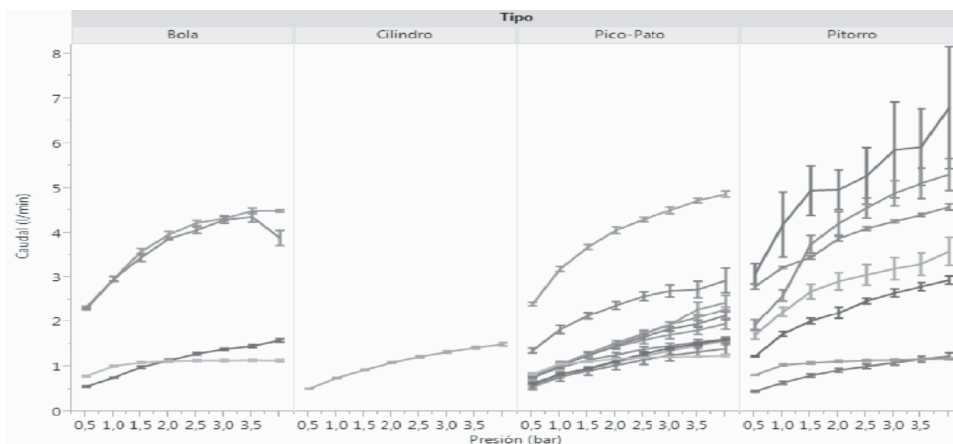
Cuando se analiza el efecto de la pérdida de carga del circuito con la variación de caudal de los diferentes chupetes incorporados a lo largo de él, se observa que a una presión constante en todo el circuito (2 o 4 bar) el caudal entre los chupetes es parecido, aunque cuando la presión es de 4 bar las diferencias son mayores. Cuando la presión del circuito pasa de 4 a 1 bar escalonadamente debido a las pérdidas de carga se observa una gran variación de caudal entre los chupetes del circuito. Para los chupetes de pitorro el caudal al inicio del circuito es entre 3 y 4 l/min, según tipo comercial, pero al final del circuito el caudal cae hasta 3,5 y 1 l/min. En cambio, para los chupetes de pico-pato analizados, la diferencia de caudal entre los diferentes puntos del circuito fue menor (figura 3).

A parte de disponer de unas fichas técnicas para el buen manejo, este estudio constata que, para optimizar el uso del agua a las granjas de cerdos es necesario elegir el tipo de bebedero más adecuado en función de las condiciones de la instalación del agua (caudal, presión, pérdida de carga en el circuito, etc.), de las características del bebedero y de las prestaciones técnicas del mismo. En este estudio también se visualiza la importancia de que las instalaciones de distribución de agua puedan garantizar una presión y un caudal estable y homogéneo en todos los puntos de salida del circuito de agua de bebida de la explotación.

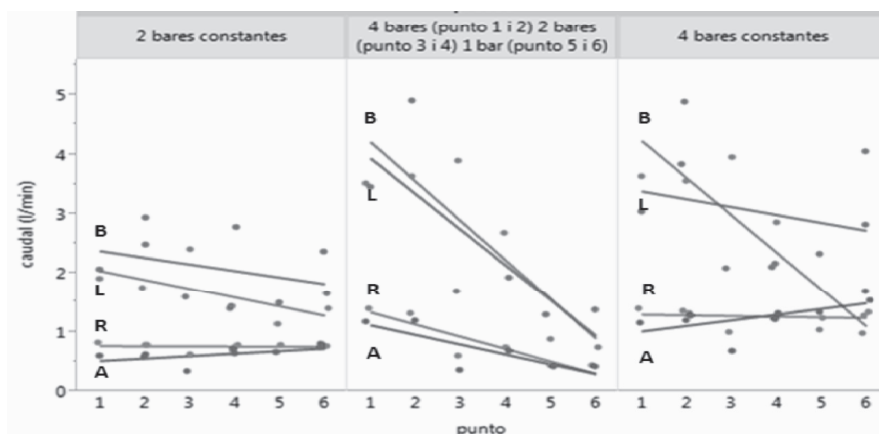
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Quiles, A., Hevia, ML. (2004). Producción porcina intensiva. Ed Agrícola Española. • MAGRAMA, 2016. [www.magrama.gob.es](http://www.magrama.gob.es). Caracterización del sector porcino español 2015. • Mroz, Z., Jongbloed AW, Lenis MP, Vreman K, 1995. Water in pig nutrition: Physiology, allowances and environmental implications. Nutr Res Rev. 8: 137-164 • Gonyou, H. 1996, Water and drinker management. [www.prairienwine.com/pdf/1311.pdf](http://www.prairienwine.com/pdf/1311.pdf) • Álvarez J. Babot, D., 2015. Factores de variación del consumo de agua y producción de purín en cerdos de engorde. PorciNews nº 3 septiembre 2015.

**Agradecimientos:** Proyecto Life+ Futur Agrari (ENV/ES/000647)



**Figura 2.** Análisis del caudal (media en l/min) según presión (bar) del circuito de agua i tipología de chupete (n=920)



**Figura 3.** Análisis del caudal (l/min) de los diferentes bebederos ubicados en forma continua en un circuito de agua según la pérdida de carga (B y L: chupetes de pitorro; A y R: chupetes pico-pato)

### CHARACTERIZATION OF SWINE DRINKERS AT LABORATORY LEVEL

**ABSTRACT:** This study describes 23 different types of commercial nipples by grouping them into 4 groups, (spout, beak-duck, ball and cylinder) and shows how pressure variations in the water line may affect the drinker flow rate. Therefore, this work will provide technical data to improve the management of water in pig farms. The results suggest that is necessary to choose the most suitable nipple type according to each installation design (flow, pressure, pressure drop in the line...). Additionally, it is shown the importance of water distribution facilities ensuring a stable and homogenous pressure and flow along the water line.

More information can be found at the website of the project [www.futuragrari.cat](http://www.futuragrari.cat).

**Keywords:** pigs, nipple, flow rate, pressure

## IMPACTO DEL VIRUS PRRS Y DE LA APLICACIÓN DE MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD SOBRE LA PRODUCTIVIDAD Y LA RENTABILIDAD DE LAS EXPLOTACIONES PORCINAS

Pascual M.<sup>1</sup>, Alós N.<sup>2</sup>, Martín G.<sup>3,4</sup>, Mateu E.<sup>3,4</sup>, López P.<sup>2</sup> y Quintanilla R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Genètica i Millora Animal, IRTA, Torre Marimon, Caldes de Montbui, 08140 Barcelona, Spain. <sup>2</sup>Grup BDporc, Genètica i Millora Animal, IRTA, PCiTAL, Parc de Gardeny, 25003 Lleida. <sup>3</sup>Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), IRTA, Campus UAB, 08193 Bellaterra. <sup>4</sup>Departament de Sanitat i Anatomia Animals, UAB, 08193 Bellaterra, Barcelona. mariam.pascual@irta.cat

### INTRODUCCIÓN

El síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) es actualmente la enfermedad vírica más importante en la cabaña porcina por su repercusión a nivel productivo y económico (Holtkamp et al., 2013; Nieuwenhuis et al., 2012). El control de la enfermedad incluye la inmunización y la aplicación de medidas de bioseguridad en las explotaciones. Más allá de los problemas reproductivos y respiratorios en lechones, los brotes de esta enfermedad tienen dramáticas consecuencias sobre los índices técnicos y la cuenta de resultados de las explotaciones porcinas (Nieuwenhuis et al., 2012). Sin embargo, el conocimiento acerca de las consecuencias productivas de la presencia del virus del PRRS (PRRSv) en situaciones aparentemente subclínicas es limitado, así como de la posible mejora de estos índices tras la aplicación de medidas de bioseguridad orientadas a evitar la circulación del virus en una explotación. El objetivo de este trabajo es estudiar el impacto de la presencia aparentemente subclínica del PRRSv y de la implementación de medidas de bioseguridad para el control del virus sobre los parámetros productivos y económicos en explotaciones porcinas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en 67 explotaciones porcinas de diversas cooperativas de Cataluña y Aragón. La presencia del PRRSv se determinó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) en sangre de lechones al nacimiento. Un primer análisis realizado entre el octubre de 2014 y marzo de 2015 permitió clasificar las explotaciones como inicialmente inestables ( $I_0$ ) o inicialmente estables ( $E_0$ ). Posteriormente, entre julio y diciembre de 2015, se instauró un plan piloto consistente en la implantación de medidas de bioseguridad orientadas al control del PRRSv en 33 de las explotaciones. En estas explotaciones se analizó la presencia del PRRSv por RT-PCR al inicio del plan piloto y en tres seguimientos adicionales realizados cada 90 días aproximadamente. Los datos productivos correspondientes al periodo comprendido entre julio de 2014 y septiembre de 2016 fueron obtenidos del Banco de Referencia del Porcino Español (BDporc) para 35 de las 67 explotaciones inicialmente analizadas. Para estas granjas se calcularon los principales índices (re)productivos agrupados por trimestres. Así mismo se recogieron los datos económicos obtenidos entre julio de 2014 y julio de 2015 en 9 de las 67 explotaciones participantes, pertenecientes todas ellas a una única cooperativa.

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El efecto de la presencia inicial del PRRSv sobre los índices productivos y económicos obtenidos previamente al inicio del plan piloto se analizó mediante el modelo  $y_{ijk} = V_{0i} + G_j(V_{0i}) + T_k + e_{ijk}$ , donde  $y_{ijk}$  era el dato de la granja  $j$  en situación epidemiológica inicial  $i$  en el trimestre  $k$ ,  $V_{0i}$  la situación epidemiológica inicial de la explotación (2 niveles;  $I_0$ ,  $E_0$ ),  $G_j(V_{0i})$  el efecto aleatorio de la granja jerarquizado a situación epidemiológica inicial (31 niveles en índices productivos; 9 niveles en económicos),  $T_k$  el efecto del trimestre (4 niveles: del 3er trimestre de 2014 al 2o de 2015), y  $e_{ijk}$  el residuo del modelo. El efecto de la implementación del plan piloto sobre los datos productivos se analizó mediante el modelo  $y_{ijk} = PP_i + G_j(PP_i) + T_k * PP_i + e_{ijk}$ , donde  $y_{ijk}$  era el dato productivo de la granja  $j$  con situación de plan piloto  $i$ ,  $PP_i$  el efecto de la aplicación del plan piloto (2 niveles; si y no),  $G_j(PP_i)$  la granja jerarquizada a situación de plan piloto (36 niveles) tratado como efecto aleatorio,  $T_k$  el efecto trimestre (5 niveles; del 3er trimestre 2015 a 3er trimestre de 2016), y  $e_{ijk}$  el residuo del modelo.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las diferencias entre granjas inicialmente estables o inestables al PRRS se muestran en la Tabla 1. Las explotaciones con presencia inicial del PRRSv mostraron una mortalidad en lactación significativamente mayor que las granjas que no tenían circulación del virus (21,1% vs 16,6%). Ello no se tradujo sin embargo en un menor número de lechones destetados por camada, lo cual está sin duda asociado a que las explotaciones  $I_0$  parecían tener cerdas ligeramente más prolíficas. Asimismo, las granjas inestables presentaban un porcentaje de abortos en ese periodo un 35% superior a las granjas estables, si bien esta diferencia fue tan solo sugestiva dado que algunas granjas no registraban los abortos. En relación al ritmo reproductivo también se observó que las granjas inestables tenían un intervalo destete-celo algo mayor, un número de partos por cerda y año ligeramente inferior, y una menor edad de la cerda a la baja. Estas diferencias se tradujeron en una menor productividad a lo largo de la vida reproductiva de la cerda en las granjas inestables (3,2 lechones menos por cerda de baja).

**Tabla 1.** Medias mínimo-cuadráticas (LSmeans) del efecto de la presencia inicial del virus ( $E_0$ , granjas estables;  $I_0$ , inestables) y de la implementación de medidas de control del virus (plan piloto) sobre los principales índices productivos de las explotaciones.

	Presencia inicial (n=31)			Plan piloto (n=35)	
	$E_0$	$I_0$	P-valor	SI vs NO <sup>1</sup>	P-valor
Edad de la cerda al primer parto (días)	383	395	<0,001	+1,21	0,632
Edad media cerda a la baja (meses)	34,9	33,8	0,039	+0,18	0,666
Nacidos vivos por parto	12,9	13,2	<0,001	+0,10	0,016
Nacidos muertos por parto	1,13	1,12	0,794	-0,03	0,219
Porcentaje de bajas en lactación	16,6	21,1	<0,001	-0,59	0,043
Porcentaje de abortos	1,43	1,93	0,089	-0,15	0,401
Porcentaje de repeticiones	14,5	14,5	0,991	-0,41	0,340
Intervalo destete-parto (días)	124	125	<0,001	-0,13	0,672
Intervalo destete 1ª cubrición (días)	5,74	6,16	<0,001	-0,03	0,814
Partos por cerda y año	2,47	2,43	<0,001	0,00	0,596
Partos por cerda de baja	5,10	4,75	<0,001	+0,01	0,927
Destetados por parto	11,1	11,2	0,022	+0,14	0,009
Destetados por cerda productiva y año	27,1	27,1	0,937	+0,37	0,005
Destetados por cerda de baja	54,5	51,3	0,004	+0,46	0,641

<sup>(1)</sup> Efecto de la aplicación del plan piloto sobre el parámetro (i.e. explotaciones con plan piloto vs explotaciones en las que no se aplicó plan piloto), una vez corregidos otros factores.

Las granjas inestables mostraron una menor productividad final por cerda presente y año (Tabla 2). Los costes sanitarios fueron superiores en las granjas inestables. Las diferencias en conversión de pienso y otros costes de producción no fueron significativas, debido principalmente al reducido número de explotaciones en la muestra. Los resultados parecen indicar que hay una tendencia a un mayor índice de conversión global y costes de alimentación, medicación y de producción en general en granjas inestables. Estos resultados concordarían con los obtenidos por otros autores que observaron peores índices de conversión tras el destete (Schweer et al., 2016) y mayores costes de producción (Holtkamp et al., 2013).

Las medidas de bioseguridad que formaron parte del plan piloto redujeron considerablemente la presencia del virus, que pasó de estar presente en un 64,5% de las explotaciones al principio de la prueba piloto a estar en un 24,1% de las mismas en el último seguimiento (resultados no mostrados en tablas). Asimismo la implementación de distintas medidas de bioseguridad tuvo consecuencias sobre los parámetros productivos de las granjas que formaron parte del plan piloto (Tabla 1). De este modo se observa que en las explotaciones en las que se implementaron medidas de control del PRRSv hubo un incremento en el número de lechones nacidos vivos por parto y una reducción del porcentaje de bajas en lactación. Esto condicionó a su vez un incremento en el número de lechones destetados por camada, y a un significativo aumento de la productividad numérica en casi

0,4 lechones por cerda productiva y año. Las consecuencias de estas mejoras sobre el número de lechones producidos al final de la vida productiva de la cerda no pueden sin embargo verse reflejadas en los intervalos analizados; el análisis de futuros periodos, cuando las cerdas aquí presentes se den de baja, reflejará sin duda esta mayor productividad a la baja. En cuanto a su incidencia sobre los parámetros económicos, el reducido número de granjas que proporcionaron los datos de costes no permitió hacer este análisis.

Podemos concluir que la presencia aparentemente subclínica del PRRSv en las explotaciones porcinas está asociada a una mayor mortalidad de lechones en lactación e incidencia de abortos, y a una menor vida productiva de la cerda, lo que determina una menor productividad en la fase I. En el periodo de engorde se observa una reducción de los cerdos producidos por hembra presente y año y un incremento de los costes sanitarios, junto con una tendencia al incremento del índice de conversión y del coste global de producción. Las medidas de bioseguridad aplicadas parecen ser efectivas para reducir la presencia del PRRSv y mejoran la productividad numérica de las cerdas, lo que sin duda se traducirá en una mejora de la cuenta de resultados de la explotación.

**Tabla 2.** Efecto de la presencia inicial del virus ( $E_0$ , granjas estables;  $I_0$ , inestables) sobre los índices económicos ( $n=9$ ).

	$E_0$	$I_0$	P-valor
Destetados por cerda presente y año	24,5	25,2	0,328
Coste pienso en maternidad por lechón destetado (€)	12,6	11,7	0,081
Producidos por cerda presente y año	20,7	18,5	0,047
Coste pienso en todo el ciclo por cerdo producido	94,2	101	0,347
Coste medicación por cerdo producido (€)	5,46	8,75	0,006
Índice de conversión en todo el ciclo (kg/kg)	3,01	3,24	0,354
Coste de producción por cerdo producido (€)	132	144	0,220
Coste de producción por kg producido (€)	1,25	1,35	0,294

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Holtkamp, D.J. et al. 2013. J. Swine Health Prod. 21:72–84.
- Nieuwenhuis, N. et al. 2012. Vet. Rec.,170(9):225.
- Schweer, W.P. et al. 2016. J. Anim. Sci. 94: 514-522.

**Agradecimientos:** El presente estudio se ha realizado en el proyecto “Mejora del bienestar en lechones mediante el control de la sanidad”, co-financiado por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente y la Federación de Cooperativas Agrarias de Cataluña. Los autores agradecen a los ganaderos y veterinarios de las cooperativas y a los técnicos del CReSA su colaboración en la obtención de los datos y en los análisis.

## IMPACT OF PRRS VIRUS AND BIOSAFETY MEASURES ON THE PRODUCTIVITY AND PERFORMANCE OF SWINE EXPLOTATION

**ABSTRACT:** The presence of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) was analysed by RT-PCR, and a set of biosecurity measures were applied in several pig production farms. The impact of both subclinical PRRSv presence and biosafety intervention on productive and economic indexes of pig farms was analyzed. Farms with presence of PRRSv presented higher percentage of piglets mortality and abortions, larger medical costs, and lower sows' longevity and total productivity (number of weaned piglets). Virus presence was also associated to a worsening of feed conversion and increasing of production costs. The biosecurity protocols reduced the presence of PRRSv in the farms and improved sows' numeric productivity.

**Keywords:** pig, PRRS, productivity, biosecurity.

## **PUNTO DE EQUILIBRIO ECONÓMICO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN OVINA EN LA REGIÓN BAJO MIXE, OAXACA, MÉXICO**

Martínez-Peña, M., Villagómez-Cortés, J.A. y Mora-Brito, A.H.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. Veracruz, México.  
91710. [avillagomez@uv.mx](mailto:avillagomez@uv.mx)

### **INTRODUCCIÓN**

Gran parte de la producción ovina en México se realiza en condiciones de subsistencia, en sistemas de pastoreo tradicionales, con escasa tecnología y bajos índices de productividad. No obstante, se considera que el producir carne ovina en el trópico tiene una ventaja comparativa sobre otras especies animales en otras condiciones ecológicas, por la abundancia de forraje en estas zonas, su elevada fecundidad, la producción de carne magra y su alta demanda por la población. Pese a lo anterior, el grueso de la investigación se centra en los sistemas de producción comercial, en tanto se relegan los sistemas de producción pecuarios de tipo campesino. Por tanto, el problema de estudio busca analizar la situación y caracterizar las limitaciones de la producción pecuaria, que se expresa por la tecnología tradicional que se utiliza en este sistema productivo para obtener los productos ovinos en condiciones tropicales. Así, el objetivo de este trabajo fue identificar el punto de equilibrio económico del sistema de producción ovina en la región del bajo Mixe, Oaxaca, México.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El trabajo se realizó en las comunidades de Arroyo Peña Amarilla, La Libertad y El Porvenir, ubicadas en la región Bajo Mixe, en el municipio de San Juan Cotzocón, Mixe, Oaxaca, México durante el primer semestre de 2016. Se aplicó un cuestionario a un total de 20 productores ovinos residentes en las tres comunidades: nueve en Arroyo Peña Amarilla, seis en El Porvenir y cinco en La Libertad. Los criterios de selección/exclusión incluyeron: residencia en las localidades de estudio, poseer rebaños pequeños de entre 2 a 35 cabezas y disponibilidad para contestar el cuestionario. El instrumento incluyó el diagnóstico del estado sociocultural y económico del ovinocultor, actividades técnicas como manejo reproductivo, productivo, sanitario, alimentación, infraestructura, comercialización, y datos económicos de cada unidad de producción.

Se analizó la rentabilidad económica de cada unidad de producción considerando los beneficios anuales totales (ingresos totales menos gastos brutos) y los beneficios anuales sin subvenciones (beneficios totales menos ingresos por subvenciones) derivados de la actividad ovina y expresados en pesos mexicanos. Los precios y los pesos de venta usados para los cálculos fueron los corrientes en cada localidad. Después de determinar los costos, ingresos y egresos se calculó el punto de equilibrio económico en términos de animales (Alonso Pesado et al., 2007); es decir, cuantos ovinos se tienen que vender al precio corriente en cada localidad, para igualar los costes totales en que incurre cada unidad de producción. Los datos se capturaron en una hoja electrónica de Microsoft Excel y se realizó estadística descriptiva de las variables. Los valores en pesos mexicanos se convirtieron en euros a la paridad cambiaria existente en junio de 2016.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El sistema de producción de ovejas en las tres comunidades es de subsistencia o traspato, ya que los productores de ovejas de la región tienen pequeños rebaños en pastoreo y usan mano de obra familiar. Realizan también otras actividades agrícolas, además de contar con un empleo independiente no agrícola. Así, la producción de ovejas no siempre es la principal fuente de ingresos para los hogares, si bien los ovinos proporcionan capital financiero. Las ovejas son un activo físico y natural que potencializa el crecimiento del capital social y humano.

En la Tabla 1 se muestran las ventas anuales de ovinos en pie por unidad de producción. En el periodo estudiado sólo se vendieron dos sementales, ocho borregos adultos, ocho borregas para vientre, 13 corderas en desarrollo, 20 borregas adultas, y 22 corderos en

desarrollo. No se vendieron animales de desecho. En total se vendieron 73 animales por un monto total de €3954. En sistemas de producción ovina en Tabasco, México Nuncio-Ochoa *et al.* (2001) informan valores similares, con desventaja para productores de niveles bajo y medio que están más apartados de las principales ciudades, en comunidades de difícil acceso o que carecen de vehículos; dado que su única posibilidad de comercialización es mediante la venta a intermediarios, los que especulan con el precio y compran los ovinos al bulto o al precio que ellos establezcan, con el consecuente detrimento económico para el productor.

El Punto de Equilibrio Económico (PEE), también denominado punto crítico (punto muerto o umbral de rentabilidad) es el punto a partir del cual se comienzan a obtener beneficios en términos económicos. La variación en el número de animales que cada comunidad necesita producir y vender para alcanzar el punto equilibrio es un reflejo de su estructura de costes actual; de esta manera, a pesar de que algunas unidades de producción puedan exhibir mayor inventario que otras, su alta inversión demanda también que deban producir mayor número de animales que las otras para alcanzar su punto de equilibrio. En conjunto, las unidades de producción que tuvieron ventas tendrían que producir en promedio 27 animales para entrar en punto de equilibrio, pero en promedio el rebaño tiene solo 14.3 cabezas. Dado que los productores no pueden influir de manera individual sobre los precios y los pesos de venta corrientes, la respuesta parece estar en la economía de escala, aumentando el tamaño del rebaño, pero sin incrementar sustancialmente la inversión ni la estructura de costes, mismos que de hecho, deberían disminuir. En las unidades de producción que no realizaron ventas, se tendrían que producir en promedio 19 animales para entrar en punto de equilibrio; sin embargo, estos rebaños tienen en promedio solo siete cabezas. No obstante, las unidades de producción que actualmente no realizan ventas podrían estar en PEE mucho antes que los que obtuvieron ventas debido a que poseen menores costes. En términos generales, solo dos unidades de producción estuvieron por arriba del PEE.

La economía campesina engloba a aquella actividad agropecuaria en que el proceso productivo es desarrollado por unidades de tipo familiar con objeto de asegurar, ciclo tras ciclo, la reproducción de sus condiciones de vida y de trabajo o, la reproducción de los productores y de la propia unidad de producción. El campesino y la empresa son sistemas de producción diferentes. La economía campesina posee una racionalidad propia y distinta de la que caracteriza a la agricultura empresarial. La capacidad de las unidades campesinas de vender su ganado a precios que a un productor empresarial eficiente lo llevarían muchas veces a incurrir en pérdidas, es ejemplo de que existen dos formas diferentes de valoración de recursos y de productos. La unidad de producción familiar no capitalista, aprovecha trabajadores marginales (mujeres, niños y ancianos) y acceso a escasos medios de producción (tierra), generando tanto subsistencias (valor de uso) como excedentes (valor de cambio). Los primeros son consumidos por el grupo doméstico y los otros se colocan en el mercado como mercancías no capitalistas a un precio que no equivale a los costes reales de producción (Palerm, 1997). Para el campesino, no tiene sentido la obtención de una utilidad como objetivo de su actividad productora. Con ella persigue fundamentalmente su subsistencia y el camino más razonable para hacerlo es sustraerse de las normas de la empresa; no vender sino consumir directamente, y no tener inversiones, costes de producción en dinero, sino sustituirlas por trabajo, único recurso sobrado en la sociedad campesina. Si bien no se recomienda buscar la transición de estos sistemas de economía campesina hacia la agricultura empresarial, si se considera conveniente aumentar el tamaño del rebaño, buscar programas gubernamentales de apoyo y promover la organización formal dentro de cada comunidad.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso Pesado, A. et al. 2007. Economía Agropecuaria. México: Grupo Vanchri.
- Bautista, J.A. 2006. *Ra Ximhai*, 2(2): 419-433.
- Castellanos, Y. & Macedo R. 2004. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 8(4): 1-9.
- Góngora-Pérez et al. *Agronomía Mesoamericana*, 21(1), 131-144.
- Macedo, R. & Castellanos, Y. 2004. *Avances en Investigación*

*Agropecuaria*, 8(3), 39-50. • Nuncio-Ochoa et al. 2001. *Agrociencia*, 35(4): 469-477. • Palerm, J.V. 1997. *Los Nuevos Campesinos*. México: Universidad Iberoamericana.

**Tabla 1.** Punto de equilibrio económico para en la región Bajo Mixe, Oaxaca, México.

Localidad	Productor	Tamaño Rebaño, No.	Precio de venta, € kg <sup>-1</sup>	Peso promedio, kg	Unidades a Producir para P.E., No.
<i>Unidades de producción con ventas</i>					
	1	21	1.81	36	25
Peña	2	19	1.81	36	32
Amarilla	3	8	1.81	36	21
	4	2	1.81	36	19
	5	15	1.81	36	24
La Libertad	6	21	1.71	55	20
	7	9	2.00	29	26
	8	7	2.00	29	26
El Porvenir	9	10	2.00	29	31
	10	31	2.00	29	46
<i>Unidades de producción sin ventas</i>					
Peña	1	4	1.81	36	19
Amarilla	2	10	1.81	36	22
	3	4	1.81	36	20
	4	3	1.81	36	19
La Libertad	5	5	1.71	55	14
	6	2	1.71	55	13
	7	24	1.71	55	22
	8	9	1.71	55	18
El Porvenir	9	5	2.00	29	23
	10	4	2.00	29	22

### ECONÓMIC BREAK-EVEN POINT OF THE OVINE PRODUCTION SYSTEM IN THE LOW MIXE REGION, OAXACA, MEXICO

**ABSTRACT:** In order to identify the economic break-even point of sheep production system in the Mixe region, Oaxaca, Mexico, a questionnaire was applied to 20 sheep producers residing in three communities. Costs, expenses, income and the economic break-even point in terms of animals were determined. Sheep production system is a backyard or subsistence type since sheep producers in the region have small grazing herds and use family labor. The production process is simple and focused on household consumption and selling animals to supplement income. Sheep production is not the main source of cash income for households. The magnitude of the investment and production costs, in addition to poor sales, prevent production units from obtaining sufficient income to cover their costs. To achieve a breakeven point it is required to produce on average 23.1 heads, which is more than twice the average inventory maintained by each producer. This points to their inability to obtain an economic profit from a viewpoint of traditional analysis. It is concluded that ovine activity in the Bajo Mixe, Oaxaca is well below its economic breakeven point, so it is recommended to increase herd size, search for supporting government programs and promote formal organization within each community.

**Keywords:** break-even point, profitability, ovine production, subsistence livelihood.

## COMPARACIÓN TÉCNICO-ECONÓMICA DE VACAS DE RAZA PURA HOLSTEIN VERSUS VACAS CRUCES DE HOLSTEIN UTILIZANDO UN MODELO DE SIMULACIÓN

López-Suárez, M.<sup>1</sup>, Castillejos, L.<sup>1</sup>, Piera, M.<sup>2</sup>, Loste, J.M.<sup>3</sup> y Calsamiglia, S.<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, 08193 Bellaterra, Barcelona. <sup>2</sup>Centre Veterinari Tona, 08551 Tona, Barcelona. <sup>3</sup>Albaikide Servicios Veterinarios, 31860 Iruztzun, Navarra. [Montserrat.Lopez.Suarez@uab.cat](mailto:Montserrat.Lopez.Suarez@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

La raza de vacas Holstein ha dominado el mercado de la producción lechera en los últimos 25 años debido a su elevado rendimiento productivo (Heins et al., 2012a). No obstante, los programas de selección genética de esta raza para caracteres productivos han conllevado una pérdida de caracteres funcionales como la fertilidad, la facilidad de parto, la salud y la esperanza de vida (Ferris et al., 2014). En este sentido, los estudios de Heins et al. (2012, 2012a) observaron mejores índices reproductivos – mayor tasa de preñez y menos días abiertos – y mayor esperanza de vida en los cruces que en la raza pura Holstein. En cuanto a la composición de la leche, no se hallaron diferencias importantes en el recuento de células somáticas ni en el contenido de grasa.

No es de extrañar, pues, que el cruce de vacas Holstein con otras razas resulte una estrategia atractiva para muchos ganaderos para beneficiarse del vigor híbrido, y, así, mejorar el rendimiento reproductivo y la salud de su rebaño. Sin embargo, es importante determinar si las ventajas económicas derivadas de la mejora de estas características funcionales compensan la pérdida de potencial productivo de los cruces respecto a las Holstein. El objetivo del presente trabajo fue comparar, mediante simulación estocástica, los rendimientos productivos y económicos de rebaños de pura raza Holstein con rebaños de cruces utilizando datos de tres explotaciones reales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron datos productivos de tres explotaciones (granjas 1, 2 y 3) con una población de vacas mixta entre pura raza Holstein y cruces de esta con otras razas. Las características principales de los rebaños originales utilizados en la simulación se muestran en la Tabla 1.

Se usó el modelo estocástico de simulación de granjas de bovino lechero desarrollado en la UAB ([www.granjadevacas.com](http://www.granjadevacas.com)) para determinar el efecto de las características de estas dos estrategias genéticas (uso de raza pura o cruces) en los índices técnicos y económicos. El simulador considera cada uno de los animales de una explotación, describiendo su ciclo biológico, condiciones de alimentación, patologías, efectos medioambientales, de manejo, de planificación reproductiva, etc. El simulador está diseñado para cargar los datos propios de una explotación (datos de vacas individuales e índices técnicos y económicos) y simular cambios en las condiciones con el objetivo de valorar la mejor estrategia para optimizar su competitividad y valorar el riesgo y la incertidumbre mediante análisis de sensibilidad (Calsamiglia et al., 2015).

**Tabla 1.** Características de los dos rebaños originales de cada granja.

	GRANJA 1		GRANJA 2		GRANJA 3	
	H	C	H	C	H	C
Producción (L/vaca/d)	46,6	41,1	35,4	32,9	31,4	32,6
Grasa (%)	2,69	2,69	3,60	3,60	3,79	3,99
Proteína (%)	3,21	3,25	3,40	2,96	3,32	3,32
RCS (x1000/mL)	86	111	250	215	518	238
Media de lactaciones (n)	2,41	2,40	2,0	1,7	2,88	1,43
Tasa de preñez (%)	23,8	30,9	15,5	20,4	15,5	20,5

C: cruce, H: Holstein

Los rebaños originales de cada explotación se estandarizaron para obtener dos rebaños en el simulador con el mismo número de animales, uno correspondiente a las vacas Holstein (H) y el otro a las cruzadas (C). Esta adaptación en los rebaños se hizo para equilibrar, de acuerdo a los datos observados en cada granja, la estructura demográfica en cuanto al

número de vacas primíparas y multíparas, el estado fisiológico de los animales y los costes fijos de cada granja. Para todas las granjas se consideró un precio de la leche de 340 €/Tm, una referencia de grasa de 3,70% y de proteína de 3,20% (con bonificación/penalización por décima de 2 y 3 €/Tm, respectivamente), y un recuento de células somáticas (RCS) de referencia de 200 a 300 x 1.000/mL (con bonificación/penalización de 10 €/Tm por reducir o superar el límite, respectivamente). Se simularon 4 años y se calculó la media de los resultados de los 4 años simulados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se muestran en la Tabla 2 agrupados por áreas de interés. Se observa como los rebaños C presentaron una fertilidad mayor (7-10%) y menos días abiertos (24-32d). Como consecuencia, el número de terneros nacidos en los rebaños C fue superior. Sin embargo, la producción de leche por vaca lactante fue mayor en las H (1,4-2,3 L/d/vaca).

**Tabla 2.** Resultados técnico-económicos de las simulaciones de los rebaños de raza Holstein y Cruce y del diferencial Cruce-Holstein de las tres explotaciones.

	GRANJA 1			GRANJA 2			GRANJA 3		
	H	C	DIF.	H	C	DIF.	H	C	DIF.
<b>Efectivo</b>									
Vacas (n)	168	167	-1	374	371	-3	181	185	4
Media lactaciones (n)	2,67	2,66	-0,01	2,57	2,52	-0,05	2,75	2,53	-0,22
Terneros nacidos (n)	167	182	15	341	370	29	170	178	9
<b>Producción</b>									
CCS (x1000/mL)	107	139	32	300	320	20	524	310	-214
Grasa (%)	2,62	2,66	0,04	3,55	3,47	-0,08	3,77	3,91	0,14
Proteína (%)	3,14	3,07	-0,07	3,31	3,38	0,07	3,29	3,24	-0,05
Leche (L/vaca lactante/d)	43,5	41,5	-2,0	34,1	31,8	-2,3	34,6	33,2	-1,4
Leche (L/vaca presente/d)	36,4	34,6	-1,8	30,6	28,4	-2,2	30,8	29,5	-1,3
<b>Reproductivo</b>									
Intervalo Parto - 1ªIA (d)	102	88	-14	86	84	-2	85	78	-7
Días abiertos	143	115	-28	164	140	-24	164	132	-32
Media días en leche (d)	177	162	-15	202	188	-14	199	182	-17
Fertilidad (%)	44	52	8	24	31	7	22	32	10
Tasa preñez (%)	21	27	6	13	18	5	13	18	5
<b>Economía</b>									
Precio leche (€/1000L)	327	326	-1	340	341	1	334	336	2
Ingresos venta de leche (x1.000€/año)	735,0	694,2	-40,8	1430,0	1320,6	-109,4	684,9	673,4	-11,5
Ingresos venta animales (x1.000€/año)	26,77	29,89	3,12	43,36	35,73	-7,63	19,71	21,94	2,22
Costes alimentación <sup>1</sup> (x1.000€/año)	457,6	443,8	-13,8	1038,5	997,8	-40,7	444,6	440,1	-4,5
Gastos IA <sup>1</sup> (x1.000€/año)	8,31	7,76	-0,55	27,98	23,45	-4,53	13,64	11,74	-1,89
Compra de terneras (x1.000€/año)	0,95	1,93	0,97	5,82	27,05	21,23	9,66	4,53	-5,13
Margen bruto ajustado (€/vaca/año)	810	674	-136	386	122	-264	387	399	12
IOFC <sup>2</sup> (€/vaca/año)	2052	1899	-153	1047	870	-177	1328	1261	-67

C: cruce, H: Holstein, DIF.: diferencial (cruce-Holstein).

<sup>1</sup>Los costes de alimentación y los gastos de Inseminación Artificial (IA) incluyen vacas y terneras.

<sup>2</sup>IOFC: "Income Over Feed Costs" o Margen sobre los costes de alimentación.

Los resultados económicos reflejan estas diferencias productivas y reproductivas, donde los rebaños de C tienen menores costes de alimentación y de reproducción, pero, como contrapartida, tienen menores ingresos derivados de la venta de leche.

El margen sobre los costes de alimentación (IOFC: "Income Over Feed Costs"), que representa la diferencia entre los ingresos por venta de leche y los costes de alimentación, fue claramente superior en los rebaños H de las tres explotaciones simuladas. El margen bruto ajustado por el inventario animal (sólo considera las diferencias de vacas y terneras) resultó mayor en las H que en las C en dos de las tres granjas estudiadas. Esto es atribuible principalmente a la mayor producción lechera de las H respecto a las C, resultando en mayores ingresos por venta de leche. En la granja 3, la diferencia en el margen bruto fue marginalmente superior en las C que en las H (12 €/vaca/año). Esto es debido, en parte, a la penalización por el elevado RCS de las Holstein (más de 500.000/mL) que hace bajar el precio de la leche 0,02 €/L y, en parte, porque la diferencia de producción media de las H respecto a las C es de 1,4 L/vaca lactante, mientras que en las dos otras granjas esta diferencia es de 2 y 2,3 L/vaca lactante.

Los resultados de estas simulaciones sugieren que el impacto económico asociado a la mejora reproductiva de las vacas cruzadas respecto a las de pura raza Holstein no compensa las pérdidas asociadas a una menor producción.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Calsamiglia, S., Castillejos, L., Astiz, S. & Baucells, Q. 2015. XVI Jornadas sobre Producción Animal.
- Ferris, C.P., Heins, B.J. & Buckley F. 2014. WCDs Advances in Dairy Technology. 26: 223-243.
- Heins, B.J. & L.B. Hansen. 2012. J. Dairy Sci. 95: 918-924.
- Heins, B.J., L.B. Hansen. & A. de Vries. 2012a. J. Dairy Sci. 95: 1011-1021.

### ABSTRACT:

Crossbreeding can be used to counteract negative effects of inbreeding and to improve fertility, calving ease, health and survival of dairy cattle. The objective of this study was to compare the productive and economic performances of pure Holstein (H) with crossbred (C) using a stochastic dairy herd simulation model ([www.dairyfarm.es](http://www.dairyfarm.es)). Data from three farms with a mixed population of cows (H and C) were used. Within each farm, an H and a C sub herds were generated in the simulator with equal number of animals. Milk price was set at 340 €/Tm for all farms and simulations were run for a 4-year period. The C herd showed higher fertility rates (7-10%) and fewer open days (24-32d) than H herd. However, milk production per cow was 1.4-2.3 L/d/cow higher in the H herd. The economics results showed that C had lower feed costs, reproduction costs and lower milk sales revenues. The gross margin was greater for H than for C herds in two of the three farms studied. In the other farm the gross margin was slightly higher in C than in H herd. These results suggest that the improvement in reproductive performance of crossbreeding does not compensate milk production losses.

**Keywords:** crossbreeding, production, fertility, economics



## **ANÁLISIS ECONÓMICO DE UNA ENGORDA DE BOVINOS DE MEDIA CEBA EN LA ZONA CENTRAL DE VERACRUZ, MÉXICO**

Capellini-Acosta, M., Villagómez-Cortés, J.A. y Rodríguez Chessani, M.A.  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. Veracruz, México.  
91710. Correo electrónico: [avillagomez@uv.mx](mailto:avillagomez@uv.mx)

### **INTRODUCCIÓN**

El Tratado de Libre Comercio para América del Norte (TLCAN) ha proporcionado condiciones favorables para que algunos estados mexicanos se hayan convertido en exportadores de ganado bovino en pie a los Estados Unidos de América (Gallardo Nieto et al. 2002). Esto ha ocasionado una transformación en la estructura de la ganadería tradicional y ha ocasionado la existencia de áreas donde el ganado es escaso y la disponibilidad de pastura abundante. Por otro lado, los engordadores tradicionales requieren animales con un peso de 300 kg en adelante, pero como los productores venden sus becerros al destete, con un peso promedio entre 160 y 200 kg, ello deja un espacio intermedio entre los citados pesos, que no es debidamente atendido. Esta circunstancia ha dado origen a una actividad económica que se conoce como “media ceba” o pre-engorda, que se enfoca en adquirir los animales destetados y desarrollarlos hasta su venta al engordador final. Por lo anterior, surge la inquietud de saber si este tipo de empresas son rentables en las condiciones y, en caso de serlo, si representan una oportunidad de negocios que pudiera replicarse, dadas las condiciones propias del mercado actual. Por lo que el objetivo de este trabajo fue analizar la rentabilidad de un sistema de producción bovina de media ceba en el municipio de Manlio Fabio Altamirano, en Veracruz, México.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El trabajo se realizó Veracruz, en el Rancho Cuatro Vientos, municipio de Manlio Fabio Altamirano, en el estado de Veracruz, México, con datos obtenidos de septiembre de 2014 a septiembre de 2015. La empresa consistió en una engorda de 101 becerros de media ceba (pre-engorda) en pastoreo de 40 hectáreas de zacate Taiwan (*Pennisetum purpureum*). La empresa se constituyó mediante un contrato de asociación en participación entre dos socios que se liquidó al término de la pre-engorda. El primer socio financió la compra de los animales y el segundo socio se responsabilizó de la alimentación en pastoreo, el manejo y aspectos técnicos, además de la administración que incluyó el registro de información del pesaje de los animales y registros económicos. No se hicieron inversiones en activos fijos. Los bovinos se compraron en municipios aledaños con un peso entre 160 y 180 kg, una condición corporal entre 2,5 y 3,5 y a un precio de €2 kg<sup>-1</sup>. Para la evaluación económica, se modificó y adaptó la metodología de Aguilar et al. (2001). Todos los datos productivos y económicos se capturaron en una hoja electrónica de Microsoft Excel para su análisis. Las operaciones se registraron en pesos mexicanos y se convirtieron en euros a la paridad cambiaria existente en septiembre de 2015.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La ganancia diaria de peso promedio fue de 367 g día<sup>-1</sup>, inferior a la meta planteada de 0,5 kg día<sup>-1</sup>, debido a la heterogeneidad en el comportamiento productivo de los animales y a deficiencias en los registros y monitoreo oportuno de los datos productivos, por lo que los bovinos se integraron en lotes que se vendieron conforme alcanzaron el peso apropiado. Solo un 60% de los animales se vendieron en 7 meses o menos, cuando el tiempo de pre-engorda objetivo era de 180-200 días. De hecho, para poder realizar su venta, los animales con un peso semejante se integraron en lotes (Tabla 1). El tiempo máximo en pre-engorda fue de 375 días. La heterogeneidad de los animales que se adquirieron, en términos de procedencia, grupo genético, talla y peso, determinó que no todos los animales pudieran venderse de manera simultánea, de manera semejante a las situaciones que describen Coelho et al. (2008) y Damasceno et al. (2012) en Brasil, donde la utilidad de las operaciones y la misma sobrevivencia de la empresa ganadera se vio comprometida.

La empresa no fue muy sofisticada y se limitó al mínimo necesario para poder operar. Entre los costes fijos, la compra de animales, la renta de pastos y la mano de obra representaron en conjunto cerca del 95%. Los ingresos provinieron de manera exclusiva de la venta de animales en pie en el lapso 2014 – 2015, con un peso final total de 33163 kg y a un precio de venta promedio de €2,5 kg<sup>-1</sup>, para un total de €82907,50. Los costes fijos fueron €63689,7, los costes variables €3216,1 y el coste total ascendió a €66905,8, para una utilidad bruta de €16601,7 y una utilidad neta de €15597,7 (Tabla 2). La rentabilidad sobre costes totales fue de 23,31%, sobre costes fijos de 24,49% y sobre costes variables se incrementó a 484,99%, pero parte de estas utilidades derivó de circunstancias particulares del mercado en el periodo en que se efectuó la operación ganadera. De hecho, si el precio al que se vendieron los animales hubiera sido el mismo al que fueron comprados, los ingresos proyectados, considerando que las demás variables tuvieran el mismo comportamiento, serían de €66326, la utilidad bruta sería de €-579,8 y la utilidad neta €-983,8. Se concluye que el margen positivo de utilidad obtenido se debió más al diferencial de precio en la compra y venta del ganado que a la eficiencia técnica productiva, por lo que debe considerarse que la inestabilidad en este mercado puede cambiar las condiciones de un negocio a favor o en contra del productor en este tipo de empresa.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar U. et al. 2001. *Metodología para la evaluación económica en ranchos ganaderos de doble propósito*. Memoria Técnica. Veracruz, México: Campo Experimental “La Posta”, INIFAP.
- Coelho, F.S. et al. 2008. *Levantamento e análise dos custos médios de produção de bovinos de corte no município de Curvelo, Minas Gerais*. Anais do 46th Congress da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural (SOBER). Rio Branco, Acre, Brasil: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural.
- Damasceno, T.K. et al. 2012. *Acta Tecnológica*, 7(2), 18 – 24.
- Gallardo Nieto, J.L. et al. 2002. *Claridades Agropecuarias*, 109: 3-32.

**Tabla 1.** Costes de producción de la pre-engorda de bovinos en pastoreo en el rancho Cuatro Vientos, municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, 2014 – 2015.

CONCEPTO	TOTAL	%
<i>Costes Fijos</i>		
Compra de animales	50514	79,31
Renta de pastos	6000	9,42
Mano de obra	3750	5,89
Costes de administración	2525,7	3,97
Renta de vehículo	900	1,41
<b>Subtotal</b>	<b>63689,7</b>	<b>95,19</b>
<i>Costes Variables</i>		
Alimento	685	21,30
Combustible	500	15,55
Minerales	371,15	11,53
Servicios profesionales	300	9,33
Agua y luz	300	9,33
Arete Siniiga	309	9,61
Desparasitante	213	6,62
Mantenimiento de cercos eléctricos	185	5,75
Líquido garrapaticida	157,75	4,91
Otros medicamentos	100	3,11
Vacunas	95,2	2,96
<b>Subtotal</b>	<b>3216,1</b>	<b>4,81</b>
<b>TOTAL</b>	<b>66905,8</b>	<b>100</b>

**Tabla 2.** Rentabilidad de la pre-engorda de bovinos en pastoreo en el rancho Cuatro Vientos, municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, 2014 – 2015.

Concepto	Indicador
Ingresos Totales, €	82907,5
Costes Variables, €	3216,1
Costes Fijos, €	63689,7
Coste Total, €	66905,8
Utilidad Bruta, €	16001,7
Impuestos, €	404
Utilidad Neta, €	15597,7
Rentabilidad sobre Costes Variables, %	484,99
Rentabilidad sobre Costes Fijos, %	24,49
Rentabilidad sobre Costes Totales, %	23,31

### ECONOMIC ANALYSIS OF A PRE FATTENING BOVINE SYSTEM IN THE CENTRAL AREA OF VERACRUZ, MEXICO

**ABSTRACT:** The objective of this work was to analyze the profitability of a pre-fattening beef cattle production system in Veracruz, Mexico, during 2014-2015. The enterprise consisted of 101 medium-fat calves grazing on 40 hectares of Taiwan grass (*Pennisetum purpureum*). There were two investors under a partnership agreement that was settled when all animals were sold. The first partner purchased animals while the second partner was responsible for management and technical aspects, and keeping productive and economic records. No investments was made in fixed assets. The enterprise was not very sophisticated and was limited to the minimum necessary to operate. Among variable costs, the purchase of animals, pasture renting, and labor accounted for about 95% of the costs. Gross income came from selling animals, at an average price of €2.5, for a total of €82907,5. Fixed costs were €63689,7, variable costs were €3216,10 and total cost amounted to €66905,8, for a gross profit of €16001,7 and a net profit of €15597,7. The return on total costs, fixed costs and variable costs were 23,31%, 24,49%, and 484,99%, respectively. It is concluded that the fattening bovines was a profitable business although profits derived from particular market circumstances in the period, rather than from production technical efficiency.

**Keywords:** Economic profitability, productive efficiency, beef cattle, Taiwan grass

## **FACTORES QUE INFLUENCIAN LA RENTABILIDAD DE LAS EXPLOTACIONES OVINAS DE CARNE EN ARAGÓN**

Chekmam, L.<sup>1</sup>, Maza, M. T.<sup>1</sup> y Pardos, L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto de CC. Agrarias y del Medio Natural, Universidad de Zaragoza, c/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. <sup>2</sup>Escuela Politécnica Superior de Huesca, Carretera Cuarte s/n, 22071 Huesca. E-mail: Kahina.lahna79@hotmail.fr

### **INTRODUCCIÓN**

El ganado ovino se considera una importante actividad agraria tanto por su influencia en la economía de las zonas rurales, como por su contribución al equilibrio de los ecosistemas (Ripoll, 2013; Ruiz-Mirazo et al., 2011). Esta actividad está fundamentalmente localizada en zonas desfavorecidas; según fuentes del MAGRAMA (2013), el 80 % de la cabaña está en áreas con dificultades específicas, por lo que su fomento es importante para el mantenimiento de estas zonas. Muchos autores han dedicado sus esfuerzos a estudiar los sistemas de producción ovina en España y Europa desde diversos ámbitos (técnico, económico, social o, medio ambiental) así como el impacto de las políticas agrarias comunitarias (Hamrouni, 1993; Chertouh, 2005; Pardos et al., 2008). En los últimos años el cambio en las políticas agrarias y el descenso continuado del consumo de carne de cordero está llevando a la actividad ovina a una situación crítica por lo que es importante identificar las medidas más adecuadas que pueden llevarse a cabo en el sector. La mejora de la productividad y de la eficiencia de las explotaciones puede ser un aspecto importante. En este sentido el objetivo del presente trabajo es analizar y poner en relación indicadores de carácter técnico y económico de una muestra de explotaciones ovinas localizadas en Aragón, y establecer las relaciones y dependencias entre los mismos. De este modo podrá concluirse si los esfuerzos que se llevan a cabo actualmente por ganaderos y técnicos tienen una repercusión en los resultados económicos de las explotaciones.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

La muestra analizada la componen un total de 161 explotaciones de ganado ovino de carne ubicadas en alguna de las tres provincias aragonesas. Todas ellas pertenecen al programa de gestión técnico-económica de una importante cooperativa de Aragón. El programa comenzó en 1993 y los últimos datos de que disponemos se refieren a 2014, por lo que en ese largo periodo de tiempo algunas explotaciones han desaparecido y otras han surgido nuevas. El criterio adoptado a la hora de elegir las explotaciones objeto de estudio ha consistido en considerar todas aquellas que hayan permanecido un mínimo de cinco años en el programa, periodo en el cuál se considera que los datos medios están menos sometidos a variaciones coyunturales. Al final ha resultado un total de 161 explotaciones cuyo periodo medio de permanencia ha sido de 11 años oscilando entre 5 y 22 años. Los indicadores de tipo técnico son la media de los años que ha permanecido la explotación en el programa, mientras que los datos económicos han sido convertidos a euros constantes de 2014.

Dado que el objetivo genérico del trabajo es estudiar la influencia de factores técnico-económicos sobre un parámetro económico como es la renta disponible por oveja, la regresión múltiple se ha mostrado como la técnica estadística más apropiada. Previamente se ha realizado un análisis de correspondencias para ordenar el conjunto de las explotaciones de manera que se evidenciara las tendencias o patrones existentes (Mora, 2008; Castel et al., 2003).

La elección de la variable dependiente a explicar se ha basado en trabajos anteriores (Sierra, 2002; Maza et al., 2008). En cuanto a las variables predictoras se han elegido las siguientes: porcentaje de mortalidad de los corderos (%Mr), número medio de ovejas por unidad de trabajo anual total (NMO/UTAT), coste de alimentación total por oveja (CA), coste de la mano de obra asalariada (CMOAS), coste de la seguridad social de la mano de obra familiar (CSMOF), ingresos por venta de corderos por oveja al año (IVC), ingresos de subvenciones por oveja (ISO) y precio medio por cordero (PMPC). La elección de las variables se ha realizado basándonos en análisis previos de correlaciones (Maddala, 1988) así como en trabajos previos sobre el sector ovino (Sierra, 2002; Pardos y Fantova, 2007; Maza et al, 2008).

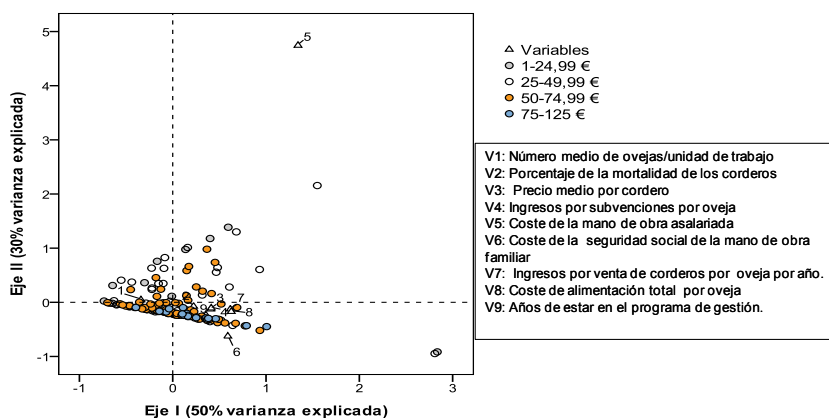
El modelo genérico de la regresión se ha formulado del siguiente modo:

$$RDO = \beta_0 + \beta_1 \% Mr + \beta_2 NMO/UTAT + \beta_3 CMOAS + \beta_4 CSMOF + \beta_5 CA + \beta_6 IVC + \beta_7 ISO + \beta_8 PMPC$$

Donde RDO es la variable dependiente,  $\beta_0$  es la constante, y  $\beta_1 \beta_2 \dots \beta_8$  son los coeficientes a estimar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de correspondencias (Figura 1) muestra la segmentación o las tendencias de la distribución de las explotaciones con respecto a las interrelaciones entre los resultados económicos (RDO) y las variables de caracterización empleadas. RDO se calcula como ingresos menos costes por oveja, siendo los ingresos todos los derivados de la actividad ovina y los costes todos menos las amortizaciones (para la mano de obra familiar se considera el coste de la seguridad social). El primer eje con un porcentaje de varianza explicada muy elevada (50%) diferencia las explotaciones en función de tres variables que presentan signo positivo (IVC, CA y el CMOAS) y una variable (NMO/UTAT) con signo negativo. El segundo eje con un menor porcentaje de varianza explicada (30%) diferencia las explotaciones con más renta disponible por oveja, asociadas al coste la seguridad social de la mano de obra familiar (CSMOF), de las de menos renta, asociadas con el coste de la mano de obra asalariada (CMOAS).



**Figura 1.** Puntuaciones de las variables técnico económicas y de resultados económicos (RDO) sobre los primeros dos ejes obtenidos en el análisis de correspondencias.

El *output* del modelo (Tabla 1) indica que seis de las ocho variables predictivas tienen un alto nivel de significación ( $p < 0,01$ ). El  $R^2$  ajustado alcanza un valor de 89,7% que se considera muy elevado.

Los resultados indican que los ingresos por venta de corderos y por subvenciones por oveja son los que tienen mayor poder predictivo positivo para la variable RDO. El precio medio por cordero vendido tiene un poder explicativo positivo menor en comparación a los dos anteriores pero es altamente significativo. Ello puede deberse a que al pertenecer todas las explotaciones a la misma cooperativa las variaciones en los precios de los corderos no son muy importantes. Estos resultados coinciden con los obtenidos en trabajos anteriores (Maza et al. 2008; Sierra, 2002).

Las variables que cuantifican los costes de mano de obra y de alimentación, así como la variable % de mortalidad en corderos, están correlacionadas negativamente con la variable dependiente RDO. Presentan un mayor coeficiente de correlación y mayor grado de significación el coste de la mano de obra asalariada y el coste de alimentación y algo inferior el de la mano de obra familiar. El porcentaje de mortalidad aunque presenta menor coeficiente de correlación es altamente significativo ( $p < 0,01$ ). La intensificación de la mano de obra (NMO/UTAT) tiene un poder predictivo muy bajo, con signo negativo y presenta un bajo grado de significación ( $p < 0,1$ ).

**Tabla 1. Resultados del modelo de regresión lineal múltiple**

Parámetros	Coefficientes	D.E.	T	P
Constante	-17,684	10,021	-1,765	0,080*
%Mr	-0,400	0,136	-2,945	0,004***
NMO/UTAT	-0,008	0,004	-1,867	0,064*
CMOAS	-1,132	0,067	-16,776	0,000***
CSMOF	-0,756	0,365	-2,069	0,040**
CA	-1,041	0,047	-22,348	0,000***
IVC	0,945	0,035	26,756	0,000***
ISO	0,932	0,065	14,296	0,000***
PMPC	0,322	0,102	3,165	0,002***
R <sup>2</sup>	90,2			
R <sup>2</sup> ajustado	89,7			

Se puede concluir que en función de los parámetros estudiados existe una diferenciación de las explotaciones en función de la renta disponible por oveja relacionada con el coste de la mano de obra. Por otro lado, en consonancia con estudios anteriores, puede afirmarse que el aumento de la renta disponible por oveja se conseguiría con una mejora de la productividad y con una disminución de los costes de alimentación y mano de obra. También los ingresos por subvenciones se consideran importantes pero dado que ello no depende de las decisiones tomadas por técnicos y ganaderos, debería seguirse en la línea de aumentar la productividad y disminuir los costes mientras exista un margen para la mejora.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Castel et al., 2003. *Small Ruminant Research* 47: 133-143. • Chertouh, T. 2005. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza. • Hamrouni, S. 1993. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza. • Maddala, G.S. 1988. Collier Macmillan Publishers. New York. • Maza et al., 2008. *Options Méditerranéennes*, 78: 133-138. • Mora, J.L., 2008. Tesis doctoral, Universidad de La Laguna-Tenerife. • Pardos et al., 2008. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6(4): 497-507. • Pardos & Fantova, 2007. *Publicación CITA*, 101 pp • Ripoll et al., 2012. *Agricultural Systems*, 105: 46–56. • Ruiz-Mirazo, J., 2011. *Agricultural Ecosystems and Environment*, 141: 13-22. • MAGRAMA, 2013. • Sierra, I. 2002. XXVII Jornadas Científicas y VI Jornadas internacionales de la SEOC, Valencia, 2002.

**Agradecimientos:** Agradecemos a Grupo Pastores la información facilitada para la realización de este trabajo.

#### FACTORS THAT INFLUENCE PROFITABILITY OF SHEEP MEAT FARMS IN ARAGON

**ABSTRACT:** The main objective of this study was to analyze the influence of several technical economic factors on the economic results of sheep farms, especially on the gross margin per ewe. The sample was composed by 161 farms in Aragon, belonging to an important sheep management program. A correspondence analysis was performed as a simple exploratory method and a multiple regression as an explicatory analysis. The main result indicated that income from sold lambs per ewe and subsidies have a great positive influence on the gross margin per ewe. However, feed and labour costs have a negative effect on the economic results. The improvement of some technical and structural aspects related to productivity could increase the gross margin per ewe; thus, improving the viability of meat sheep farms without subsidies.

**Keywords:** technical and economic results, sheep farms, multiple linear regression, correspondence analysis.

## **LAS REDES SOCIALES COMO NUEVO CANAL DE COMERCIALIZACIÓN DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL: UN ESTUDIO CUALITATIVO EN EGIPTO**

Elghannam, A., Eldesouky, A., Mesías, F.J., Gaspar, P. y Escribano, M.

Universidad de Extremadura. Avda. Adolfo Suarez, s/n – 06007 Badajoz. fjmestas@unex.es

### **INTRODUCCIÓN**

Dentro del contexto actual de globalización y el aumento uso de internet, el uso de las redes sociales como una herramienta para el comercio electrónico es una tendencia creciente que está dando forma al mercado. En este sentido aunque las redes sociales se utilizan normalmente para ocio o para crear relaciones sociales, se pueden considerar como un "mercado virtual" donde los usuarios pueden convertirse en potenciales clientes (Elghannam, et al., 2017). En este sentido el gran aumento en el uso de los medios sociales de comunicación ha ofrecido la posibilidad a los productores para construir nuevas cadenas cortas para promoción y venta de sus productos de manera rápida, económica y directa, contribuyendo también a aumentar márgenes y favoreciendo transacciones directas. Además, algunas redes sociales están desarrollando un nuevo sistema para integrar el proceso de compra en línea a través de sus plataformas, lo que abrirá nuevas oportunidades para los productores dentro del sector agroalimentario. Estos aspectos son especialmente relevantes en los alimentos de origen animal, sobre todo carnes, donde la posibilidad de interactuar directamente con el consumidor puede aportar grandes ventajas a los productores.

El objetivo principal del trabajo es examinar el papel que podrían desempeñar las redes sociales en Egipto como una oportunidad para las pequeñas y medianas empresas en el sector agroalimentario. Específicamente, el estudio tiene el objetivo de identificar los tipos de alimentos que los consumidores egipcios estarían dispuestos a comprar directamente a través de redes sociales y en particular la posición y oportunidades de los alimentos de origen animal, dada su gran relevancia en la dieta y producción agraria del país.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se llevó a cabo una encuesta en línea durante enero de 2016 utilizando formularios de Google. Una prueba preliminar se presentó a 15 consumidores (no incluidos en la muestra final) con el fin de evaluar la claridad de las preguntas. En este estudio se adoptó un muestreo de conveniencia, obteniéndose un total de 104 cuestionarios válidos que han sido considerados para el análisis. Aunque el tamaño de la muestra puede ser considerado insuficiente para un estudio de mercado, debido al carácter introductorio de este trabajo este número de encuestas se considera suficiente. El cuestionario se distribuyó utilizando Facebook, LinkedIn y Google +. Un enlace al cuestionario fue enviado a los participantes junto con un mensaje introductorio donde se les pedía que indicaran todos los alimentos que comprarían a través las redes sociales, en lo que se define como una tarea de Free-listing.

Free-listing es una técnica cualitativa basada en pedir a los individuos que creen una lista de todos los artículos o ideas relacionados con un tema o producto. Es una herramienta simple pero potente que puede proporcionar una comprensión de las actitudes de los consumidores cuando se enfrentan a un entorno completamente nuevo, como en este caso, la compra de alimentos a través de los medios de comunicación social. Los resultados de una tarea de free-listing generalmente se analizan teniendo en cuenta que el elemento más importante es el que recibe el mayor número de menciones de los participantes. Los datos se analizaron mediante análisis de contenido (Stewart & Shamdasani, 1990), una técnica de investigación utilizada para hacer inferencias válidas y replicables de textos u otros materiales (Krippendorff, 2004). Para desarrollar esta tarea, las respuestas se categorizaron utilizando como base la clasificación de alimentos que se encuentra en páginas online de supermercados e hipermercados. Inicialmente, se realizó una búsqueda de términos recurrentes y posteriormente esos términos con significado similar se agruparon en categorías. Las frecuencias de cada uno de los productos mencionados por los encuestados (número de consumidores que utilizaron la misma palabra o término equivalente) fueron contadas por separado, mostrándose también frecuencias por categorías. Finalmente, se calcularon los porcentajes de cada categoría dividiendo el total de frecuencias de cada categoría entre el total de los términos mencionados por los encuestados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con lo indicado en la sección anterior, las tablas 1 y 2 muestran las categorías de alimentos mencionadas por los consumidores en la tarea de free-listing, junto con su porcentaje de mención y diferenciando entre los alimentos de origen vegetal (tabla 1) y los de origen animal (tabla 2). Como se puede observar en la tabla 1, el grupo de alimentación en general es el mencionado más frecuentemente por los encuestados. La alta disposición de los consumidores hacia ese tipo de alimentos se puede derivar de sus características específicas como alimentos secos, enlatados o embotellados, principalmente no perecederos y de larga duración. Estos productos se caracterizan por una larga vida útil y envases herméticos que garantizan su buen estado para el consumo.

En el caso de pan, pizzas, frutas y verduras, aunque los consumidores siempre tienden a conseguirlas frescas, se constató un cierto grupo de consumidores que declararon su intención de comprar en línea. Este resultado está de acuerdo con los resultados encontrados por Ramus y Nielsen (2005) en relación con la compra online de productos perecederos como frutas y verduras, carne y pan. Dichos autores indicaron que, para los consumidores, una preocupación importante era la impotencia para controlar la frescura de los productos comprados. Claramente el hecho de que los consumidores estén dispuestos a comprar productos frescos, o al menos bastante perecederos, a través de las redes sociales puede tener su explicación en el posible contacto directo con el productor, y por lo tanto en una mayor fiabilidad de informaciones complementarias, como pueden ser la frescura, el origen o la trazabilidad.

Comparativamente, y como se puede apreciar del análisis de la tabla 2, la predisposición a comprar alimentos de origen animal es mucho más baja, y, si se exceptúan las conservas, la categoría más mencionada (productos lácteos) solo ha obtenido un 5% de menciones. Es de destacar que las carnes y pescados frescos muestran porcentajes de mención muy bajos, lo que era de esperar dado su carácter altamente perecedero. No obstante, estas cifras son significativamente superiores a las encontradas en otro estudio realizado en España (Elghannam y Mesías, 2017) donde estos productos frescos o bien no eran mencionados o en todo caso eran mencionados como de no compra a través de redes sociales. La mayor información de los consumidores españoles en temas de seguridad alimentaria y salubridad pueden estar detrás de estos datos, ya que tanto en España como en la Unión Europea los consumidores están bastante sensibilizados tras escándalos como el de las vacas locas, la gripe aviaria o, más recientemente, las informaciones sobre el contenido en metales pesados de algunos pescados. Es de esperar por tanto que la compra de este tipo de productos a través de redes sociales, que pueden percibirse como con menos controles que las tiendas físicas, despierte cierto rechazo entre los consumidores españoles y no tanto entre los egipcios, donde la seguridad alimentaria no es tan importante para los ciudadanos como la cantidad o el precio de los alimentos disponibles.

Se puede por ello concluir que las redes sociales pueden suponer un interesante canal de distribución para los alimentos de origen animal en Egipto. Aunque la predisposición de los consumidores se centra en alimentos de origen animal procesados, como las conservas o los productos lácteos, lo que está relacionado con el carácter poco perecedero de los mismos y con su mayor facilidad de transporte, se ha evidenciado una oportunidad para los alimentos frescos, en los que su elevado carácter perecedero hace que el consumidor sea muy susceptible a la información sobre la frescura (por ejemplo, en carnes, información sobre crianza del animal, fecha de sacrificio, etc.), lo que puede facilitar que el consumidor asocie este tipo de canales con una compra directa al productor. Además, el productor puede obtener una información directa del consumidor que de otras formas solo está accesible a las grandes empresas con recursos para llevar a cabo estudios de mercado. No obstante, es necesario disponer de redes de distribución eficientes y en las que se pueda garantizar el mantenimiento de la cadena de frío.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Elghannam, A., Escribano, M. & Mesías, F.J. 2017. Can social networks contribute to the development of short supply chains in the Spanish agri-food sector?. *New Medit*, In Press
- Krippendorff, K. 2004. Reliability in content analysis: some common misconceptions and recommendations. *Human Communication Research* 30(3): 411-433
- Ramus, K. & Nielsen, N.A. 2005. Online grocery retailing: what do consumers think? *Internet Research* 15(3): 335-



**Agradecimientos:** Los autores desean agradecer, la financiación proporcionada por el Ministerio Egipcio de Educación Superior (The Egyptian Sector of Cultural Affairs and Missions) y de la Junta de Extremadura y los fondos FEDER que hicieron esta investigación posible.

**Tabla 1.** Alimentos de origen vegetal que los consumidores comprarían a través de las redes sociales

Categorías	Productos	% de mención
Alimentación en general	Conservas vegetales	8
	Arroz, legumbres y pastas	9
	Bocadillos y platos preparados	8
	Cereales y harinas	2
	Mermelada	2
	Aceites	1
	Cafe y te	1
	Total	31
Pan/bollería	Pan y bollería	16
	Pizzas	9
	Total	25
Bebidas	Agua, zumos y refrescos	7
Frutas y verduras	Frutas y verduras	7

**Tabla 2.** Alimentos de origen animal que los consumidores comprarían a través de las redes sociales

Categorías	Productos	% de mención
Carne y pescado	Conservas de carne/pescado	14
	Carne fresca	3
	Pescado fresco	3
	Total	20
Productos lácteos	Quesos	4
	Leche	1
	Total	5

## SOCIAL NETWORKS AS A NEW MARKETING CHANNEL FOR FOOD PRODUCTS OF ANIMAL ORIGIN: A QUALITATIVE STUDY IN EGYPT

**ABSTRACT:** The revolutionary increase in the use of social media has offered producers the possibility to build new short chains for promoting and selling their products in a fast, economical and direct way. In addition, some social networks are developing systems that allow the online purchasing process to be held through their platforms, which opens new opportunities for companies in the agri-food sector. An online survey has been developed and distributed through social media sites in order to identify types of foods that Egyptian consumers would be willing to buy directly through social networks. Consumers were asked to create a list of all food products they would buy on social networks, in what is defined as a Free-listing task. It can be concluded that social media can become an interesting distribution channel for animal food products in Egypt. Although consumers have expressed a preference for processed animal food products (e.g. canned meat and dairy products), results have also shown an opportunity for fresh meat and fresh fish, where consumer can get a more direct relationship with the producer through social media. Additionally, farmers can get market information that would otherwise be only available for big companies.

**Keywords:** social commerce, Egyptian food sector, qualitative analysis, social media

## **PERCEPCIÓN Y VALORACIÓN DE UNA DENOMINACIÓN DE ORIGEN PROTEGIDA POR LOS GANADEROS: EL CASO DE LA TORTA DEL CASAR**

Escibano M., Mesías, F.J., Gaspar, P., Elghannam, A. y Eldesouky, A.  
Facultad de Veterinaria – Universidad de Extremadura. Campus, Ctra. De Cáceres s/n  
10003 - Cáceres. [mescriba@unex.es](mailto:mescriba@unex.es)

### **INTRODUCCIÓN**

La explotación del ovino en el suroeste peninsular está asociada a las áreas de dehesas y a los pastizales de secano. Estos sistemas se han caracterizado por su baja rentabilidad, lo que ha condicionado en ocasiones el abandono o cese de la actividad agraria (Gaspar et al., 2008). El sistema de explotación tradicional presenta importantes características diferenciadoras respecto a los sistemas más intensivos, fundamentalmente por la obtención de productos de calidad diferenciada y la explotación del ovino de forma equilibrada con el medio natural.

El sector ovino en Extremadura se ha orientado históricamente hacia la producción de carne. La producción de leche ha tenido una importancia marginal hasta el último decenio, en el que se ha desarrollado una infraestructura productiva en zonas muy localizadas de la geografía extremeña, con una base orientada hacia la producción de quesos artesanos. La raza utilizada principalmente en Extremadura para la elaboración de quesos con Denominación de Origen, es la Merina (Lorenzo, 2015). En este contexto, la producción diferenciada a través de marcas de calidad o Denominaciones de Origen Protegidas (DOP) podría mejorar la situación de las explotaciones ovinas, de manera que se asegure su continuidad y se fomente el desarrollo rural de estas zonas.

La Torta del Casar es un queso elaborado con leche cruda de ovejas procedentes de los troncos merino y entrefino. La zona geográfica de producción y elaboración se sitúa en la provincia de Cáceres, en la Comunidad Autónoma de Extremadura, y dentro de las comarcas de Los Llanos de Cáceres, Sierra de Fuentes y Montánchez, ocupando aproximadamente 400.000 ha.

El objetivo del trabajo se centra en el análisis de la estructura productiva de las explotaciones de la DOP “Torta del Casar”, evaluando la relación de las explotaciones con la DOP y sus perspectivas de futuro. En este sentido, existe una extensa bibliografía que abarca fundamentalmente aspectos de la gestión técnico-económica de las explotaciones ovinas, como los de Gaspar et al. (2008), o Riveiro et al. (2013). Son pocos los trabajos que analizan la producción lechera en ovino merino en dehesas, sin embargo si se encuentran importantes referencias relativas a la gestión de explotaciones de aptitud láctea como es el caso del ovino manchego (Contreras et al., 2014) o del Awassi y Assaf (Milán et al., 2011).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El trabajo analiza las explotaciones ovinas inscritas en la DOP “Torta del Casar”, localizadas en diferentes municipios de la provincia de Cáceres. Los datos fueron obtenidos directamente mediante encuesta a gestores de las explotaciones durante los meses de marzo y abril de 2016 y corresponden a un total de 15 de las 16 explotaciones que están acogidas a la DOP “Torta del Casar”.

El trabajo analiza cómo valoran los ganaderos su relación con la DOP “Torta del Casar” y qué beneficios les aporta desde un punto de vista técnico y económico. Para ello se les pidió a los ganaderos que puntuasen diversos aspectos de su relación con la DOP, para lo que debían tener en cuenta los beneficios de carácter general que les aportaba, el asesoramiento y la asistencia a la gestión que les brindaba.

Las preguntas fueron puntuadas por los ganaderos mediante una escala Likert de 1-5 donde el valor 1 se corresponde a “muy en desacuerdo”, el valor 2 a “en desacuerdo”, el valor 3 a “ni en desacuerdo ni de acuerdo”, el valor 4 a “de acuerdo” y el valor 5 a “muy de acuerdo” en relación las afirmaciones presentadas sobre las utilidades que les aporta la DOP. El tratamiento y análisis estadístico de la información se realizó a través del paquete estadístico SPSS v. 21.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la figura 1 se detallan los beneficios más comunes que les aporta a los ganaderos el pertenecer a la DOP. Puede observarse que los ganaderos se encuentran bastante

satisfechos con respecto a los beneficios que les aporta la DOP sobre todo en los aspectos relacionados con la mejora genética de los animales, el incremento de la producción y el volumen de ventas. Podemos apreciar que otros estudios realizados en el ovino lechero analizan de manera profunda la mejora genética en explotaciones de ovino lechero con el objetivo de aumentar el rendimiento lácteo de los animales (Ugarte et al., 2002), así como, el uso de tecnologías reproductivas y genéticas en el sistema ovino lechero manchego (Rivas, 2014).

Sin embargo, los ganaderos se muestran más neutros a la hora de opinar que esta relación hubiese podido contribuir a un esfuerzo en la mejora de las instalaciones en las explotaciones. Este último resultado es de esperar, ya que la mejora de las instalaciones es lo que supone una mayor inversión en una explotación, y para lo que la DOP no puede contribuir, al menos económicamente. No obstante, y de cara a valorizar las denominaciones y otras figuras de calidad, se podría vincular la percepción de determinadas ayudas comunitarias, como las incluidas en los planes de mejora de explotaciones, a la pertenencia a alguna de estas figuras de calidad. Esto podría mejorar la imagen de las mismas entre sus socios, fomentando el interés en pertenecer y permanecer en las mismas. Cuando se ha preguntado a los ganaderos por el asesoramiento y asistencia en la gestión que reciben por su pertenencia a la DOP aparecen algunos aspectos que reciben peores valoraciones (Figura 2). Los encuestados tan sólo destacan tímidamente una mejora en la comercialización de la leche, las ventas y el asesoramiento prestado por la DOP en la alimentación de los animales. Sin embargo, los ganaderos se quejan del alto precio de los piensos suministrados a través de la cooperativa asociada y de que la DOP no ha generado ayudas para mejora de las explotaciones, así como de que el asesoramiento veterinario y financiero es deficitario.

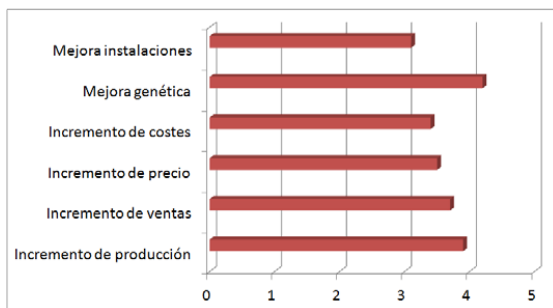
Todos estos aspectos van a ser de extraordinaria relevancia a la hora de evaluar el nivel de competitividad del sistema productivo y la viabilidad de sus explotaciones, tal como analiza Rivas (2014) en el caso del ovino manchego, o como García et al. (2012) indican con respecto a la comercialización de la leche de oveja como alternativa productiva.

Finalmente, en la figura 3 se detalla la incidencia de la DOP sobre la gestión técnica de las explotaciones. En cuanto a la facilidad para alcanzar los criterios impuestos por la DOP, los ganaderos encuestados se encuentran bastante satisfechos en general. Señalan a la estacionalidad de la producción láctea como el principal problema y condicionante en el manejo de sus explotaciones. Sin embargo, son reacios a establecer la gestión de la ganadería por lotes propuesta por la DOP, de ahí su bajo nivel de satisfacción.

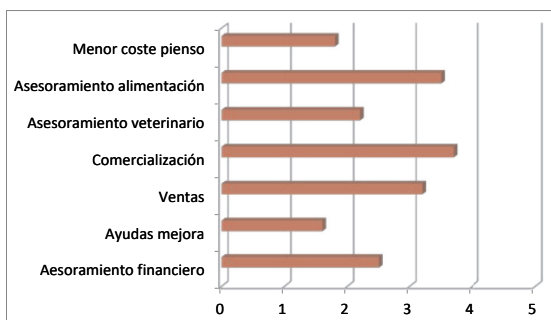
A modo de conclusión se ha observado cierto grado de satisfacción de los ganaderos por su pertenencia a la DOP, a la que reconocen un papel en la mejora de los aspectos generales de las explotaciones. Los encuestados se muestran reacios a establecer determinados cambios en el manejo de los animales que supongan una oferta de leche continua anual para las industrias. Se aprecia claramente como señalan carencias en la asistencia financiera para acometer las reformas y la falta de un asesoramiento veterinario adecuado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

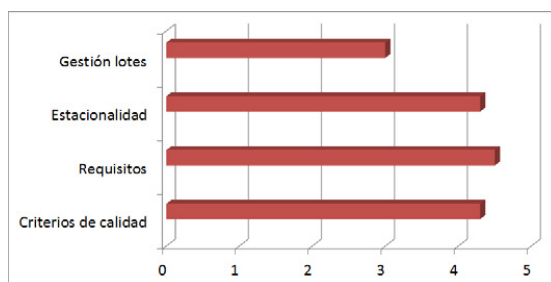
- Contreras, R., Acero, R., Rivas, J., Arias, R., Morantes, M., Barba, C. & García, A. 2014. Proceedings del IV Simposio Latinoamericano de Producción Animal • García, L.K., Mantecón, A., Sepúlveda, W. & Maza, M. 2012. Rev Mex Agronegocio 16(31): 6-18. • Gaspar, P., Escribano, M., Mesías, F.J., Rodríguez de Ledesma, A. & Pulido, F. 2008. Small Rumin. Res. 74: 52-63. • Lorenzo, E. 2015 Diversificación económica y producción agroalimentaria de calidad: El ejemplo de las DOP "Queso de la Serena" y "Torta del Casar". Tesis Doctoral-UEX • Milán, M.J., Caja, G., González-González, R., Fernández-Pérez, A.M. & Such, X. 2011. J. Dairy Sci., 94: 771-784. • Riveiro, J.A. 2013. Agr. Syst. 120: 27-37. • Rivas, J.H. 2014. Nivel de competitividad del sistema productivo ovino lechero de la DOP "Queso manchego": propuestas de mejoras de viabilidad de las explotaciones. Tesis Doctoral-UCO. • Ugarte, E., Serrano, M., De la Fuente, L.F., Pérez-Guzmán, M.D., Alfonso, L. & Gutiérrez, J.P. 2002. ITEA 98: 102-117.



**Figura 1.** Beneficios de carácter general que aporta la DOP Torta del Casar a sus miembros



**Figura 2.** Valoración del asesoramiento y asistencia en la gestión que aporta la DOP Torta del Casar a sus miembros



**Figura 3.** Valoración del asesoramiento técnico proporcionado por la DOP Torta del Casar a sus socios

### PERCEPTION AND ASSESSMENT OF A PROTECTED DESIGNATION OF ORIGIN BY FARMERS: THE CASE OF “TORTA DEL CASAR”

**ABSTRACT:** This paper analyzes the farmers’ assessment of their relationship with the PDO Torta del Casar, focusing on the technical and economic benefits that they obtain from their membership to de Designation of Origin. It has been observed that farmers are satisfied to a certain extent with their membership to the PDO, and they also acknowledge an improvement in their farms’ general aspects. However, they also point out some shortcomings regarding financial assistance to carry out some improvements, together with a lack of adequate veterinary advice. All these aspects will be extremely relevant when assessing the level of competitiveness of the productive system and the viability of the farms.

**Keywords:** PDO, Torta del Casar, sheep

## ANÁLISIS PRELIMINAR DE LAS MEDIDAS NO ARANCELARIAS QUE AFECTAN A LAS EXPORTACIONES ESPAÑOLAS DE PORCINO A CHINA

Peci, J. y Sanjuán, A.I.

CITA, Gobierno de Aragón. Avda Montañana 930, 50059 Zaragoza. [pecijurgen@yahoo.com](mailto:pecijurgen@yahoo.com)

### INTRODUCCIÓN

El sector porcino lidera el consumo global en comparación con otras carnes y es la principal fuente de proteína en muchos países desarrollados y en desarrollo. La producción global ha alcanzado niveles record, así como el volumen de comercio internacional. Estimaciones realizadas por instituciones internacionales (ej. OECD, FAO USDA) sugieren una expansión en la producción, consumo y comercio internacional en el futuro. España juega un papel importante como exportador de carne de porcino y otros productos relacionados, en tanto que China es un importador clave y de gran dimensión, y como tal, un destino atractivo para los exportadores españoles. Actualmente, existen 26 empresas españolas con permiso para exportar carne de porcino y derivados a China. Para adquirir dicho permiso, las empresas tienen que cumplir estrictamente una serie de regulaciones, algunas de las cuales se definieron mediante un protocolo bilateral firmado entre ambos países en 2007. Tales regulaciones se engloban en lo que genéricamente se denominan Medidas No Arancelarias (MNAs) definidas como todas aquellas medidas políticas, diferentes a los aranceles, que pueden potencialmente afectar al comercio exterior, modificando los volúmenes, precios o ambos (UNCTAD, 2015). El objetivo de esta comunicación consiste en identificar y describir las MNAs impuestas por China, definidas a nivel de Línea Arancelaria Nacional (LAN), mediante un enfoque de inventario.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Según la clasificación más reciente (UNCTAD, 2015) acordada entre distintas instituciones internacionales (ej. UNCTAD, FAO, ITC-*International Trade Centre*, WTO-*World Trade Organization*, World Bank y OECD.) las MNAs se clasifican en 16 categorías (identificadas con letras), que se sub-dividen en subcategorías identificadas mediante el uso de dígitos, desde uno hasta tres. Probablemente las categorías más conocidas y ampliamente utilizadas son: A. Medidas fito-sanitarias y sanitarias (SPS: *sanitary and phito-sanitary*); y B. Barreras técnicas al comercio (TBT: *technical barriers to trade*). Dichas instituciones han desarrollado una base de datos conocida como 'TRAINS NTMs' (*Trade Analysis Information System, Non-Tariff Measures*) y accesible a través del portal *World Integrated Trade Solutions (WITS)*<sup>1</sup> que recoge el inventario de MNAs existentes en cada país al nivel de desagregación de producto de 6 dígitos HS (por sus siglas en inglés, sistema de comercio armonizado). La información se obtiene mediante la consulta de legislaciones nacionales. Una segunda base de datos internacional es la accesible a través del portal *Integrated Trade Intelligence Portal (I-TIP)*<sup>2</sup> del WTO, restringida a las notificaciones de aplicación de medidas, principalmente, SPS y TBT. En el marco de la Organización Mundial del Comercio, los países miembros están autorizados a adoptar medidas dirigidas a la protección de la salud humana, animal, de sanidad vegetal y protección medioambiental (conocido como acuerdo SPS). Del mismo modo, el acuerdo sobre TBT establecía la autorización para adoptar medidas en el campo de la estandarización de productos, garantía de calidad e información a los consumidores. Los países miembros tienen que comunicar a la WTO la adopción y/o modificación de dichas medidas diseñadas al amparo de ambos acuerdos. En este artículo, se utilizan ambas fuentes de datos: TRAINS para el análisis de inventario y el cálculo de ratios que se exponen a continuación; e I-TIP para contextualizar la situación del sector agrario y de productos cárnicos en China. Asimismo, se define el sector porcino de forma amplia, incluyendo carne fresca, refrigerada, congelada así como productos derivados. En total, 28 líneas arancelarias y 21 sectores a nivel HS-6.

Siguiendo a Gourdon(2014), se calculan los siguientes indicadores:

1. Ratio de Frecuencia (F): el porcentaje de sub-sectores de porcino (del total de 28) donde China impone al menos una MNA. Se calcula según la ecuación (1), donde  $D_i$  es una

<sup>1</sup> <http://wits.worldbank.org/>

<sup>2</sup> <https://i-tip.wto.org/goods/>

variable dummy que vale 1 si existe al menos una MNA en el sub-sector  $i$ ; y  $M_i$  es una variable dummy que vale 1 cuando el país  $j$  (i.e. China) importa del sub-sector  $i$ .

2. Ratio de Cobertura (C): porcentaje del valor de importaciones de China en el sector porcino, afectadas por la presencia de MNAs. En la ecuación (2)  $V_i$  es el valor importado del sub-sector  $i$  (media en el período 2012-2015).

3. Índice de Prevalencia (P): el número medio de MNAs que afecta al sector porcino. En la ecuación (3)  $N_i$  es el número de MNAs que afectan al sub-sector  $i$ .

4. Índice de Alcance (A): el número medio de categorías y/o subcategorías diferentes de MNAs que afectan al sector. En la ecuación (4)  $S_i$  es el número de diferentes subcategorías de MNAs que afectan al sub-sector  $i$ .

En principio, cuantas más MNAs afecten a un producto, más regulado está su comercio, pero además, es probable que más afecte a su volumen de comercio total si estas medidas pertenecen a distintas categorías.

$$F = \left[ \frac{\sum D_i M_i}{\sum M_i} \right] \cdot 100 \quad (1) \quad C = \left[ \frac{\sum D_i V_i}{\sum V_i} \right] \cdot 100 \quad (2) \quad P = \left[ \frac{\sum N_i M_i}{\sum M_i} \right] \cdot 100 \quad (3) \quad A = \left[ \frac{\sum S_i M_i}{\sum M_i} \right] \cdot 100 \quad (4)$$

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a las notificaciones sobre SPS y TBT presentadas por China ante WTO (base I-TIP), el sector agrario en su conjunto sobresale (en comparación a manufacturas) en cuanto a la aplicación de medidas SPS, las cuales afectan a prácticamente la totalidad de sub-sectores. Por subsectores, los animales vivos ocupan la primera posición, con un total de 119 medidas, seguidos por lácteos (103 medidas), en tanto que las carnes y despojos comestibles ocupan el tercer lugar, con 74 medidas.

Mediante el inventario registrado en TRAINS, se observa que China aplica un total de 112 MNAs en el sector porcino, abarcando la totalidad de los 28 sub-sectores identificados. Es decir, el ratio de frecuencia  $F$ , es el 100%, al igual que el ratio de cobertura,  $C$ . El índice de prevalencia indica que, en media, se aplican 15 medidas distintas a cada subsector porcino. Finalmente, el índice de alcance señala que se aplican en media 10 medidas de subcategorías distintas del tipo A o sanitarias (SPS); 2 medidas distintas de tipo B o barreras técnicas al comercio (TBT), y 1 medida distinta de tipo C o pre-inspección y otras formalidades, a cada uno de los subsectores de porcino. En principio, un mayor número de MNAs implica mayor regulación del comercio, y esta regulación se acentúa cuando dichas medidas pertenecen a categorías o subcategorías distintas (Gourdon, 2104). Por ejemplo, la exigencia de cumplir con un límite de residuos (SPS) y una norma de etiquetado, puede resultar más costosa para el exportador que el cumplir con dos estándares técnicos relacionados, tales como, el etiquetado del producto y el material del embalaje. Siguiendo con la misma base de datos TRAINS, en la Figura 1, se muestra como las medidas adoptadas por China en el sector porcino pertenecen a tres categorías distintas: A, B y C. Gourdon(2014) calcula que tan solo un 1% de los sectores a nivel HS6 en China se ve afectado por tres categorías de MNAs, y como acabamos de describir, el porcino, es una de ellas. Es decir, el sector porcino es uno de los sectores más regulados comercialmente en China.

Utilizando las subcategorías de MNAs definidas con al menos cuatro dígitos, distinguimos 19 subcategorías distintas. En la Figura 1 se muestra, para cada una de estas subcategorías de MNAs, el número de subsectores de porcino afectados y el número de medidas distintas aplicadas. Existen 8 subcategorías de MNAs que afectan a un número de sub-sectores que varía entre 4 y 12. Las once subcategorías restantes afectan al menos a 20 de los 28 subsectores, en tanto que existen cuatro tipos o sub-categorías de MNAs que afectan a la totalidad de subsectores de porcino (A120, A210, A840 A850). A continuación se describen brevemente estas medidas con mayor nivel de penetración: 1) A120: Prohibición/restricción de importaciones por razones sanitarias de países o regiones específicas debido a la falta de evidencia de que se satisfacen las condiciones de seguridad necesarias para evitar riesgos sanitarios, exigiéndose certificados de cuarentena expedidos por el exportador; 2) A210: Límites de tolerancia para residuos y el uso restrictivo de sustancias en los alimentos y piensos, utilizados durante el proceso de producción (eg. Fertilizantes,

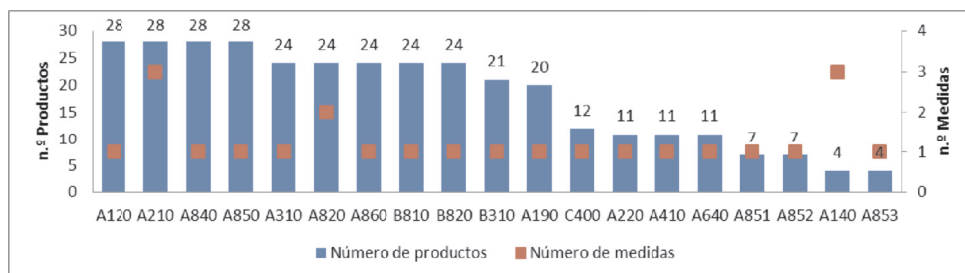
pesticidas, químicos, metales, contaminantes no-microbiológicos); 3) A8: Comprobación de conformidad en relación con medidas sanitarias; A840: ...requisito de inspección del producto en el país importador a realizar por entidades públicas o privadas (distinto de tests de laboratorio); 4) A850: ... requisito de trazabilidad, que exige un sistema de registro de los elaboradores extranjeros, exportadores de productos animales a China. A modo ilustrativo, entre las barreras técnicas al comercio que afectan a mayor número de subsectores de porcino en China, destacan las siguientes: 5) B8: ...comprobación de la conformidad del producto en relación con barreras técnicas al comercio; B810: ...requisito de registro del producto en el país importador; y B820: ...requisito de comprobación (test) de los productos importados en relación con una regulación concreta. Finalmente, entre las medidas de tipo C aplicadas, la única que afecta al sector es la C400: inspección pre-envío, para hacer un seguimiento y control del valor y/o volumen de las importaciones.

Del análisis descriptivo efectuado se puede intuir que las exportaciones de porcino a China están sometidas a un elevado número de requerimientos que, en primera instancia, representan un coste fijo para las empresas españolas y una dificultad de acceso al mercado. En segunda instancia, a más regulaciones es previsible que el coste variable de la exportación también se vea afectado. Todo ello, es previsible que tenga un efecto restrictivo sobre el comercio exterior. No obstante, la cuantificación de cual es dicho impacto frente a una situación de ausencia de MNAs y qué coste adicional puede representar la presencia de MNAs (el equivalente arancelario), requiere de una investigación posterior.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gourdon, J. (2014). CEPII NTM-MAP: A tool for assessing the economic impact of Non-Tariff Measures. CEPII Working Paper.
- UNCTAD (2015). International classification of non-tariff measures. 2012 version. United Nations Publication.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen financiación del proyecto INIA: RTA2015-00031-00-0 y del CIHEAM-IAMZ.



**Figura 1:** Número de productos de porcino afectados por subcategoría de MNAs chinas. Source: *Elaboración propia a partir de TRAINS NTMs (2016), acceso a través de WITS.*

### PRELIMINARY ANALYSIS OF NON-TARIFF MEASURES (NTM) AFFECTING SPANISH SWINE MEAT EXPORTS TO CHINA

**ABSTRACT:** Non-tariff measures (NTMs) have been raised as key issues impeding trade between countries and have replaced declining tariffs rates. Meats feature prominently in the discussions as they are heavily protected products. This study examines the current NTMs affecting Spanish swine meat exports to China and provides background on the market situation.

**Keywords:** *Swine meat, non-tariff measures, Spain, China.*





# *Nutrición y alimentación*



## EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ALTAS DOSIS DE BUTIRATO SÓDICO PROTEGIDO EN LA FASE DE FINALIZACIÓN DE CEBO DE PORCINO SOBRE LA INCIDENCIA DE *Salmonella*

Basanta<sup>1</sup>, A., Ortiz<sup>2</sup>, A., López<sup>3</sup>, A. y Carrasco<sup>1</sup>, C.

<sup>1</sup>Imasde Agroalimentaria, S.L. c/ Nápoles 3, 28224 Pozuelo de Alarcón, Madrid.  
abasanta@e-imasde.com

<sup>2</sup>Nuevas Tecnologías de Gestión Alimentaria, S.L. c/ Marconi, 9, 28823 Coslada, Madrid.

<sup>3</sup>Juan Jiménez García, S.A.U. Ctra. de la Pulgara, 30800 Lorca, Murcia.

### INTRODUCCIÓN

Las infecciones por *Salmonella* en porcino de cebo son generalmente asintomáticas, siendo la prevención de la contaminación difícil de lograr. En matadero, las canales infectadas pueden ser decomisadas o bien no podrán ser destinadas al consumo fresco y sólo se podrán utilizar para la obtención de productos cocidos, lo que se traduce en un mayor coste económico. El empleo de butirato en diferentes formatos (normalmente sódico protegido ButNa) en lechones es una práctica habitual debido a que se ha demostrado que mejora la acidez de la ingesta (Manzanilla *et al.*, 2006), el consumo, el crecimiento, la digestibilidad y la eficiencia alimentaria (Le Gall *et al.*, 2009), y posee cierto efecto bactericida (Fernández-Rubio *et al.*, 2009). Asimismo, es una fuente de energía para las células epiteliales (Galfi y Bokori, 1990), mejorando el desarrollo del tracto gastrointestinal y reforzando el sistema de defensa mediante función barrera, potenciando el sistema inmunológico en animales (Jerzsele *et al.*, 2012). Este efecto beneficioso sobre la salud intestinal y sobre la microflora del intestino, así como su efecto bactericida permite hipotetizar que el ButNa podría ser empleado en la última fase de cebo de porcino para reducir la posibilidad de que los animales lleguen, al sacrificio, infectados. Por ello, el objetivo de este proyecto es evaluar el empleo de dietas funcionales, mediante altas dosis de ButNa protegido, sobre la incidencia de *Salmonella* en la última fase de engorde de porcinos (últimos 21 días).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 216 cerdos Pietrain X Landrace\*Large White, 50% de machos y 50% de hembras, con un peso de  $83,8 \pm 8,5$  kg, distribuidos de forma homogénea en seis corrales por tratamiento. El diseño experimental fue al azar formado por 3 tratamientos según el nivel de inclusión de ButNa en la dieta de acabado: Control (C), BUT5 (C + 5 kg/t ButNa) y BUT7 (C + 7 kg/t ButNa). La dieta C fue formulada de acuerdo con las necesidades nutricionales recomendadas para cerdos de cebo por FEDNA (2013) (16,1% de proteína bruta, 0,89% de Lys digestible y 2.450 kcal/kg de energía neta). Las dietas BUT5 y BUT7 se obtuvieron añadiendo, a mayores, 5 ó 7 kg/t de ButNa (Butirex C4, NOVATION 2002, S.A., Soria) al pienso C. Los piensos fueron suministrados *ad libitum* en forma de harina. La unidad experimental para los parámetros productivos y los análisis microbiológicos de muestras de heces estuvo formada por boxes de 12 cerdos y hubo seis réplicas por tratamiento. Para los análisis serológicos en granja y matadero, la unidad experimental fue el cerdo y hubo 18 y 32 réplicas por tratamiento, respectivamente, mientras que para los cultivos microbiológicos de los ganglios, la unidad experimental fue el cerdo y hubo 5 réplicas por tratamiento. La unidad experimental para los parámetros productivos de matadero fue la canal y hubo 72 réplicas por tratamiento. La prueba se llevó a cabo en una granja de Piensos Jiménez S.L. situada en Mengíbar (Jaén), bajo condiciones prácticas de manejo. El sacrificio de los animales se realizó con prácticas comerciales en FACCSA (Cártama, Málaga).

Los análisis y medidas que se llevaron a cabo fueron los siguientes:

- Perfil nutricional de los piensos experimentales de cada lote fabricado.
- Antes de comenzar el ensayo, se tomaron 5 muestras de heces de los corrales de la granja (25 gr del suelo) y se realizaron recuentos microbianos en heces para determinar la presencia de *Salmonella* (método ISO 6579/A1:2007).
- Peso vivo (PV) de los cerdos de cebo al inicio y al final del periodo estudiado.
- Consumo medio diario (CMD), ganancia media diaria (GMD), índice de conversión (IC) y mortalidad durante el periodo de estudio.
- Antes del sacrificio, se tomaron 5 muestras de heces de cada corral (25 g del suelo) y tratamiento para determinar la presencia de *Salmonella* (método ISO 6579/A1:2007).

Además, se recogieron muestras de sangre de 18 animales por tratamiento para determinar el título de anticuerpos frente a *Salmonella* mediante ELISA.

-En matadero, también se tomaron muestras de 32 cerdos por tratamiento durante el sangrado para determinar el título de anticuerpos frente a *Salmonella* mediante el mismo test. Además, se recogieron muestras de 5 ganglios linfáticos ileocecales por tratamiento para detectar la presencia de *Salmonella* mediante cultivo microbiológico. Por último, se determinó el peso medio (kg) y el porcentaje de magro de las canales por tratamiento mediante un AUTOFOM III (Carometec A/S, Dinamarca).

Los parámetros productivos y el título de anticuerpos fueron analizados mediante el procedimiento GLM del programa IBM SPSS v22, considerando el nivel de inclusión de ButNa como efecto principal. Para la productividad, se utilizó el peso inicial como covariable. Además, los análisis de muestras de heces, sangre y ganglios linfáticos ileocecales fueron también analizados mediante el Test de Chi-Cuadrado para determinar la distribución de los resultados positivos o negativos en las diferentes muestras. Los resultados se expresaron como medias corregidas por mínimos cuadrados (con covariable) u organizadas por efectos principales. El nivel de significación estadístico se estableció para una probabilidad (P) menor o igual al 5% ( $P \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cerdos alimentados con la dieta BUT7 presentaron mayor PV final que los alimentados con las dietas C y BUT5 (98,9 vs 98,7 vs 100,1 kg para C, BUT5 y BUT7, respectivamente,  $P < 0,001$ ). Además, los cerdos alimentados con la dieta BUT7 también comieron más que los C, presentando los cerdos del tratamiento BUT5 valores intermedios (2,18 vs 2,28 vs 2,37 kg/d para C, BUT5 y BUT7, respectivamente,  $P = 0,013$ ). Por último, los cerdos alimentados con la dieta BUT7 tendieron a mostrar mejor GMD e IC que los C y BUT5.

Al inicio del ensayo, todos los tratamientos mostraron la misma contaminación frente a *Salmonella* en heces (33,7% de positivos), mientras que a la finalización del período experimental, en los corrales con cerdos alimentados con la dieta BUT7 se observó un 0% de prevalencia de *Salmonella*, manteniéndose en el resto de tratamientos la tasa de positividad relativamente similar que al inicio del ensayo ( $P = 0,144$ ).

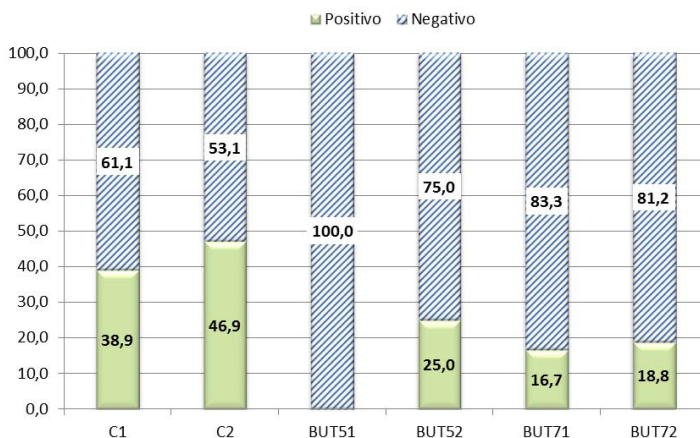
El título de anticuerpos sanguíneos de los animales alimentados con la dieta C fue mayor al de los animales alimentados con las dietas BUT5 y BUT7 (0,541 vs 0,065 vs 0,172 para C, BUT5 y BUT7, respectivamente,  $P = 0,022$ ). Asimismo, en los cerdos pertenecientes al tratamiento BUT5, todas las muestras sanguíneas evaluadas mostraron un resultado negativo, mientras que en las muestras de los cerdos pertenecientes al tratamiento BUT7 y C, el 16,7% y 38,9%, respectivamente, fueron positivas ( $P = 0,011$ , Figura 1). Por otra parte, durante el sangrado, se observó una mayor prevalencia de resultados positivos en los animales pertenecientes al tratamiento C que en los pertenecientes a los tratamientos BUT5 y BUT7 (46,9 vs 25,0 vs 18,8%, respectivamente,  $P = 0,037$ , Figura 1). En los ganglios ileocecales no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0,10$ ). No obstante, en los cerdos alimentados con la dieta C se detectó la presencia de *Salmonella* en un mayor número de muestras (80%) que en los cerdos alimentados con las dietas BUT5 y BUT7 (60%) ( $P = 0,741$ ). Por último, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos para el peso (kg) y el contenido magro (%) de las canales, determinado mediante AUTOFOM III.

De los resultados obtenidos en este ensayo se puede concluir que la inclusión de ButNa a altas dosis en la dieta de acabado de cerdos: (i) aumentó el PV y CMD de los animales; (ii) redujo la incidencia de *Salmonella*, expresado por un menor porcentaje de excreción en las muestras de heces (especialmente en dietas BUT7), un menor título de anticuerpos, un menor porcentaje de positivos al final del ensayo y a la entrada a matadero, y una menor presencia de *Salmonella* en ganglios linfáticos; y (iii) no afectó al peso ni al porcentaje de magro de las canales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Manzanilla, E.G. *et al.* 2006. J. Anim. Sci. 84:2743-2751. • Le Gall, M. *et al.* 2009. Br. J. Nutr. 102:1285-1296. • Fernández-Rubio, C. *et al.* 2009. Poult. Sci. 88: 943-948. • Galfi, P. y Bokori, J. 1990. Acta Vet. Hung. 38:3-17. • Jerzsele, A. *et al.* 2012. Poult. Sci. 91:837-843.

**Agradecimientos:** Este proyecto ha sido financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (IDI-20151263 e IDI-20151264). Los autores expresan su agradecimiento al personal de FACCSA por la colaboración prestada durante el sacrificio y la toma de muestras en matadero.



**Figura 1.** Efecto de los niveles de inclusión de ButNa en la dieta de acabado de cerdos de cebo sobre la distribución de los resultados de Salmonella (positivo y negativo) mediante ELISA en muestras de sangre tomadas a la finalización del ensayo (1) y durante el sangrado de los cerdos en matadero (2) ( $P1=0,011$ ;  $P2=0,037$ ).

### EFFECT OF THE ADDITION OF HIGH DOSES OF PROTECTED SODIUM BUTYRATE IN FATTENING PIGS ON *Salmonella* PREVALENCE

**ABSTRACT:** A total of 216 crossbred pigs (Pietrain X Landrace\*Large White), with an average body weight of  $83.8 \pm 8.5$  kg, were used to investigate the effects of the addition of high doses of protected sodium butyrate in the last period of fattening (21 days) on *Salmonella* prevalence. There were three treatments according to diets (C = control; BUT5 = C + 5 kg/t ButNa; BUT7: C + 7 kg/t ButNa). Each treatment was replicated six times, and the experimental unit was a pen with 12 fattening pigs for performance and the fattening pigs for microbial analysis. Fattening pigs feeding with BUT7 showed higher body weight and average daily feed intake than pigs belonging to control and/or BUT5 treatments. Moreover, the addition of high doses of protected sodium butyrate, mainly BUT7, allowed reducing *Salmonella* prevalence in faecal and blood samples, and its presence in lymph nodes. Finally, these high doses did not affect to carcass weight and muscle percentage.

**Keywords:** *Salmonella*, butyrate, fattening pigs.

## EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE DOS SALES SÓDICAS DE BUTIRATO Y HEPTANOATO FRENTE UN DESAFÍO ORAL CON *ESCHERICHIA COLI* (ECET) K88 EN LECHONES DESTETADOS

López-Colom<sup>1</sup>, P., Castillejos<sup>1</sup>, L., Puyalto<sup>2</sup>, M., Mallo<sup>2</sup>, J.J. y Martín-Orúe<sup>1</sup>, S.M.

<sup>1</sup>Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona. susana.martin@uab.cat

<sup>2</sup>Norel S.A., Jesús Aprendiz, 19, 1ªA. 28007 Madrid.

### INTRODUCCIÓN

*Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET) es el mayor patógeno causante de la diarrea post-destete (DPD) (Moredo *et al.*, 2015). El uso abusivo de antibióticos para hacer frente a esta patología, entre otras, y el creciente y amplio rango de resistencias (EFSA, 2013) llevaron a la UE a prohibir su uso como promotores del crecimiento en el 2006.

Existen diversas estrategias alternativas para optimizar la salud intestinal del lechón. Nuestro interés se centra en el uso de ácidos orgánicos, por su actividad antibacteriana (Heo *et al.*, 2013) y protección hacia patógenos (den Besten *et al.*, 2013). En el presente trabajo, se han valorado dos sales sódicas: butirato sódico, con beneficios sobre el tracto gastrointestinal (Mazzoni *et al.*, 2008; den Besten *et al.*, 2013) y modulador de la respuesta inmune (Weber y Kerr, 2008; Melo *et al.*, 2016); y heptanoato sódico, con actividad bactericida (Grilli *et al.*, 2012; Bhattarai *et al.*, 2007). Nuestro objetivo fue el de valorar su eficacia frente a ECET K88 utilizando un modelo experimental de colibacilosis post-destete.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 72 lechones machos (Large White x Landrace) destetados a 21 días (5,4±0,73 kg peso vivo) procedentes de una granja comercial y de madres sin vacunar frente a *E. coli*. Los animales se distribuyeron en 3 salas con 8 corrales (3 animales/corral) entre los que se adjudicaron 3 dietas (n = 8): (i) dieta base (CTR); (ii) dieta base con GUSTOR BP70® (BUT; 3 kg/t); y (iii) dieta base con HEPT'ON® (HPT; 3 kg/t). Los aditivos contenían butirato y heptanoato en su forma de sal sódica (al 70%) protegidos con grasa vegetal (NOREL S.A.). Tras una semana de adaptación, se realizó una doble inoculación oral con ECET K88 en días consecutivos (3x10<sup>9</sup> y 3x10<sup>10</sup> ufc). Se registró el consumo y el peso de los animales y se evaluaron los parámetros clínicos de consistencia fecal y temperatura rectal. A día 4 y 8 post-inoculación (PI) se extrajo sangre de un animal por corral para evaluar la respuesta inflamatoria (factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y proteína de fase aguda mayor porcina (PigMAP)) y tras su sacrificio se muestreó contenido de estómago, duodeno, íleon y colon proximal a fin de determinar el pH y productos de la fermentación (amoníaco, ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y ácido láctico). Se hicieron recuentos de enterobacterias, coliformes y del patógeno en digesta de íleon y colon y también en raspados de la mucosa ileal. Asimismo, se obtuvieron muestras de tejido ileal para el análisis histomorfológico.

Se utilizó el programa R v1.9 para el análisis estadístico. Se realizó el análisis de la varianza en las medidas puntuales siguiendo un modelo lineal de dos factores (tratamiento y sala) con el paquete stats, mientras que las medidas repetidas (consistencia fecal y temperatura rectal) siguieron un modelo lineal mixto con interacción (tratamiento y tiempo) con el paquete nlme. La significación se estableció a  $\alpha < 0,05$  y la tendencia a  $\alpha < 0,10$ . En caso de efecto significativo ( $P < 0,05$ ), se realizó la corrección de Tukey con el paquete stats para medidas puntuales o con el paquete multcomp para medidas repetidas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

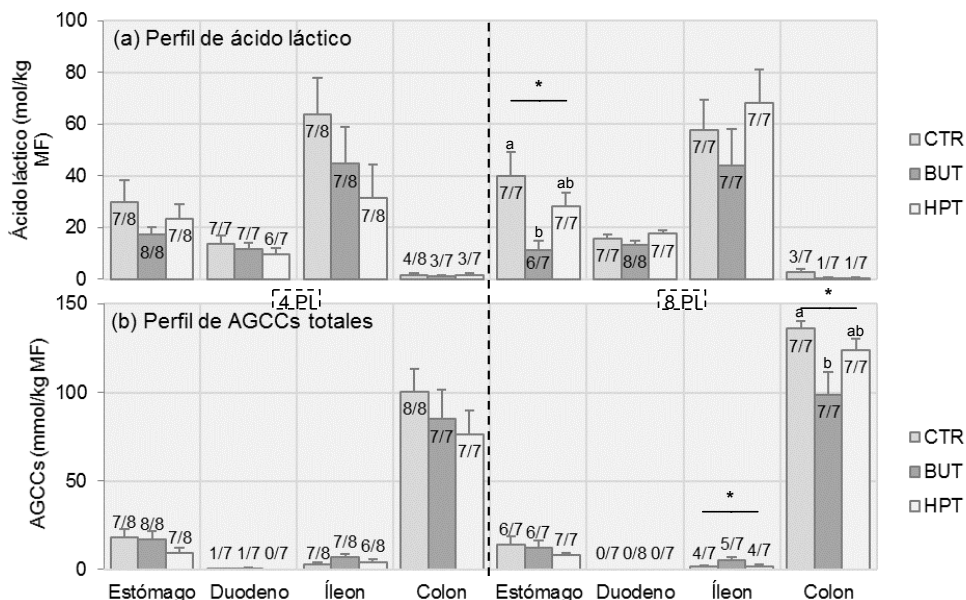
Durante la adaptación los animales presentaron un buen estado de salud. La inoculación produjo un cuadro clínico leve que remitió de forma espontánea.

La inoculación resultó en una caída del consumo a día 2 PI y la aparición de hipotermia y empeoramiento de la consistencia fecal ( $P < 0,001$ ) sin diferencias al añadir las sales ácidas.

Con respecto a la fermentación, no se apreciaron diferencias entre tratamientos en la concentración de amoníaco ni en el pH. Cuando se evaluó la permanencia de ambos aditivos a lo largo de tracto digestivo, el ácido heptanoico fue detectado en el estómago de la mayoría de los animales tratados con HPT (13/15) y también en dos casos excepcionales

de los CTR (1/15) y BUT (1/15) ( $P < 0,001$ ). A nivel de duodeno también prevaleció en animales con HPT (11/14) ( $P < 0,001$ ) y fue detectado en dos animales aislados con CTR (1/14) y BUT (1/15) ( $P < 0,001$ ). En los tramos posteriores, íleon y colon, no se pudo detectar ácido heptanoico en ningún animal. En paralelo, el ácido butírico se encontró en el estómago en un mayor número de animales tratados con BUT (11/15) frente a los CTR (6/15) y HPT (2/15) ( $P = 0,005$ ). En duodeno no se detectó en ninguno de ellos y en íleon sólo apareció de forma anecdótica en un lechón del BUT a día 8 PI (1/7). En colon, la concentración de ácido butírico no se vio afectada por los tratamientos (11,57, 9,92 y 8,35 mmol/kg MF para CTR, BUT y HPT, respectivamente;  $P = 0,580$ ).

En la Figura 1 se muestra la evolución del ácido láctico y del total de AGCCs a lo largo del tracto digestivo. Llama la atención la importante actividad fermentativa detectada en el estómago, con rangos de los ácidos acético y láctico entre 3,3 y 22,1 mmol/kg MF y 2,1 y 86,1 mmol/kg MF, respectivamente. La adición de butirato fue capaz de reducir la concentración de ácido láctico en estómago a día 8 PI ( $P = 0,016$ ) y también disminuirla del total de AGCCs en colon ( $P = 0,023$ ). Por otro lado, el heptanoato modificó el perfil de fermentación gástrica reduciendo numéricamente ( $P = 0,124$ ) la proporción de animales con ácido propiónico detectable (6/15 vs. 11/15 y 11/15 para HPT, CTR y BUT, respectivamente) y de ácido valérico ( $P = 0,044$ ) (1/15 vs. 6/15, 7/15 para HPT, CTR y BUT, respectivamente).



**Figura 1.** Concentración de: (a) ácido láctico; y (b) AGCCs (mmol/kg de materia fresca (MF)), en estómago, duodeno, íleon y colon a días 4 y 8 PI. Fracción: Número de animales con ácido cuantificable/número total de animales muestreados. \* $P < 0,05$ .

En cuanto al análisis microbiológico (Tabla 1), se observaron mayores recuentos de enterobacterias y coliformes en los animales tratados con BUT y HPT en los raspados de mucosa ileal a día 4 PI ( $P = 0,016$  y  $P = 0,003$ , respectivamente) y tendencias en la digesta ileal a día 8 PI ( $P = 0,107$  y  $P = 0,062$ , respectivamente). No obstante, estas diferencias no se apreciaron en digesta cólica y la cuantificación por qPCR de ECET K88 tampoco mostró mayor adherencia en mucosa ileal en los tratamientos frente el grupo CTR ( $P = 0,358$ ).

El estudio histomorfométrico no mostró diferencias significativas entre dietas a pesar del incremento de las poblaciones de enterobacterias y coliformes observadas, lo que sugiere que, a pesar de una mayor presencia del patógeno, no hubo daño epitelial ni cambios en la respuesta inflamatoria local. Tampoco se registraron cambios en la respuesta inflamatoria sistémica analizada como niveles plasmáticos de TNF-alfa y PigMAP.

**Tabla 1.** Recuentos de enterobacterias y coliformes (log ufc/g de materia fresca) en raspados de mucosa ileal, digesta ileal y digesta cólica a día 4 y 8 post-inoculación (PI).

Parámetro	Día	CTR	BUT	HPT	RSE*	P	
Mucosa ileal	Enterobacterias	4 PI	4,97 <sup>a</sup>	6,15 <sup>b</sup>	6,13 <sup>b</sup>	0,812	0,016
		8 PI	5,35	5,88	5,29	0,784	0,282
	Coliformes	4 PI	4,30 <sup>a</sup>	5,88 <sup>b</sup>	5,46 <sup>b</sup>	0,776	0,003
		8 PI	4,74	5,16	4,62	1,155	0,624
Digesta ileal	Enterobacterias	4 PI	7,98	9,11	8,96	1,641	0,349
		8 PI	6,36	7,14	6,84	0,697	0,107
	Coliformes	4 PI	7,24	8,50	8,29	1,340	0,159
		8 PI	6,08	6,90	6,65	0,659	0,062
Digesta cólica	Enterobacterias	4 PI	7,95	8,67	8,77	1,160	0,325
		8 PI	6,89	7,23	6,92	1,008	0,757
	Coliformes	4 PI	7,44	7,78	8,13	1,029	0,428
		8 PI	6,24	6,78	6,61	0,968	0,535

\*Error estándar residual (*Residual Standard Error* en inglés).

En resumen, con el modelo experimental presentado, los aditivos no fueron capaces de mitigar los efectos negativos de ECET K88 sobre los parámetros clínicos o productivos. Los animales tratados aumentaron los recuentos de enterobacterias y coliformes en íleon, pero sin alteraciones en la arquitectura del tejido intestinal ni en la respuesta inflamatoria. Ambas sales ácidas demostraron tener un impacto en la fermentación gástrica que podría estar detrás de los efectos beneficiosos descritos por otros autores para este tipo de aditivos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- den Besten, G. *et al.* 2013. *J. Lipid. Res.* 54:2325-37.
- Bhattarai, H.D. *et al.* 2007. *J. Environ. Biol.* 28:857-63.
- EFSA & ECDC. 2015. *EFSA J.* 13:4036.
- Grilli, E. *et al.* 2012. *J. App. Microbiol.* 114:308-17.
- Heo, J.M. *et al.* 2013. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97:207-37.
- Mazzoni, M. *et al.* 2008. *J. Nutr.* 138:1426-31.
- Melo, A.D.B. *et al.* 2016. *Genet. Mol. Res.* 15:gmr15048875.
- Moredo, F.A. *et al.* 2015. *Foodborne Pathog. Dis.* 12:704-12.
- Weber, T.E. & Kerr, B.J. 2008. *J. Anim. Sci.* 86:442-50.

**Agradecimientos:** Financiado por Norel S.A. dentro del proyecto “PORCDIGEST” subvencionado por el CDTI y el Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España.

#### EVALUATION OF THE EFFICACY OF SODIUM BUTYRATE OR HEPTANOATE IN FRONT OF AN ESCHERICHIA COLI (ETEC) K88 ORAL CHALLENGE IN PIGLETS

**ABSTRACT:** Two new protected forms of sodium butyrate or sodium heptanoate (NOREL S.A.) were tested against an ETEC K88 oral challenge in weanlings. 72 piglets were distributed into 24 pens and 3 diets: plain diet (CTR); with GUSTOR-BP70® (BUT); or with HEPTON® (HPT) at 3 kg/t each. Animal performance and clinical parameters were monitored before (7 days) and after inoculation (PI) (8 days). In addition, microbial counts, fermentation, histomorphometry and immune response were analyzed on days 4 and 8PI. Inoculation promoted a moderate diarrhea and reduced feed consumption with no significant differences between diets. Enterobacteria and coliforms were increased in ileum with both salts on day 4PI (P<0.05) although ileal histomorphometry and inflammatory (TNF-alpha, PigMAP) response remained unaffected. Besides this both acids shaped gastric fermentation, BUT reduced lactic acid concentration on day 8PI (P=0,016) and HPT modified fermentation pattern. Under our experimental model, the tested additives were not able to reduce the impairment of the ETEC K88 challenge in performance and diarrhea prevalence, however it was recorded a significant impact on stomach with reductions in its fermentative activity (BUT) and modulation of its profile (HPT). This gastric impact could be behind the beneficial effects reported by other authors for these additives.

**Keywords:** sodium butyrate, sodium heptanoate, weanling, ETEC K88.



## ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE ALGUNOS INGREDIENTES PARA REDUCIR LA ADHESIÓN DE *Escherichia coli* ENTEROTOXIGENICA (ETEC) K88 A CELULAS EPITELIALES PORCINAS

Zhu, Y., González-Ortiz, G., Solà-Oriol, D. y Martín-Orúe, S.M.  
Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España.  
zyn4266@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

*Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) K88 es uno de los principales agentes responsables de la diarrea post-destete en los lechones. La colonización intestinal está mediada por el reconocimiento los receptores intestinales por parte de las adhesinas fimbriales K88 (Fairbrother *et al.*, 2005, Kiarie *et al.*, 2010). La interferencia de esta unión por moléculas exógenas, presentes naturalmente en ciertos ingredientes, se ha demostrado capaz de prevenir la colonización gastrointestinal y se ha propuesto como alternativa al uso de antibióticos (Hermes *et al.*, 2011). El casein-glicomacropéptido (CGMP) obtenido a partir del suero de leche y el salvado de trigo, han demostrado ser capaces de reducir la adhesión de ETEC K88 al moco intestinal y a las células intestinales porcinas IPEC-J2 (González-Ortiz *et al.*, 2013; Hermes *et al.*, 2013). En el presente estudio, se evaluó el potencial de otros ingredientes de uso común en las dietas y de diversos salvados de cereales, para unirse específicamente a ETEC K88 (Test de adhesión, TA) o interferir en la unión de ETEC K88 a IPEC-J2 (Test de bloqueo, TB).

### MATERIAL Y MÉTODOS

La cepa ETEC K88 fue cedida por el Laboratorio de Referencia de *E. coli* de la Facultad de Veterinaria de Santiago de Compostela (Lugo) (O149: K91, H10 (K-88) / LT-1 / STb). La variedad no fimbriada (NF) de *E. coli* (F4-, F6-, F18-, LT1-, ST2 +, Stx2e-) fue donada por el Departamento de Sanitat i d'Anatomia Animals de la Universitat Autònoma de Barcelona. El cultivo de las cepas se realizó de acuerdo con González-Ortiz *et al.* (2013).

En el estudio se incluyeron diferentes ingredientes habituales en la dieta del lechón como cereales (trigo, avena, centeno y maíz), fuentes proteicas de origen vegetal (soja extrusionada; harina de soja y harina de colza) y de origen animal (leche en polvo y harina de pescado). Además, se evaluaron muestras de salvado de cereales incluyendo trigo, espelta, kamut, centeno, avena y arroz. Todos los ingredientes se molturaron finamente, se resuspendieron en tampon fosfato (PBS) (1:10 (p/v)), se vortearon y se sonicaron tres veces durante 30 segundos. El sobrenadante, como extracto soluble, se mantuvo a -20°C hasta su uso en los ensayos.

La línea de células epiteliales intestinales porcinas (IPEC-J2) fue amablemente donada por el Dr. Antony Blikslager de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Estatal de Carolina del Norte. Las condiciones de cultivo se describen en González-Ortiz *et al.* (2013).

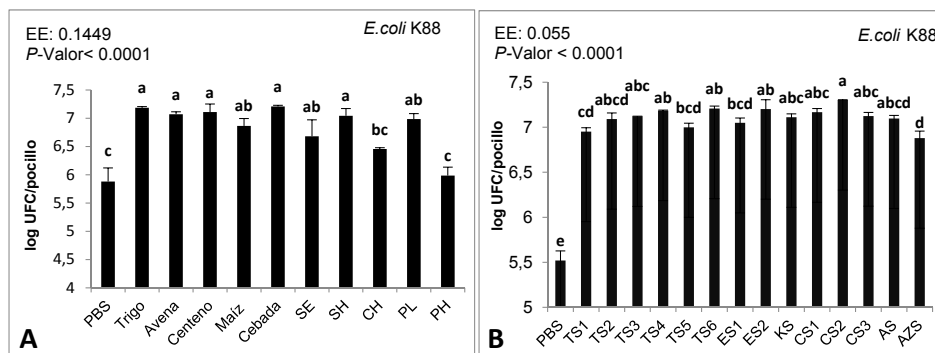
Ambos test, TA y TB, son un sistema *in vitro* miniaturizado basado en placas de microtitulación de poliestireno de alta adhesión. Los principios y detalles del método se encuentran descritos en González-Ortiz *et al.* (2013, 2014). Todas las muestras se evaluaron en dos ensayos independientes con tres repeticiones por ensayo.

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando R v.3.3. Los valores se presentan como medias  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias entre las medias se evaluaron mediante el ajuste de Tukey-Kramer para comparaciones múltiples.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

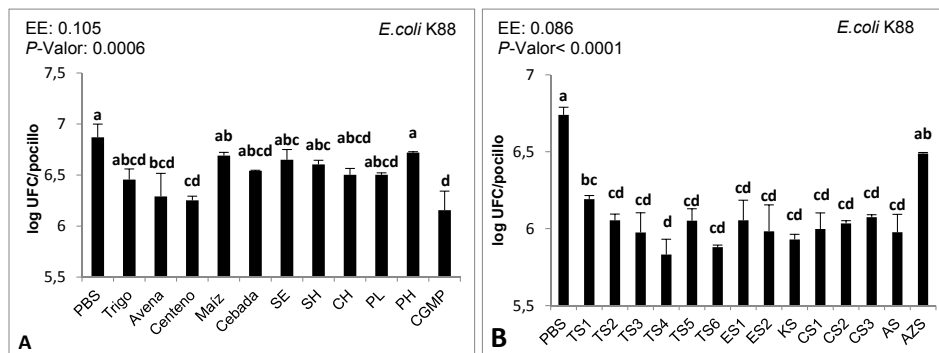
En el TA, el extracto soluble de todos los cereales mostró capacidad de adherir ETEC K88 ( $P < 0.05$ ) (Figura 1A). Respecto a las fuentes de proteína vegetal, la colza no mostró capacidad para unirse a ETEC K88 pero sí la soja extrusionada y la harina de soja. La leche en polvo fue la única proteína de origen animal que se mostró capaz de adherir ETEC K88,

mientras que la harina de pescado no mostró diferencias con el PBS. Todos los salvados de cereales evaluados fueron capaces de adherir el patógeno (Figura 1B).



**Figura 1.** Test de adhesión (TA): Número de bacterias (log UFC/pocillo) que se unen a los pocillos tapizados con los extractos solubles de los diferentes ingredientes. Los valores medios  $\pm$  desviación estándar se obtuvieron a partir de tres repeticiones en dos ensayos independientes. Diferentes letras significan  $P < 0,05$ . Los extractos equivalen a un 1% p/v del ingrediente. PBS (abreviatura) es el control negativo; SE: soja extrusionada; SH: harina de soja; CH: harina de colza; PL: leche en polvo; PH: harina de pescado; TS1-TS6: salvado de trigo de seis proveedores diferentes; ES1-ES2: salvado de espelta de dos proveedores; KS: salvado de kamut; CS1-CS3: salvado de centeno de tres proveedores; AS: salvado de avena; AZS: salvado de arroz.

En el TB (Figura 2A), los extractos de centeno y de avena redujeron la unión de ETEC K88 a las células IPEC-J2 ( $P < 0,01$ ) y el trigo mostró una tendencia ( $P = 0,05$ ). El CGMP como control positivo, mostró la mayor inhibición de la unión de ETEC K88 a IPEC-J2 ( $P < 0,001$ ). Todos los salvados de cereal (Figura 2B), con la excepción del salvado de arroz, redujeron la adhesión del patógeno a IPEC-J2 ( $P < 0,001$ ).



**Figura 2.** Test de bloqueo (TB): Número de bacterias (log UFC/pocillo) que se unen a los pocillos tapizados con IPEC-J2 tras su co-incubación con el extracto soluble de diferentes ingredientes. Los valores medios  $\pm$  desviación estándar se obtuvieron a partir de tres repeticiones en dos ensayos independientes. Diferentes letras significan  $P < 0,05$ . Los extractos equivalen a un 1% p/v del ingrediente. PBS (abreviatura) es el control negativo y caseína-glicomacropéptido (CGMP) es el control positivo; SE: soja extrusionada; SH: harina de soja; CH: harina de colza; PL: leche en polvo; PH: harina de pescado; TS1-TS6: salvado de trigo de seis proveedores diferentes; ES1-ES2: salvado de espelta de dos proveedores; KS: salvado de kamut; CS1-CS3: salvado de centeno de tres proveedores; AS: salvado de avena; AZS: salvado de arroz.

El salvado de trigo del proveedor 4 mostró la mayor capacidad de bloqueo ( $P < 0,001$ ). Los resultados de TA y TB utilizando la cepa NF de *E. coli* no mostraron ninguna diferencia entre los ingredientes testados y el PBS (datos no mostrados) sugiriendo que los efectos de adhesión y bloqueo observados con ETEC K88 fueron mediados por la fimbria.

Muchos compuestos solubles de los cereales podrían estar implicados en el reconocimiento de la fimbria. Se ha descrito que algunos oligosacáridos compiten con los receptores intestinales por la unión a los patógenos, reduciendo así su adhesión al epitelio y la colonización intestinal (Shoaf-Sweeney *et al.*, 2009). Sin embargo, otros compuestos como proteínas o carbohidratos complejos podrían estar también implicados en la interferencia observada en la adhesión bacteriana. Los resultados de este trabajo sugieren que cereales, como el centeno, la avena, el trigo y, en particular, su salvado, podrían ser contemplados en la formulación de los piensos como ingredientes útiles para prevenir la diarrea inducida por ETEC K88.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fairbrother, J.M., Nadeau, E., Gyles, C.L. 2005. Anim Health Res Rev. 6:17-39.
- González-Ortiz, G, Hermes, R.G, Jiménez-Díaz, R, Pérez, J.F, Martín-Orúe, S.M. 2013. Vet Microbiol. 167:494-499.
- González-Ortiz, G., Pérez, J.F., Hermes, R.G., Molist, F., Jiménez-Díaz, R., Martín-Orúe, S.M. 2014. Br J Nutr. 111,633-642.
- Hermes, R.G., Manzanilla, E.G., Martín-Orúe S.M., Pérez, J.F., Klasing, K.C. 2011. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 34:479-488.
- Hermes, R.G., Molist, F, Pérez, J.F., Gómez de Segura, A., Ywazaki, M., Davin, R., Nofrarias, M., Korhonen, T.K., Virkola, R., Martín-Orúe, S.M. 2013. Br J Nutr.109:1001-1012.
- Kiarie, E.G., Slominski, B.A., Nyachoti, C.M. 2010. Anim Sci J. 81, 63-71.
- Shoaf-Sweeney, K.D., Hutkins, R.W. 2009. Adv Food Nutr Res. 55:101-161.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia de España (proyecto AGL 2009-0732).

### SCREENING FOR THE ABILITY OF COMMON FEED INGREDIENTS TO REDUCE THE ATTACHMENT OF ENTEROTOXIGENIC *Escherichia coli* (ETEC) K88 TO PORCINE EPITHELIAL CELLS

**ABSTRACT:** The purpose of this study was to evaluate the ability of different common ingredients in the formulation of pig diets, and particularly different kinds of cereal brans, to attach ETEC K88 (adhesion test, AT) and to block its attachment to IPEC-J2 cells (blocking test, BT) *in vitro*. For the feed ingredients tested wheat, corn, oat, barley, rye, soybean meal, extruded soybean as well as milk powder had the ability to attach specifically ETEC K88 ( $P < 0.05$ ). Suggesting another mechanism of action, rye and oat interfered the attachment of ETEC K88 to IPEC-J2 ( $P < 0.01$ ), while wheat soluble extract showed a trend to reduce the number of ETEC K88 bound to cells ( $P = 0.05$ ). All brans evaluated had the ability to attach specifically ETEC K88 ( $P < 0.05$ ) even all of them were able to inhibit ETEC K88 attachment to IPEC-J2 cells ( $P < 0.001$ ) with the exception of rice bran. These results suggest that cereal, such as rye, oat, and wheat and particular their bran, should be further evaluated as potential ingredients in the formulation of feed for weaning piglets as natural biological strategies to prevent ETEC K88-induced diarrhea.

**Keywords:** ETEC K88, cereal, bran, piglet, IPEC-J2.

## EFICACIA DE LA COMBINACIÓN SIMBIÓTICA DE *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* SUBSP. *INFANTIS* CECT7210 Y UN PREBIÓTICO DE INULINA Y FOSFRENTE A *SALMONELLA TYPHIMURIUM* EN UN MODELO DE LECHÓN RECIÉN DESTETADO

Rodríguez-Sorrento<sup>1</sup>, A., Castillejos<sup>1</sup>, L., Lopez<sup>1</sup>, P., Rivero Urgell<sup>2</sup>, M., Moreno<sup>2</sup>, J.A. y Martín-Orúe<sup>1</sup>, S.M.

<sup>1</sup>Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. agustina.rodriguez@uab.cat

<sup>2</sup>Laboratorios Ordesa S. L., Parc Científic de Barcelona, C/Baldri Reixac 15-21, 08028 Barcelona, España.

### INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un interés creciente en el uso de probióticos y prebióticos, tanto en el ámbito de la nutrición humana como animal. La prohibición, por parte de la Unión Europea, del uso de antibióticos como promotores de crecimiento (Eur-Lex, 2003) ha hecho que su estudio adquiera especial importancia.

*Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT 7210 es una cepa probiótica con una alta resistencia a los jugos gastrointestinales, sales biliares y bajos pH y con una gran capacidad de adhesión al mucus intestinal, que ha demostrado en ratas capacidad para prevenir la infección por Rotavirus (Moreno *et al.*, 2011) y en lechones reducir la colonización intestinal de ETEC y *Salmonella* (Barba-Vidal, 2016).

Por otra parte, el uso de inulina y oligofruktanos como componentes prebióticos en la dieta se ha demostrado como un sustrato capaz de favorecer el crecimiento de bifidobacterias (Rossi *et al.*, 2005), mientras que otras de carácter patógeno como *Salmonella* se ven negativamente afectadas (Glenn *et al.*, 1995).

Teniendo en cuenta lo explicado anteriormente, podría resultar interesante la administración conjunta de la cepa mencionada de *B. infantis* con fructooligosacaridos derivando en lo que se conoce como simbiótico.

No obstante, existen pocos estudios al respecto. El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la eficacia de la adición de un prebiótico compuesto por inulina y oligofruktanosa al probiótico *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT7210 (Laboratorios Ordesa S.L.) frente a *Salmonella Typhimurium* utilizando un modelo experimental de lechón destetado.

### MATERIAL Y MÉTODOS

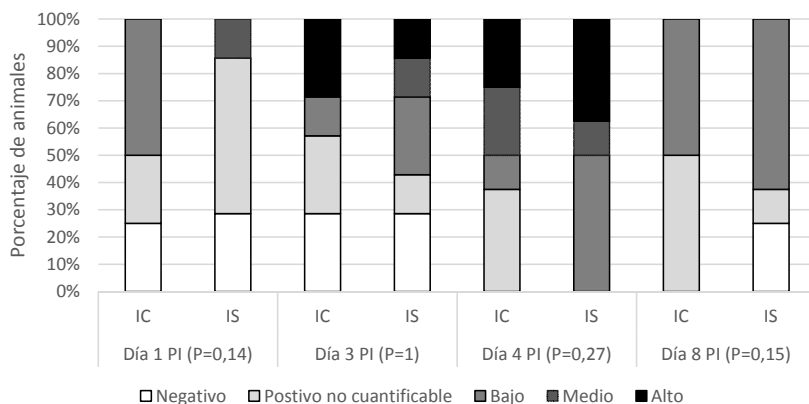
Se utilizaron 72 lechones machos Landrace x Large White de 28 días (7,7±1,60 kg), distribuidos en 24 corrales en un diseño 2x2: con o sin simbiótico, e inoculados o no con el patógeno. Los animales recibieron una dieta base (CTR) o la misma dieta suplementada con el prebiótico (5%) (SIM). Los animales de la dieta SIM recibieron también el probiótico vía oral (10<sup>9</sup> UFC/animal\*día) y los del CTR una solución de maltodextrina (placebo del probiótico). Tras una semana de adaptación, los lechones se inocularon oralmente con *Salmonella Typhimurium* (10<sup>8</sup> UFC), mientras que a los no infectados se les administró agua de peptona estéril (AP). Se registró el consumo de pienso, el peso de los animales y se evaluó la consistencia fecal y la temperatura rectal, además de muestrear heces. Los días 4 y 8 post-inoculación (PI), se eutanasió un animal de cada corral y se recogieron muestras de sangre, contenido digestivo y tejidos fijados en formol. Se realizaron recuentos de *Salmonella*, TNF-  $\alpha$  (proteína del grupo de las citoquinas liberadas por las células del sistema inmunitario que interviene en la inflamación, la apoptosis y otras patologías) y PigMAP (principal proteína de fase aguda en el cerdo, de acción antiinflamatoria) en suero e histomorfometría ileal.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inoculación produjo un cuadro clínico leve con un empeoramiento de la consistencia fecal ( $P<0,01$ ) y fiebre ( $P<0,01$ ) con un descenso en los parámetros productivos disminuyendo el consumo medio diario (CMD) ( $P=0,01$ ) y la ganancia media diaria (GMD) ( $P=0,02$ ).

No se observaron diferencias significativas en la GMD o CMD entre tratamientos CTR y SIM, aunque las ganancias de peso tras la inoculación fueron numéricamente más altas en los animales desafiados que recibieron SIM (85 y 109 g/d para CTR y SIM), mientras que en los que no recibieron el patógeno el comportamiento fue el contrario (250 y 166 g/d para CTR y SIM, respectivamente) ( $P$  interacción = 0,25).

En cuanto a su efecto sobre el patógeno el tratamiento simbiótico (SIM) redujo numéricamente los recuentos de *Salmonella* en heces a día 1 PI ( $P=0,14$ ) y en el contenido cecal a día 8 PI ( $P=0,15$ ) (Figura 1).



**Figura 1.** Niveles de excreción de *Salmonella* los días 1 y 3 (heces) y 4 y 8 (ciego) post-inoculación (PI) (% animales analizados). IC- Animales inoculados con *Salmonella* recibiendo placebo; IS- Animales inoculados con *Salmonella* recibiendo simbiótico. Niveles: Negativo (0-10 UFC/g), Positivo no cuantificable ( $10^3$ - $10^4$  UFC/g), Bajo ( $10^5$ - $10^6$  UFC/g), Medio ( $10^7$ - $10^8$  UFC/g).  $P$ -valores calculados con el test de Fisher ( $n=24$ ).

Histomorfológicamente (Tabla 1), el efecto de la enteritis generada por *Salmonella* se pudo apreciar a nivel ileal en una reducción de la altura de las vellosidades ( $P<0,01$  a día 4 PI) y en un aumento de la profundidad de criptas ( $P=0,01$  y  $P=0,04$  para los días 4 y 8 PI). Sin embargo, estos parámetros no respondieron a la estrategia simbiótica.

**Tabla 1.** Efectos de los tratamientos en los parámetros histomorfológicos en los días 4 y 8 post-inoculación

	Día	Tratamiento					P-valor		
		IC	IS	NIC	NIS	RSD	Inoculación	Simbiótico	Interacción
Longitud vellosidades ( $\mu\text{m}$ )	4	128,5	149,3	230,5	228,3	50,46	<0,001*	0,532	0,604
	8	215,4	202,8	227,8	270,0	44,70	0,061	0,716	0,150
Profundidad criptas ( $\mu\text{m}$ )	4	290,4	313,9	240,3	277,8	24,46	0,013*	0,076	0,665
	8	327,0	327,4	282,8	296,5	40,12	0,042*	0,769	0,705
LIE (Nº cel/ 100 $\mu\text{m}$ )	4	1,22	1,28	1,19	0,69	0,636	0,276	0,626	0,320
	8	1,01	1,41	1,14	1,53	0,443	0,510	0,039*	0,994
Mitosis (Nº cel/ 100 $\mu\text{m}$ )	4	0,90	0,93	0,60	0,85	0,136	0,171	0,598	0,310
	8	0,84	0,59	0,63	0,60	0,408	0,142	0,008*	0,094

IC- Animales inoculados con *Salmonella* recibiendo placebo; IS- Animales inoculados con *Salmonella* recibiendo simbiótico; NIC- Animales inoculados con AP estéril recibiendo placebo; NIS- Animales inoculados con AP estéril recibiendo simbiótico.

LIE= linfocitos intraepiteliales en vellosidades/100  $\mu\text{m}$ ; Mitosis= Mitosis en criptas/100  $\mu\text{m}$ .

El tratamiento SIM incrementó el número de linfocitos intraepiteliales (LIE) ( $P=0,03$ ) y redujo el índice de mitosis ( $P<0,01$ ) a día 8 PI con una tendencia a la interacción ( $P=0,09$ ) siendo la reducción más manifiesta en los lechones infectados con un valor muy parecido al de los animales no desafiados. El incremento en los LIE observados en ambos grupos podría deberse a una repuesta del epitelio a la adhesión de *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CETC7210 como se ha observado con otros probióticos (Rieger *et al.*, 2015). La reducción en el número de mitosis con el simbiótico sugiere que los animales recibiendo este tratamiento podrían haber sufrido un menor daño a nivel de las vellosidades intestinales, ya que estas se producen para regenerar las células del tejido dañado.

Los resultados sugieren que la combinación simbiótica de inulina y oligofruktosa con *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CETC7210 puede ayudar a estimular la respuesta inmunitaria del lechón y disminuir los daños en las vellosidades intestinales causados por *Salmonella* Typhimurium.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barba-Vidal, E. 2016. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona
- Glenn, R. *et al.* 1995. Gastroenterology 108:975-982
- Moreno, J.A. *et al.* 2011. Appl Environ Microbiol. 77(24):8775-83
- Rieger, J. *et al.* 2015. Vet Immunol Immunopathol. 164(1-2):40-50
- Rossi, M. 2005. Appl Environ Microbiol. 71(10):6150-8
- Official Journal of the European Union. L 268.
- Reglamento (CE) No 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo

**Agradecimientos:** Financiado por Laboratorios Ordesa S.L. El presente trabajo forma parte del proyecto "SMARTFOODS" (Programa CIEN) concedido por el CDTI.

#### EFFICACY OF A SYNBIOTIC COMPOUND OF *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* SUBSP. *INFANTIS* CETC7210 AND A INULIN AND FOS PREBIOTIC AGAINST *SALMONELLA* TYPHIMURIUM IN A WEANED PIGLET MODEL

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the efficacy of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* C7210 (Laboratorios Ordesa S.L.) administered jointly with inulin and oligofruktose against a *Salmonella* Typhimurium challenge in weanlings. A total of 72 4-week-old piglets ( $7.7\pm 1.60$  kg) were evenly distributed into 24 pens and 4 experimental groups in a 2x2 design: with and without synbiotic and orally challenged or not with *Salmonella*. Animal received a plain diet (CTR) or the same diet supplemented with the prebiotic (5%) plus a daily oral administration of the probiotic ( $10^9$  CFU) (SYN). After one week adaptation, 48 animals were orally challenged with *Salmonella* Typhimurium ( $10^8$  CFU) and rectal temperature and fecal consistency evaluated. Furthermore, feces were sampled for microbiological analysis. On days 4 and 8 post-inoculation (PI), one animal per pen was euthanized and samples from blood, colonic content and ileal tissues were taken. Results showed that animals receiving SYN reduced numerically ( $P\leq 0.15$ ) the excretion of *Salmonella* on days 1 and 8 PI. Histologically, these piglets had more intraepithelial lymphocytes ( $P<0.05$ ) and less mitotic cells ( $P<0.01$ ) at ileal mucosa, which indicates that this treatment could help to stimulate immune response and to decrease intestinal damage caused by *Salmonella*.

**Keywords:** synbiotic, *Salmonella*, inulin, *Bifidobacterium*.

## FORMULACIÓN DE PIENSOS PARA PORCINO DE CEBO: ¿PROGRAMACIÓN LINEAL O ESTOCÁSTICA?

Álvarez-Rodríguez<sup>1</sup>, J., Latorre<sup>2</sup> M.A. y Villalba<sup>1</sup>, D.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Lleida. jalvarez@prodan.udl.cat

<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

La energía, los aminoácidos y el fósforo son los componentes más caros de las dietas porcinas (Stein *et al.*, 2016). Las posibilidades de abaratar la fórmula se ven restringidas por la necesidad de limitar la inclusión de la mayoría de ingredientes, que contienen factores antinutricionales o presentan problemas tecnológicos durante el proceso de fabricación. En formulación de piensos con optimización por programación lineal no se considera la variabilidad en la composición química de los ingredientes, ya que se asume que el valor nutritivo de los ingredientes es fijo. Este trabajo tiene como objetivo analizar la alternativa de formulación de piensos de cerdos de cebo, con optimización estocástica, para tener en cuenta la incertidumbre en los nutrientes aportados.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se creó una base de datos de ingredientes (n=20) que incluía: cebada, maíz, trigo, gluten feed, salvado de trigo, pulpa de remolacha, cascarilla de soja, harina de pescado, harina de extracción de soja, soja integral, harina de extracción de colza, harina de extracción de girasol, grasa animal, aceite de soja, corrector vitamínico-mineral, carbonato cálcico, fosfato monocálcico, L-lisina 78%, DL-metionina 99% y L-treonina. Para tener en cuenta la variabilidad en su composición química, se utilizaron los datos de media y desviación estándar de los parámetros de valor nutritivo publicados por la Universidad de Illinois (Stein *et al.*, 2016 y [http://nutrition.ansci.illinois.edu/feed\\_database.html](http://nutrition.ansci.illinois.edu/feed_database.html)). Se asumió que la composición de la grasa animal, los aminoácidos sintéticos y el corrector vitamínico-mineral no variaba, ya que no se dispuso de desviaciones estándar de las medias.

Se consideraron las necesidades de nutrientes recomendadas por la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA, 2013) para cerdos en crecimiento-cebo (20-60 kg, 60-100 kg y >100 kg de peso vivo (PV)), y los límites máximos de incorporación de ingredientes se tomaron de las mismas Tablas (<http://www.fundacionfedna.org/ingredientes-para-piensos>). La dosis de corrector vitamínico-mineral fue del 0,4% y su coste 1200 €/Tm. Para la estimación del coste de los piensos, se han tomado precios orientativos medios de materias primas facilitados por asociaciones de fabricantes de piensos (Asociación Catalana de Fabricantes de Piensos, ASFAC) y empresas proveedoras de microingredientes (diciembre 2016), sin contabilizar los costes del transporte desde el proveedor hasta la fábrica de pienso.

Las fórmulas se resolvieron con métodos de optimización lineal (50% de probabilidad de acierto) y estocástica (60, 70 y 80%), considerando la minimización del coste del pienso como función objetivo, mediante el programa Winfeed® (Universidad de Cambridge, Reino Unido). Se restringieron los macro-ingredientes que formaban parte de la fórmula con menos de un 0,5%, por su dificultad de correcta dosificación, y se reformuló nuevamente.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cerdos de 20 a 60 kg PV (Tabla 1), la consideración de la variabilidad en la composición química de ingredientes supuso un incremento de la inclusión de cebada, harina de soja y haba de soja, mientras que acarrió una reducción marcada de la inclusión de trigo y harina de colza. El maíz, por su parte, mostró un comportamiento irregular, pero, en general, su nivel de inclusión ascendió al reducir el riesgo en la composición química de los ingredientes. En cerdos de >60 kg PV, el maíz representó siempre un 40% del total de la fórmula, independientemente del riesgo en su composición. En cerdos de 60 a 100 kg PV (Tabla 2), no se produjo una reducción lineal del nivel de inclusión de harina de colza, mientras la harina de girasol desapareció de la fórmula al reducir el riesgo de variabilidad en la composición química. En el caso de cerdos con >100 kg PV (Tabla 3), la solución por programación lineal incluyó el salvado de trigo, aunque éste desapareció de la fórmula en programación estocástica, en detrimento de los productos de la soja (harina de extracción y

haba de soja integral). El nivel de inclusión de harina de girasol, aceite de soja y minerales apenas se vio afectado por la variabilidad de la composición química de los ingredientes, aunque merece resaltar que la inclusión de fosfato monocálcico se incrementó para reducir el riesgo en los aportes de fósforo.

En todas las fases, la inclusión del riesgo en la composición química de ingredientes supuso un encarecimiento del pienso, que conllevó, paralelamente, un incremento del aporte de nutrientes (piensos más concentrados).

Para compensar una eventual variabilidad en el valor nutritivo de las materias primas, estos resultados corroboran que sería necesario aplicar cierto margen de seguridad en las necesidades nutricionales consideradas, así como incrementar los controles de calidad de ingredientes. Al principio del cebo (20-60 kg PV), las fórmulas estocásticas consideraron los productos de la soja y la cebada como reemplazo al trigo, al maíz, a la harina de colza y a la harina de girasol. Posteriormente (60-100 kg PV), la utilización de productos de la soja fue útil para considerar la variabilidad nutritiva, aunque al final del cebo (>100 kg PV) no fue necesario sustituir ni los cereales ni la harina de colza.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Stein, H.H. *et al.*, 2016. Anim Feed Sci Tech 218: 33-69.
- FEDNA, 2013. Normas para la formulación de piensos. Necesidades para ganado porcino.

### FEED FORMULATION IN GROWING-FINISHING PIGS: LINEAR OR STOCHASTIC PROGRAMMING?

**ABSTRACT:** This work analyzed the effects of applying a stochastic compared to linear programming when formulating diets for growing-finishing pigs. This approach increased the feed cost to overcome nutritive value uncertainty. Soybean co-products and canola meal mainly replaced wheat whereas maize and barley remained steady in the feed formulas.

**Keywords:** nutritive value, feeding, feed cost.

**Tabla 1.** Fórmulas de pienso para cerdos de 20-60 kg según requerimientos FEDNA (2013).

Ingredientes (%)	Estocástica <sup>1</sup>			Restricciones
	Lineal 50%	60%	70%	
Cebada 10,8% PB		13,8	24,1	
Maíz 8,1% PB	27,8	40	32,1	≤40
Trigo 14,0% PB	45	14,9	14,5	≤45
Harina de soja 48% PB	3	7,5	8	
Soja integral 37,4% PB	1,4	2,7	9	≤12
Harina de colza 00 37,3% PB	12	12	2,8	≤12
Harina de girasol 30% PB	6	5	5,2	≤6
Aceite de soja	1,97	1,42	1,16	≤2
CaCO <sub>3</sub>	1,49	1,4	1,43	
Fosfato monocálcico	0,44	0,47	0,71	
L-lisina 78%	0,43	0,30	0,33	
DL-metionina 99%		0,06	0,19	
L-treonina	0,07	0,05	0,08	
Corrector vitamínico-mineral	0,4	0,4	0,4	
<b>Nutrientes</b>				
EM (kcal/kg)	3231	3198	3218	≥3180
PB (%)	17,4	17,8	17,6	16,2-18
Extracto etéreo (%)	4,0	4,22	4,56	4-8
FND (%)	15,5	15,0	14,4	11-15,5
P total (%)	0,55	0,56	0,57	≥0,55
Lys total (%)	1,04	1,06	1,07	≥1,04
Met total (%)	0,33	0,40	0,51	≥0,32
Thr total (%)	0,68	0,76	0,71	≥0,68
Coste (€/Tm)	215,95	225,27	240,41	

<sup>1</sup>El programa no encontró solución para optimización estocástica con 80% de probabilidad de acierto.



**Tabla 2. Fórmulas para cerdos de 60-100 kg según requerimientos FEDNA (2013).**

Ingredientes	Lineal		Estocástica		Restricciones
	50%	60%	70%	80%	
Cebada 10,8% PB		17,5	20,3	21,2	
Maíz 8,1% PB	40	40	40	40	≤40
Trigo 14,0% PB	35,9	17,9	14,2	12,7	≤45
Soja 48% PB		4,8	3,8	5,4	
Soja integral 37,4% PB			4,8	6,7	≤12
Harina de colza 00 37,3% PB	11,8	12	12	9,5	≤12
Harina de girasol 30% PB	7,6	3,4	0,7		≤6
Aceite de soja	1,91	1,66	1,43	1,55	≤2
CaCO <sub>3</sub>	1,53	1,48	1,42	1,38	
Fosfato monocálcico	0,42	0,51	0,59	0,72	
L-lisina 78%	0,4	0,29	0,25	0,23	
DL-metionina 99%		0,03	0,08	0,19	
L-treonina	0,04	0,03	0,03	0,03	
Corrector vitamínico-mineral	0,4	0,4	0,4	0,4	
<b>Nutrientes</b>					
EM (kcal/kg)	3212	3195	3224	3264	≥3175
PB (%)	15,4	15,8	16,0	16,3	14,8-17
Extracto etéreo (%)	4	4,2	4,5	4,9	4-8
FND (%)	15,5	14,9	14,4	13,8	11-15,5
P total (%)	0,53	0,54	0,55	0,56	≥0,53
Lys total (%)	0,9	0,91	0,92	0,94	≥0,9
Met total (%)	0,29	0,33	0,36	0,48	≥0,28
Thr total (%)	0,58	0,59	0,61	0,62	≥0,58
Coste (€/Tm)	203,59	212,27	221,53	233,84	

**Tabla 3. Fórmulas para cerdos de >100 kg según requerimientos FEDNA (2013).**

Ingredientes	Lineal		Estocástica		Restricciones
	50%	60%	70%	80%	
Cebada 10,8% PB	25,7	32,9	27,4	25,5	
Maíz 8,1% PB	40	40	40	40	≤40
Trigo 14,0% PB	11,3	6,2	10,8	12,2	≤45
Salvado de trigo 23% almidón	6,2				≤12
Soja 48% PB			0,9	0,6	
Soja integral 37,4% PB				3,3	≤12
Harina de colza 00 37,3% PB	7,9	11,3	12	12	≤12
Harina de girasol 30% PB	4,5	4,8	3,5	1,1	≤6
Aceite de soja	2	2	2	2	≤2
Grasa animal	0,3	0,5	0,9	0,8	≤4
CaCO <sub>3</sub>	1,13	1,22	1,52	1,46	
Fosfato monocálcico	0,27	0,38	0,43	0,53	
L-lisina 78%	0,31	0,26	0,25	0,22	
DL-metionina 99%				0,01	
L-treonina	0,04	0,02	0,02	0,03	
Corrector vitamínico-mineral	0,4	0,4	0,4	0,4	
<b>Nutrientes</b>					
EM (kcal/kg)	3150	3168	3210	3260	≥3150
PB (%)	13,2	13,5	14,0	14,2	13,2-15,1
Extracto etéreo (%)	5	5,2	5,5	5,8	4-8
FND (%)	16,5	16,0	15,4	14,7	11-16,5
P total (%)	0,49	0,50	0,51	0,52	≥0,49
Lys total (%)	0,75	0,76	0,77	0,79	≥0,75
Met total (%)	0,27	0,27	0,27	0,27	≥0,24
Thr total (%)	0,50	0,51	0,53	0,54	≥0,50
Coste (€/Tm)	197,72	200,9	206,7	215,56	

## USO DE LA BETAÍNA Y EL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN LA FASE DE CRECIMIENTO-CEBO EN CERDO BLANCO

Fernández-Fígares<sup>1</sup>, I., Morales<sup>2</sup>, J., Nieto<sup>1</sup>, R., González-Valero<sup>1</sup>, L. y Lachica<sup>1</sup>, M.

<sup>1</sup> Departamento de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Camino del Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada. ifigares@eez.csic.es

<sup>2</sup> PigCHAMP Pro Europa S.L. C/Santa Catalina 10, 40003 Segovia.

### INTRODUCCIÓN

Tanto la betaína como el ácido linoleico conjugado (CLA) han sido utilizados como modificadores metabólicos naturales en ganado porcino por su capacidad de incrementar los índices productivos y modificar la composición corporal dando lugar a canales más magras. Los resultados no son siempre concluyentes, dependiendo de factores diversos como la raza, el momento de incorporación, las dosis empleadas, etc. Además, la mayoría de los trabajos han sido realizados con un número pequeño de animales y generalmente en condiciones de laboratorio. El objetivo de este trabajo fue estudiar los posibles beneficios de la adición de betaína y CLA, en distintas proporciones, al pienso de cerdos blancos en condiciones de granja desde el destete hasta los 100 kg.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron 288 lechones (ACMC × Pietrain) recién destetados, mitad hembras y mitad machos enteros ( $7,7 \pm 0,15$  kg de peso vivo (PV)). Desde los 28 a los 63 días de vida se distribuyeron en tres salas con 8 parques con capacidad para 12 lechones por parque. En cada sala, la mitad de los parques fueron de hembras y la otra mitad de machos. A los 63 días de vida, los animales se trasladaron a las salas de cebo, manteniendo la composición de los parques. La distribución de los tratamientos se realizó en función del sexo, la sala y el peso inicial, resultando un total de 6 réplicas por tratamiento (3 réplicas de machos y 3 de hembras por tratamiento; 72 animales en total por tratamiento).

Las raciones cubrían las recomendaciones del NRC (1998). Los animales fueron asignados al azar a uno de los tratamientos: control, CB1 (0,56% CLA + 0,50% betaína), CB2 (0,28% CLA + 0,50% betaína) y CB3 (0,28% CLA + 0,25% betaína). Todas las dietas fueron ofrecidas al 90% *ad libitum* y fueron isoproteicas e isoenergéticas (preáster (28-42 días): 19,6% de proteína bruta (PB) y 612 kJ de energía neta (EN)/kg; estáster (42-63 días): 19,0% PB y 595 kJ EN/kg; crecimiento (63-90 días): 18,0% PB y 583 kJ EN/kg; cebo (90-150 días): 16,34% PB y 571 kJ EN/kg). Los cerdos se sacrificaron al alcanzar los 100 kg PV.

Se pesaron de forma individual a los 63, 120 y 163 días de vida. Para cada una de estas fases, se calculó la ingestión de pienso por parque con el fin de obtener la ganancia media diaria de peso (GMD), el consumo medio diario de alimento (CMD) y el índice de conversión (IC). En cada pesada se midió la grasa dorsal por ultrasonidos (Renco Lean Meter Backfat Scanner, Renco Corporation). El análisis estadístico de los datos se realizó mediante ANOVA, incluyendo en el modelo el PV inicial como covariable, el sexo y la sala como efectos bloque, y el tratamiento (efecto fijo) como fuentes de variación para cada fase (crecimiento y cebo) y para cada período global (crecimiento, entre 63 y 90 días de vida, cebo, entre 90 y 163 días de vida y total). El parque (12 cerdos) fue la unidad experimental. *P*-valores < 0,05 se consideraron significativos, mientras que *P*-valores entre 0,05 y 0,10 fueron considerados tendencias.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados sobre rendimientos productivos y espesor de grasa dorsal se muestran en la Tabla 1. Se restringió ligeramente el alimento para obtener una ingesta homogénea de nutrientes y energía y para evitar posibles efectos de confusión con los parámetros de crecimiento y las características de la canal. Por tanto, el CMD fue prácticamente idéntico entre tratamientos, no poniéndose de manifiesto posibles diferencias en la ingestión voluntaria de alimento. Aunque algunos estudios han mostrado que la betaína o el CLA reducen la ingesta de alimento en cerdos (Dugan *et al.*, 1997; Matthews *et al.*, 2001) otros

muestran que tal efecto no es significativo (Ostrowska *et al.*, 1999). No se encontraron diferencias tanto al final de la fase de crecimiento como en la de cebo en GMD (0,705 y 0,758 kg/d, respectivamente) e IC (1,807 y 2,204 g ingeridos/g ganados, respectivamente). Sin embargo, al final del periodo experimental, a los 163 días de edad, el grupo CB1 presentó numéricamente un mayor PV.

Varios autores han mostrado que el CLA mejoraba ligeramente el IC (Thiel-Cooper *et al.*, 2001) aunque no en todos los casos (Mitchell *et al.*, 2005); en el caso de la betaína, el IC no suele verse afectado (Matthews *et al.*, 1998; Overland *et al.*, 1999; Fernández-Fígares *et al.*, 2002) aunque los resultados no son consistentes (Siljander-Rasi *et al.*, 2003). La mayoría de los estudios en cerdos no han podido mostrar un efecto positivo de la betaína en la dieta, ya sea administrada *ad libitum* o no (Matthews *et al.*, 1998; Overland *et al.*, 1999; Fernández-Fígares *et al.*, 2002), sobre la GMD con la excepción de Siljander-Rasi *et al.* (2003) que suplementaron 0,125% de betaína en cerdos de engorde con alimentación restringida. Análogamente, Thiel-Cooper *et al.* (2001) mostraron una mejora de la GMD en cerdos alimentados con dietas suplementadas con CLA. Sin embargo, el uso simultáneo de betaína y CLA incrementó la GMD en cerdos Ibéricos de 30-50 kg PV (Fernández-Fígares *et al.*, 2008), pero se trata de una raza de crecimiento lento.

El espesor de grasa dorsal no cambió entre tratamientos a lo largo del periodo experimental en nuestro estudio. Sin embargo, la betaína en cerdos de 30-50 kg con alimentación restringida disminuyó la grasa en la canal (Fernández-Fígares *et al.*, 2002) aunque el efecto no fue detectable en cerdos Ibéricos ligeramente restringidos (Fernández-Fígares *et al.*, 2008). No es de extrañar que en el estudio actual en que se ha usado una raza de cerdos muy magra y de crecimiento rápido, sea difícil encontrar una disminución en el espesor de la grasa dorsal. Es posible que el estudio de la composición química de la canal arrojará datos más precisos en este sentido.

En conclusión, el uso conjunto de betaína y CLA como promotores del crecimiento en cerdos de crecimiento rápido produce un incremento en la GMD durante el periodo de transición, sin efectos notorios en el espesor de la grasa dorsal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Schaefer, A.L. y Kramer, J.K.G. 1997. *Can. J. Anim. Sci.* 77: 723-725.
- Fernández-Fígares, I., Wray-Cahen, D., Steele, N.C., Campbell, R.G., Hall, D.D., Virtanen, E. y Caperna, T.J. 2002. *J. Anim. Sci.* 80: 421-428.
- Fernández-Fígares, I., Conde-Aguilera, J.A. Nieto, R., Lachica, M. y Aguilera, J.F. 2008. *J. Anim. Sci.* 86: 102-111.
- Matthews, J.O., Southern, L.L., Higbie, A.D., Persica M.A. y Bidner, T.D. 2001. *J. Anim. Sci.* 79: 722-728.
- Matthews, J.O., Southern, L.L., Pontif, J.E., Higbie, A.D. y Bidner, T.D. 1998. *J. Anim. Sci.* 76: 2444-2455.
- Mitchell, A.D., Pursel, V.G., Elsasser, T.H., McMurtry, J.P. y Bee, G. 2005. *Anim. Res.* 54: 395-411.
- NRC. 1998. 10th ed. *Natl. Acad. Press*, Washington, DC.
- Ostrowska, E., Muralitharan, M., Cross, R.F., Baumann, D.E. y Dunshea, F.R. 1999. *J. Nutr.* 129: 2037-2042.
- Overland, M., Rorvik, K.A. y Skrede, A. 1999. *J. Anim. Sci.* 77: 2143-2153.
- Siljander-Rasi, H., Peuranen, S., Tiihonen, K., Virtanen, E., Kettunen, H., Alaviuhkola, T. y Simmins, P.H. 2003. *Anim. Sci.* 76: 55-62.
- Thiel-Cooper, R.L., Parrish, J.R.F.C., Sparks, J.C., Wiegand, B.R. y Ewan, R.C. 2001. *J. Anim. Sci.* 79: 1821-1828.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado en parte con fondos FEDER y el Ministerio de Economía y Competitividad dentro del marco del proyecto RECUPERA2020, hito 3.3.1.

**Tabla 1.** Ganancia media diaria (GMD), consumo medio diario (CMD), índice de conversión (IC), peso vivo (PV) final y espesor de grasa dorsal en las distintas fases de crecimiento de cerdos alimentados con dietas isoproteicas e isoenergéticas suplementadas o no con betaina y ácido linoleico conjugado: control, CB1 (0,56% CLA + 0,50% betaina), CB2 (0,28% CLA + 0,50% betaina) y CB3 (0,28% CLA + 0,25% betaina)<sup>1</sup>

	Tratamientos				EEM <sup>2</sup>	P-valor
	Control	CB1	CB2	CB3		
Crecimiento, 63-90 d						
GMD (kg/d)	0,706	0,702	0,704	0,707	0,011	0,99
CMD (kg/d)	1,269	1,273	1,269	1,278	0,038	0,99
IC (g/g)	1,805	1,812	1,807	1,806	0,052	0,99
PV final (kg)	57,1	59,8	58,0	58,1	0,97	0,23
Cebo, 90-163 d						
GMD (kg/d)	0,783	0,747	0,750	0,752	0,013	0,14
CMD (kg/d)	1,739	1,665	1,633	1,645	0,045	0,36
IC (g/g)	2,225	2,226	2,175	2,190	0,050	0,86
PV final (kg)	91,5	92,7	91,0	91,2	1,22	0,75
Total, 28-163 d						
GMD (kg/d)	0,621	0,630	0,617	0,618	0,009	0,75
CMD (kg/d)	1,199	1,206	1,173	1,187	0,035	0,91
IC (g/g)	1,936	1,914	1,903	1,914	0,044	0,96
Grasa dorsal (mm)						
28 d	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas	-	-
42 d	4,01	4,08	4,04	4,14	0,033	0,59
63 d	4,09	4,26	4,18	4,30	0,062	0,77
90 d	4,65	4,91	4,74	4,82	0,110	0,10
120 d	6,27	6,21	6,13	6,38	0,097	0,14
150 d	7,57	7,76	7,49	7,41	0,137	0,50
163 d	8,80	8,90	8,76	8,79	0,127	0,28

<sup>1</sup>n=6, excepto para grasa dorsal n=72. <sup>2</sup>Error estándar de la media.

## USE OF BETAININE AND CONJUGATED LINOLEIC ACIDS IN GROWING FINISHING PIGS

**ABSTRACT:** An experiment was conducted to determine the efficacy of dietary betaine and CLA as growth promoters and carcass modifiers in fast growing pigs from wean to finish. 288 weaned barrows and gilts (AMC x Pietrain), 8 kg BW, were grouped in pens of 12 pigs and randomly assigned to one of four treatments: control, CB1 (0.50% betaine + 0.56% CLA), CB2 (0.50% betaine + 0.28% CLA) or CB3 (0.25% betaine + 0.28% CLA). Diets were isonitrogenous and isoenergetic and pigs were restrictively fed until slaughter at 100 kg BW. Pigs fed diets supplemented with 0.5% betaine and 0.56% CLA had numerically greater final BW (163 d) compared to control pigs. No differences ( $P>0.05$ ) in average daily gain or gain:feed were found at the end of growing and finishing phases between treatments. In terms of body composition, no differences ( $P>0.05$ ) existed in back fat throughout the experimental period. In conclusion, supplementation with betaine and CLA did not show any benefits on growth performance in finishing pigs.

**Keywords:** pigs, betaine, conjugated linoleic acid, growth.

## EFFECTOS DE LA DEFICIENCIA DE LISINA EN LA DIETA SOBRE LA COMPOSICIÓN CORPORAL EN CERDOS IBÉRICOS Y LANDRACE X LARGE WHITE

Palma-Granados, P., Hidalgo-Checa, N., Lara, L., Haro, A., Aguilera, J.F. y Nieto, R.  
Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal. Estación Experimental del Zaidín (CSIC). Cno. del Jueves s/n. 18100-Armilla, Granada. rosa.nieto@eez.csic.es

### INTRODUCCIÓN

La alimentación con dietas deficientes en lisina ha demostrado ser una estrategia nutricional eficaz para incrementar la cantidad de grasa intramuscular -a la que se relaciona con una mejora de las características organolépticas de la carne- en cerdos de genotipo convencional (Katsumata, 2011). Recientemente, hemos observado que este fenómeno también tiene lugar en razas de tendencia grasa, como la Ibérica (Palma-Granados *et al.*, 2016). Por otra parte, la restricción de lisina en la dieta puede dar lugar a una reducción en la tasa de crecimiento y en la retención de proteína corporal (Rivera-Ferre *et al.*, 2006), y un aumento de grasa dorsal (Szabo *et al.*, 2001), menos deseable, por lo que es importante conocer la intensidad y el momento en el que aplicar esta intervención nutricional para obtener los efectos deseados. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto que la deficiencia de lisina en la dieta ejerce en la composición y componentes de la canal de cerdos de genotipo Ibérico y Landrace x Large White, de edad y peso similar, sometidos a idénticas condiciones experimentales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Veintiocho cerdos (14 Ibéricos puros, IB, y 14 Landrace x Large-White, LDW) de  $10,3 \pm 0,3$  kg de peso vivo (PV) fueron asignados al azar a una de dos dietas experimentales en un diseño factorial  $2 \times 2$  (2 razas x 2 dietas, 7 cerdos por combinación de tratamientos). Las dietas fueron isonitrogenadas e isoenergéticas, conteniendo 200 g de proteína bruta (PB)/kg de materia seca (MS) y 14,7 MJ de energía metabolizable/kg MS. La dieta adecuada en lisina (AL) contenía cantidades adecuadas de aminoácidos y el resto de nutrientes (1,09 % Lys; NRC, 1998), y la dieta deficiente en lisina (DL) fue de composición idéntica excepto para el contenido en lisina (0,52 % Lys). Los cerdos fueron alojados en parques individuales de 2 m<sup>2</sup> en condiciones de termoneutralidad. Los animales fueron alimentados al 85% de la ingesta *ad libitum* del genotipo Ibérico, con mayor capacidad de ingesta voluntaria. La ingesta diaria fue calculada semanalmente en función del peso vivo individual. A los 25 kg de PV, los cerdos fueron sacrificados por exsanguinación previa electronarcosis. Tras el sacrificio, se pesaron el tracto gastrointestinal vacío y el resto de vísceras. La mitad izquierda de la canal fue procesada para obtener los componentes de la misma. La canal derecha se mantuvo a -20°C hasta su análisis en MS, proteína, grasa, energía y cenizas (Conde-Aguilera *et al.* 2011). El perfil de ácidos grasos de la canal fue obtenido por cromatografía de gases. Los ácidos grasos (AG) fueron expresados como porcentaje del total de AG metilados identificados. Los resultados se analizaron mediante ANOVA por el procedimiento GLM de SAS.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El crecimiento se redujo en los cerdos alimentados con la dieta DL particularmente en el genotipo LDW (390 vs 265 y 430 vs 209 g/d, para los genotipos IB y LDW, respectivamente,  $P < 0,05$ ). El tamaño relativo de la canal eviscerada disminuyó, y aumentó el de los tejidos viscerales, en los cerdos Ibéricos alimentados con la dieta DL (interacción genotipo x dieta,  $P < 0,01$ ; Tabla 1). No hubo diferencias significativas en estos parámetros debidas al genotipo cuando los animales fueron alimentados con la dieta AL. El aumento de las vísceras en los cerdos Ibéricos alimentados con la dieta DL está relacionado con un incremento en las proporciones de hígado, grasa mesentérica e intestino grueso. Las proporciones de hígado y grasa mesentérica también aumentaron en los cerdos LDW alimentados con la dieta DL ( $P < 0,01$ ), mientras que el intestino grueso disminuyó (interacción genotipo x dieta,  $P < 0,05$ ), lo que redujo la proporción del tracto digestivo en estos animales. El aumento del tamaño

del hígado producido por la restricción en lisina está probablemente relacionado con un aumento en la síntesis de urea (Palma-Granados *et al.*, 2016).

El genotipo Ibérico presenta menor deposición proteica y mayor deposición de grasa corporal, lo que se refleja en la menor proporción de piezas magras (lomo, solomillo, jamón, paleta,  $P < 0,05$ ) y mayores depósitos grasos (grasa mesentérica, interna y dorsal,  $P < 0,01$ ), no apreciándose diferencias en los componentes óseos (costillas, espinazo) (Tabla 2). La alimentación con la dieta DL provoca en ambos genotipos una reducción de los componentes magros, y un aumento en los de carácter graso (en el caso de la grasa dorsal aumenta un 53 y 40%, respectivamente en los cerdos IB y LDW;  $P < 0,05$ ). En las piezas constituidas principalmente por tejido óseo (costillas y espinazo) la deficiencia en lisina produjo un aumento de su tamaño relativo en ambos genotipos ( $P < 0,01$ ). Respecto a la composición química de la canal, la concentración en proteína se redujo en los animales alimentados con la dieta DL, particularmente en los Ibéricos (interacción genotipo x dieta,  $P < 0,01$ ). La concentración de agua fue menor en los cerdos ibéricos y disminuyó con la dieta DL ( $P < 0,001$ ). La concentración de grasa y la energía bruta fue mayor en la raza Ibérica y en los animales alimentados con la dieta DL ( $P < 0,001$ ). En cuanto a la composición de la grasa de la canal (Tabla 3), no se encontraron diferencias significativas para el ácido oleico ni en la cantidad total de AG monoinsaturados y saturados debidas al genotipo o a la dieta, pero si menor porcentaje de ácido linoleico, linoléico y total de AG poliinsaturados en ambas razas alimentadas con la dieta DL.

En animales jóvenes, la deficiencia en lisina provoca cambios relevantes en las proporciones relativas de los componentes corporales. En general, se produce una reducción del tamaño de las piezas magras, a la vez que aumentan los depósitos grasos y los componentes óseos. Las vísceras registran pocos cambios, quizás como un mecanismo para mantener la correcta actividad de estos tejidos. El empleo de esta estrategia nutricional para aumentar la cantidad de grasa intramuscular ha de modularse en la intensidad y el tiempo de aplicación en distintos genotipos porcinos para que no se vea comprometido el crecimiento en tejido magro y la productividad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Conde-Aguilera *et al.*, 2011. Ani Feed Sci Tech 164: 116-124.
- Katsumata, M. 2011. Anim Sci J. 82, 17-25.
- NRC. 1998. Nutrient requirements of swine. Natl. Acad. Press
- Palma-Granados *et al.*, 2016. EAAP publication no.137: 153-154.
- Rivera-Ferre *et al.*, 2006. J. Anim Sci 84: 3346-3355.
- Szabo *et al.*, 2001. J. Anim Sci 79: 2857-2865.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el MICINN (Ref. AGL2011-25360)

**Tabla 1.** Efectos del genotipo y del contenido en lisina en la dieta sobre los componentes de la canal en cerdos de 25 kg PV.

	IB		LDW		EEM	Valor de P <sup>1</sup>		
	AL	DL	AL	DL		Gen	D	Gen x D
PV final, kg	26,6	24,2	26,2	22,1	0,8	NS	***	NS
PV vacío, kg	24,4	22,2	24,1	20,4	0,7	NS	***	NS
Componentes corporales, g/kg PV vacío								
Canal eviscerada	790 <sup>a</sup>	779 <sup>b</sup>	791 <sup>a</sup>	795 <sup>a</sup>	3	**	NS	**
Vísceras totales	155 <sup>b</sup>	166 <sup>a</sup>	154 <sup>b</sup>	150 <sup>b</sup>	3	**	NS	**
Tracto digestivo	66,2 <sup>a</sup>	68,8 <sup>a</sup>	66,0 <sup>a</sup>	62,1 <sup>b</sup>	1,7	0,091	NS	*
Estómago	11,6	10,9	9,24	8,99	0,28	***	NS	NS
Intestino delgado	32,8	35,5	37,5	36,1	1,1	*	NS	0,081
Intestino grueso	21,8 <sup>a</sup>	22,4 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	17,0 <sup>b</sup>	0,8	***	NS	*
Riñón	6,05	5,80	5,13	4,81	0,23	***	NS	NS
Hígado	30,4	37,3	30,2	33,8	1,3	NS	***	NS
Grasa mesentérica	14,9	17,3	11,7	12,9	0,5	***	**	NS
Corazón	5,41	4,94	5,81	5,33	0,24	NS	0,061	NS

<sup>1</sup>AL: Dieta adecuada en lisina; DL: dieta deficiente en lisina; Gen: Genotipo, D: Dieta; NS:  $P > 0,05$ ; \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$ .

<sup>a-c</sup>Dentro de una fila, los valores medios con superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 2.** Efectos del genotipo y del contenido en lisina en la dieta sobre las piezas cárnicas y la composición química de la canal en cerdos de 25 kg PV.

g/kg canal	IB		LDW		EEM	Valor de P <sup>1</sup>		
	AL	DL	AL	DL		Gen	D	Gen x D
Lomo	47,4	40,8	62,7	48,0	2,2	***	***	0,078
Solomillo	8,89	7,38	10,87	9,07	0,53	**	**	NS
Cabezada	31,2	34,6	34,4	44,2	3,2	0,055	*	NS
Jamón	322	278	341	317	6	***	***	0,098
Paleta	269	256	260	245	4	*	**	NS
Costillas	94	112	101	116	5	NS	**	NS
Espinazo	65,8	78,2	60,6	91,4	4,9	NS	***	0,075
Panceta	114,9	117,1	92,3	81,9	5,7	***	NS	NS
Grasa interna	13,3	19,3	6,51	12,5	1,23	***	***	NS
Grasa dorsal	26,7 <sup>b</sup>	40,9 <sup>c</sup>	18,6 <sup>a</sup>	26,2 <sup>b</sup>	1,6	***	***	*
Composición química de la canal								
Proteína, g/kg	152 <sup>a</sup>	126 <sup>c</sup>	150 <sup>a</sup>	132 <sup>b</sup>	1	NS	***	**
Agua, g/kg	607	551	687	620	5	***	***	NS
Grasa, g/kg	210	293	134	216	6	***	***	NS
Cenizas, g/kg	31,4 <sup>ab</sup>	30,1 <sup>ab</sup>	29,3 <sup>b</sup>	32,2 <sup>a</sup>	0,8	NS	NS	*
Energía Bruta, MJ/kg	11,6	14,3	8,75	11,3	0,25	***	***	NS

<sup>1</sup>AL: Dieta adecuada en lisina; DL: dieta deficiente en lisina; Gen: Genotipo, D: Dieta; NS: P>0,05; \* P<0,05, \*\* P<0,01, \*\*\* P<0,001.

<sup>a-c</sup>Dentro de una fila, los valores medios con superíndices son significativamente diferentes (P < 0,05).

**Tabla 3.** Efectos del genotipo y del contenido de lisina en la dieta sobre el perfil de ácidos grasos (g /100g esteres metílicos de AG) de la canal de cerdos de 25 kg PV.

	IB		LDW		EEM	Valor de P <sup>1</sup>		
	AL	DL	AL	DL		Gen	D	Gen x D
C16:0	25,5	26,3	24,0	24,1	0,8	*	NS	NS
C18:0	11,0	11,3	10,5	12,4	0,5	NS	*	0,095
C18:1 n-9	40,2	41,0	39,2	40,8	0,8	NS	NS	NS
C18:2 n-6	9,31	8,45	12,2	10,4	0,26	***	***	0,082
C18:3 n-3	0,365	0,343	0,473	0,421	0,017	***	*	NS
Total AGS <sup>2</sup>	38,5	39,7	36,6	38,3	1,1	NS	NS	NS
Total AGMI <sup>3</sup>	48,9	49,6	47,9	48,1	1,8	NS	NS	NS
Total AGPI <sup>4</sup>	11,0	10,3	14,9	12,9	0,3	***	***	0,093

<sup>1</sup>AL: Dieta adecuada en lisina; DL: dieta deficiente en lisina; Gen: Genotipo, D: Dieta; NS: P>0,05; \* P<0,05, \*\* P<0,01, \*\*\* P<0,001. <sup>2</sup> Ácidos grasos saturados. <sup>3</sup> Ácidos grasos monoinsaturados. <sup>4</sup> Ácidos grasos poliinsaturados

### EFFECTS OF LYSINE DEFICIENCY ON CARCASS COMPOSITION OF IBERIAN AND LANDRACE X LARGE WHITE PIGS

**ABSTRACT:** The aim of this work was to assess the effect of dietary Lys deficiency on carcass composition of IB and LDW pigs. We used 28 castrated male pigs of 10 kg of initial BW, 14 from each breed, randomly assigned to 2 experimental diets in a factorial arrangement (2 breed x 2 diets). Diets were isoenergetic and with identical composition (200 g CP/kg DM, 14.7 MJ ME/kg DM) except for their Lys content (1.09 % Lys, diet *al* and 0.52 % Lys, diet *DL*). The pigs were slaughtered at 25 kg BW. Components of carcass were weighted and recorded. Pigs fed *DL* diets showed higher weight on fat depots and lower on lean tissues, meanwhile relative weight of bone components increased. Further research is needed to investigate the schedule of application of this nutritional strategy in different pig genotypes to obtain a positive influence on meat quality without compromising lean growth and productivity.

**Keywords:** lysine deficiency, Iberian pigs, carcass composition.

## **PULPA DE ACEITUNA EN ALIMENTACIÓN DE PORCINO: VALOR NUTRICIONAL Y RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS**

Ferrer<sup>1</sup>, P., De Blas<sup>2</sup>, C., García-Rebollar<sup>2</sup>, P., Calvet<sup>1</sup>, S., Rodríguez<sup>2</sup>, C., Piquer<sup>3</sup>, O., Coma<sup>4</sup>, J., Bonet<sup>4</sup>, J. y Cerisuelo<sup>5</sup>, A.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. pabferri@upv.es

<sup>2</sup>Departamento de Producción Agraria, Universidad Politécnica de Madrid, E.T.S. Ingenieros Agrónomos de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.

<sup>3</sup>Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad CEU-Cardenal-Herrera, Facultad de Veterinaria, Calle Tirant lo Blanc 7, 46115 Alfara del Patriarca, Valencia.

<sup>4</sup>Grupo Vall Companys, Polígono Industrial El Segre, Parc. 410, 25191 Lleida.

<sup>5</sup>Centro de Investigación y Tecnología Animal. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Pol. La Esperanza 100, 12400 Segorbe, Castellón.

### **INTRODUCCIÓN**

El aprovechamiento de subproductos de origen agroindustrial en alimentación animal puede suponer una ventaja económica y medioambiental para el sector, incrementando su rentabilidad y sostenibilidad. Entre los subproductos agroindustriales más importantes en España se encuentran los subproductos mediterráneos como la pulpa de aceituna. Su disponibilidad es elevada durante prácticamente todo el año y ofrece la posibilidad de deshidratarlo, lo que incrementa su interés en porcino. Sin embargo, la falta de caracterización de los procesos industriales que los originan y su elevada variabilidad hacen que la información existente en relación a su valor nutricional y valor de sustitución con respecto a otras materias primas sea escasa. Posee una elevada cantidad de fibra y una proporción de grasa variable dependiendo del proceso de obtención. Recientemente se ha propuesto clasificar las diferentes pulpas de aceituna según su contenido en grasa en pulpa de aceituna tamizada (16,6% extracto etéreo, EE), integral (12,8% EE) y parcialmente desengrasada (7,3%) (FEDNA, 2016). Sin embargo el valor nutricional de estos subproductos por separado no han sido testado *in vivo*, lo que puede complicar su uso de manera óptima y reducir los beneficios esperados.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el valor nutricional de la pulpa de aceituna tamizada y parcialmente desengrasada en porcino y las consecuencias productivas de la inclusión de pulpa parcialmente desengrasada en piensos comerciales. Este estudio forma parte del proyecto AGL2014-56653-C3-2-R en el que se estudia, además, el impacto ambiental del uso de pulpa de aceituna y otros subproductos en alimentación de porcino.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El trabajo consta de dos experimentos. El primer experimento (Exp. 1) se diseñó para estudiar el valor nutricional de la pulpa de aceituna tamizada y parcialmente desengrasada y el segundo (Exp. 2) para estudiar las consecuencias productivas de la inclusión de niveles crecientes de pulpa parcialmente desengrasada en los piensos. En el Exp. 1 se utilizaron un total de 30 animales Pi x (LDxLW) de 76,1±4,2 kg de peso vivo (PV) que se dividieron en 5 tratamientos. Los tratamientos consistieron en un pienso basal formulado con cereales y soja (T1) y 4 piensos más con dos niveles de inclusión de pulpa de aceituna tamizada (10%, T2 y 20%, T3) y pulpa de aceituna parcialmente desengrasada (10%, T4 y 20%, T5). La pulpa de aceituna se incluyó en los piensos mediante sustitución completa de la ración basal, permitiendo calcular el valor nutricional por diferencia o por regresión. El periodo experimental consistió en un periodo de adaptación de 14 días. Durante los primeros 9 días los animales se alojaron en corrales convencionales y los últimos 5 días se alojaron en corrales de digestibilidad. Tras el periodo de adaptación se recogió el total de orina y heces producidas de cada animal durante 4 días. Al final del periodo de recogida se realizó un pool de las heces y la orina, por separado, de cada animal y se tomó una muestra representativa para su posterior análisis. Igualmente, se tomaron muestras de los subproductos y de los piensos empleados y se analizaron para la determinación de su composición química.



En el Exp. 2 se utilizaron un total de 160 cerdos Du x (LDxLW) de 25,1±3,62 kg PV y se distribuyeron en 32 corrales a razón de 5 animales/corral. Los animales se alimentaron con un pienso comercial hasta los 60 kg PV. A partir de ese momento, los corrales se dividieron en 4 tratamientos (8 corrales/tratamiento) con niveles de 0 (T1), 6 (T2), 12 (T3) y 18 (T4)% de pulpa de aceituna parcialmente desengrasada. Los animales se pesaron cada 15 días durante todo el ciclo, controlando al mismo tiempo el consumo de pienso. El Exp. 2 tuvo una duración de 92 días. Durante todo momento los animales dispusieron de pienso y agua *ad libitum*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los coeficientes de digestibilidad de los distintos nutrientes obtenidos en el Exp. 1 con las distintas dietas ensayadas. La inclusión de los diferentes subproductos de la pulpa de aceituna en la dieta supuso una disminución significativa de los coeficientes de digestibilidad de la materia orgánica, proteína bruta (PB) y la energía. También en el trabajo de Joven *et al.* (2014) se observó una penalización de la digestibilidad de estas fracciones con la inclusión de niveles crecientes de pulpa de aceituna. Sin embargo, el coeficiente de digestibilidad del EE fue significativamente superior en las dietas suplementadas con pulpa tamizada y pulpa parcialmente desengrasada que en la dieta basal.

Con estos coeficientes de digestibilidad se calculó por regresión el valor nutricional de las dos pulpas de aceituna ensayadas. El valor de energía digestible (ED) de la pulpa de aceituna tamizada fue 1,3 veces mayor que el de la pulpa parcialmente desengrasada, con valores de 2.625 y 1.981 kcal ED/kg de materia seca (MS), respectivamente. Estos valores son superiores a los estimados en las tablas FEDNA 2010-2016 para estos dos mismos subproductos (2087 y 1207 kcal ED/kg MS, respectivamente). También resultan superiores a los sugeridos en Feedipedia para un subproducto con un 12,4% de EE (1507 kcal ED/kg MS). Hay que señalar que las dos pulpas tenían un contenido en azúcares relativamente alto (97 y 100 g/kg de materia fresca, respectivamente), lo que explicaría las diferencias obtenidas en ED respecto a otras fuentes. En cuanto a la proteína, se obtuvieron coeficientes de digestibilidad superiores con la pulpa tamizada con respecto a la pulpa parcialmente desengrasada. Dichos coeficientes fueron de 0,37 en la pulpa tamizada y 0,23 para la pulpa parcialmente desengrasada.

En el Exp. 2, los resultados preliminares, muestran valores muy similares de los distintos parámetros analizados, con pesos medios finales en torno a 118 kg y consumos medios diarios que varían entre 2,85 kg para el T4 y 2,93 kg en T3. La ganancia media diaria obtenida durante el periodo de administración del pienso experimental también fue muy similar para los distintos tratamientos ensayados con valores entre 1,03 y 1,06 kg/animal y día. En la Tabla 2 se muestran, a modo de resumen, los resultados obtenidos en el ensayo productivo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FEDNA. 2010-16. Ed.: C. de Blas *et al.* Madrid.
- Feedipedia. 2016. Base de datos. <http://www.feedipedia.org>. Consultado 10/02/2017.
- Joven M., Pintos, E., Latorre, M.A., Suárez-Belloch, J., Guada, J.A., Fondevila, M. 2014. Anim. Feed Sci. Technol. 197: 185–193.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte del proyecto AGL2014-56653-C3-2-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad. Los autores desean agradecer el apoyo prestado por Fernando Bacha Baz y la empresa Nacooop.

**Tabla 1.** Efecto del tipo y nivel de inclusión de la pulpa de aceituna sobre los coeficientes de digestibilidad aparente de las dietas experimentales del Exp. 1.

	Dietas <sup>a</sup>					EEM <sup>b</sup>	Significación <sup>c</sup>		
	T1	T2	T3	T4	T5		1	2	3
Materia seca	0,875	0,826	0,808	0,831	0,781	0,0081	<0,001	0,17	0,054
Cenizas	0,569	0,522	0,586	0,527	0,458	0,040	0,33	0,13	0,10
Proteína bruta	0,854	0,786	0,758	0,802	0,718	0,012	<0,001	0,33	0,024
Extracto etéreo	0,391	0,619	0,723	0,641	0,669	0,021	<0,001	0,44	0,075
aFNDom	0,518	0,496	0,482	0,477	0,418	0,034	0,12	0,39	0,37
Hemicelulosas <sup>d</sup>	0,538	0,490	0,489	0,497	0,430	0,047	0,18	0,60	0,51
Celulosa <sup>e</sup>	0,567	0,504	0,512	0,486	0,395	0,035	0,013	0,076	0,19
Almidón	0,986	0,980	0,973	0,980	0,974	0,0034	0,013	0,85	0,92
Energía bruta	0,877	0,821	0,797	0,825	0,767	0,0087	<0,001	0,14	0,054

<sup>a</sup> T1 = dieta basal; T2 = 100g/kg pulpa tamizada; T3 = 200g/kg pulpa tamizada; T4 = 100g/kg pulpa parcialmente desengrasada; T5 = 200g/kg pulpa parcialmente desengrasada.

<sup>b</sup> Error estándar de la media (n = 7).

<sup>c</sup> Contrastes: 1 = efecto lineal del nivel de inclusión de pulpa de aceituna, 2 = tipo de pulpa de aceituna, 3 = interacción tipo \* nivel de pulpa de aceituna.

<sup>d</sup> Calculado como la diferencia entre FAD y FND.

<sup>e</sup> Calculado como la diferencia entre FAD y LAD.

**Tabla 2.** Valores medios de peso inicial y final, consumo medio diario (CMD), ganancia media diaria (GMD) e índice de conversión (IC) obtenidos en el Exp. 2.

	Dietas <sup>a</sup>				EEM <sup>b</sup>	Significación
	T1	T2	T3	T4		
Peso inicial	59,0±6,57	60,2±7,27	60,4±7,29	60,5±6,99	2,32	0,999
Peso final	118,7±10,55	118,1±10,45	117,2±10,69	117,3±11,18	2,55	0,974
CMD	2,88±0,129	2,89±0,190	2,93±0,156	2,85±0,234	0,064	0,857
GMD	1,06±0,039	1,04±0,062	1,03±0,045	1,03±0,072	0,020	0,777
IC	2,73±0,079	2,78±0,201	2,85±0,144	2,76±0,168	0,055	0,484

<sup>a</sup> T1 = 0% inclusión pulpa parcialmente desengrasada; T2 = 6% inclusión pulpa parcialmente desengrasada; T3 = 12% inclusión pulpa parcialmente desengrasada; T4 = 18% inclusión pulpa parcialmente desengrasada.

<sup>b</sup> Error estándar de la media (n = 8).

## OLIVE PULP IN SWINE FEEDING: NUTRITIONAL VALUE AND GROWTH PERFORMANCE

**ABSTRACT:** The nutritional value (digestible energy and protein) of olive pulp without stones (OP) and olive pulp without stones and partially defatted (OPPD) was calculated using 30 pigs of 76.1 ± 4.2 kg BW and 5 different diets (basal diet, BD; BD + 10% OP; BD + 20% OP; BD + 10% OPPD; BD + 20% OPPD; Exp. 1) by regression. A second experiment (Exp. 2) was performed using the nutritional value determined for OPPD in order to study growth performance with 160 fattening pigs. The OPPD was included in fattening pig diets at 0, 6, 12 and 18% from 60 kg BW until the end of the growing period. The inclusion of OP and OPPD decreased the digestibility of organic matter, energy and crude protein. The digestible energy for OP and OPPD were 2.625 and 1.981 kcal/kg DM. The digestibility coefficient of the protein in OP and OPPD were 0.37 and 0.23, respectively. The preliminary results of the growth performance study showed no differences in average daily gain, average daily feed intake and feed conversion ratio. Thus, both OP and OPPD can be considered as potential ingredients in pigs feeding.

**Keywords:** pigs, olive cake, nutritional value, growth performance.

## INFLUENCIA DEL APORTE DE FÓSFORO EN LA DIETA DE CERDOS HEMBRA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA TIBIA Y EL FÉMUR EVALUADAS MEDIANTE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA

Sousa<sup>1</sup>, R., Brun<sup>1</sup>, A., Lizardo<sup>2</sup>, R., Gispert<sup>1</sup>, M., Esteve<sup>2</sup>, E. Soler<sup>3</sup>, J. y Font-i-Furnols<sup>1</sup>, M.

<sup>1</sup>IRTA-Monells, Finca Camps i Armet, 17121 Monells, Girona. raquel.marques@irta.cat

<sup>2</sup>Maç de Bover, Ctra de Reus-El Morell km 4,5, 43120 Constantí.

<sup>3</sup>IRTA-Monells, Veïnat de Sies, 17121 Monells, Girona.

### INTRODUCCIÓN

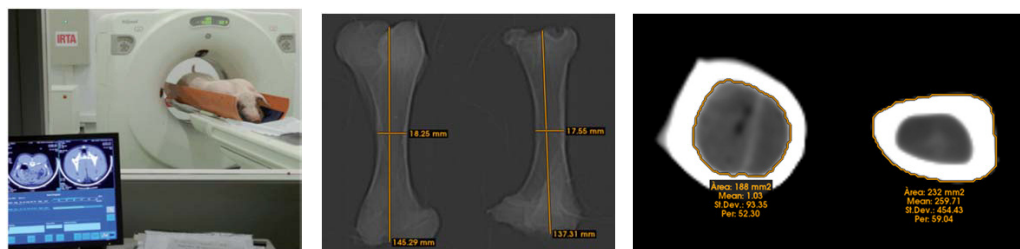
El fósforo (P) es un elemento esencial que debe formar parte de la alimentación y que, a pesar de estar presente en las materias primas de origen vegetal, es poco disponible para los animales que no poseen fitasas. Una parte importante del P de la dieta se excreta en las heces y orina, lo que contribuye a la contaminación del medioambiente (Pomar *et al.*, 2007). Dietas bajas en P pueden ser a la base de los problemas de aplomos y cojeras debido a la disminución de la resistencia ósea (Crenshaw *et al.*, 1981), y pueden provocar una disminución del rendimiento y la calidad de la carne (Kongsro, 2013) y afectar negativamente la mineralización ósea (Varley *et al.*, 2011). Las hembras reproductoras deben poseer una mayor resistencia ósea y disponer de más reservas minerales para responder al mecanismo de depleción-repleción que sufrirán a lo largo de su vida reproductiva (Quinn, 2014). La tomografía computarizada (TC) es una herramienta no invasiva basada en rayos X que es de gran utilidad para determinar la composición corporal de animales vivos y canales y sus huesos (Font-i-Furnols *et al.*, 2009, 2015; Gaudré *et al.*, 2013). Los rayos X se atenúan más o menos según la densidad del tejido que atraviesan. La atenuación se mide con valores Hounsfield (HU) de manera que mayor valor de HU indica mayor densidad. El objetivo del presente trabajo fue determinar las características del fémur y de la tibia de cerdos hembras alimentados con dietas con diferentes niveles de P mediante TC.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 48 cerdos hembras (Large White x Landrace), fueron distribuidos en 4 tratamientos alimenticios diferentes (12 cerdos cada uno). Se suministró un pienso durante el período de engorde (50 - 80 kg de peso vivo (PV)) y otro durante el periodo de finalización (de los 80 kg PV hasta el sacrificio a 120 kg). Las dietas eran isoproteicas (14,1% y 13,5% para el engorde y la finalización de todos los tratamientos, respectivamente) e isoenergéticas (2.363 kcal/kg y 2.370 kcal/kg para ambos periodos, respectivamente). La diferencia en la dieta entre los 4 tratamientos se basó fundamentalmente en la variación de los porcentajes fosfato bicálcico y carbonato de calcio, que resultó en diferentes niveles de Ca y P, y en la adición de fitasas (Tabla 1). Los cerdos se anestesiaron según protocolo estandarizado y fueron escaneados completamente con el TC de GE HiSpeed Zx/i en el IRTA-CENTA de Monells a 50, 75 y 120 kg de peso vivo (Figura 1a). Las condiciones de adquisición fueron 140 kW, 145 mA, 10 mm de grosor, axial a 1s, reconstrucción STD+. Llegados al peso objetivo final de 120 kg, los cerdos fueron sacrificados en el matadero de IRTA-Monells, donde se extrajeron el fémur y la tibia. Los huesos se escanearon con el TC con las mismas condiciones de adquisición usadas para los animales vivos. Las imágenes se analizaron con el programa VisualPork. A partir de las imágenes de cerdos vivos, se determinó el volumen total de hueso durante el crecimiento a partir de los valores de HU, considerando valores HU entre 200 y 1800. Además, se determinaron varios volúmenes parciales equivalentes a la cantidad de hueso más o menos densa (HU entre 200 y 500, entre 501 y 1000 y entre 1001 y 1800). Asimismo, a partir de las imágenes de los huesos evaluados *post mortem*, se determinó la longitud, el grosor, las áreas y la densidad del fémur y de la tibia (valor HU promedio) (Figura 1b y 1c). Para estudiar el efecto de la dieta sobre los volúmenes asociados a diferentes rangos de HU, se usó el procedimiento PROC MIXED del SAS. El modelo incluyó el tratamiento y el peso objetivo como efectos fijos. La interacción se eliminó por no ser significativa. Se consideraron medidas repetidas sobre un mismo animal. Para las características de los huesos a 120 kg se usó el procedimiento PROC GLM del SAS considerando como efecto fijo el tratamiento.

**Tabla 1.** Composición de las dietas en fósforo, calcio y fitasa.

		C0	P0	P1	P2
Engorde	P (g/kg)	5,4	4,3	4,3	4,3
	Ca (g/kg)	6,5	5,5	5,5	5,5
	Pdigestible (g/kg)	2,5	1,62	1,62	1,62
	Fitasa (%)	-----	-----	0,01	0,02
Finalización	P (g/kg)	5,25	4,033	4,033	4,033
	Ca (g/kg)	5,9	4,85	4,85	4,85
	Pdigestible (g/kg)	2,3	1,3	1,3	1,3
	Fitasa (%)	-----	-----	0,01	0,02



**Figura 1.** (a) Análisis in vivo con el equipo de TC; (b) medidas de longitud y grosor con el programa VisualPork; (c) medidas de áreas con el programa VisualPork.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se presentan los volúmenes de hueso considerando diferentes rangos de HU ( $\text{cm}^3$ ) obtenidos a partir de las imágenes de TC de los animales vivos. Se puede observar que no se encontraron diferencias significativas para ninguno de los rangos considerados, ni en el volumen entre HU200 y HU1800, que representa la cantidad total de hueso, ni en volúmenes parciales, que representan la cantidad de hueso más o menos densa. Los resultados obtenidos sugieren que en las condiciones en las que se han dado las dietas a los animales, la restricción en Ca y P no ha sido suficiente para afectar a las características de los huesos. En la Tabla 3 se presenta la longitud, el área de hueso cortical y los HU promedio en el hueso cortical de la tibia y el fémur. Los resultados muestran que no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las características evaluadas en el fémur y la tibia, corroborando los resultados obtenidos en la evaluación de los animales vivos. Contrario a los resultados del presente estudio, otros trabajos Bertaud du Chazaud *et al.*, 2015; Guadré *et al.*, 2013 mostraron que el área del hueso disminuía en cerdos alimentados con dietas pobres en P.

Por tanto, en las condiciones de este experimento, concluimos que las dietas pobres en Ca y P, enriquecidas o no con fitasas, no afectaron a las características de la tibia y el fémur.

**Tabla 2.** Volumen ( $\text{dm}^3$ ) de hueso asociado a diferentes rangos de valores de Hounsfield (HU) según el tratamiento (TRT) (ver Tabla 1) y el peso objetivo (TBW).

	TRT					TBW (en kg)				Valor P
	C0	P0	P1	P2	s.e	50	75	120	s.e.	TRT
HU200-HU1800	4,01	3,97	3,99	4,07	0,06	2,70	3,87	5,46	0,07	0,71
HU200-HU500	3,30	3,31	3,29	3,32	0,05	2,37	3,22	4,33	0,06	0,97
HU501-HU1000	0,67	0,63	0,66	0,71	0,30	0,31	0,61	1,08	0,03	0,20
HU1001-HU1800	0,04	0,03	0,03	0,03	0,002	0,02	0,04	0,05	0,002	0,78

s.e. error estándar máximo. Valor P para TBW siempre <0.0001

**Tabla 3.** Longitud (mm), área de hueso cortical (mm<sup>2</sup>) y valores medios de atenuación en unidades Hounsfield (HU) del fémur y la tibia.

	C0	P0	P1	P2	RCME	Valor P
<u>Fémur</u>						
Longitud	196,7	195,2	198,9	195,3	7,7	0,65
Área de hueso	408,1	396,3	399,6	408	29,2	0,71
Promedio HU	1452,5	1478,7	1498,4	1478,3	45,1	0,12
<u>Tibia</u>						
Longitud	183,4	183,9	183,9	183,7	6,7	0,97
Área de hueso	333,1	319,1	333	332,8	21,1	0,32
Promedio HU	1475,7	1507,7	1491	1498,2	41,3	0,31

RCME: raíz cuadrada del cuadrado medio del error; Promedio HU: valor Hounsfield medio del área del hueso cortical.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bertaud du Chazaud, B., *et al.*, 2015. Journées Recherche Porcine 4: 121-122. • Crenshaw, T.D., *et al.* 1981. J Anim Sci 52: 1319-1329 • Font-i-Furnols, M., *et al.* 2015. Animal 9, 166-178. • Font i Furnols, M., *et al.* 2009. Chemom Intell Lab Syst 98: 31-37. • Gaudré, D., *et al.*, 2013. Journées Recherche Porcine 45: 199-200. • Kongsro, J. 2013. Open J Anim Sci 3: 254-260. • Pomar, C., *et al.* 2007. Livest Sci 11: 16-27. • Quinn, A. 2014. Limb health in pigs: The prevalence and risk factors for lameness, limb lesions and claw lesions in pigs, and the influence of gilt nutrition on indicators of limb health. PhD, University of Warwick, Coventry, England. • Varley, P.F., *et al.* 2011. Anim Feed Sci Tech 165: 201-209.

**Agradecimientos:** El proyecto ha sido financiado por el INIA a través del proyecto INIA RTA2013-00040-00-00. A INIA también se le agradece la beca FPI otorgada a Raquel Marques de Sousa. Se agradece el trabajo de los técnicos Albert Fontquerna, Agustí Quintana y Albert Rossell y también del doctorando Xin Luo.

### INFLUENCE OF DIETARY PHOSPHORUS INTAKE IN FEMALE PIGS ON BONES CHARACTERISTICS ASSESSED BY COMPUTED TOMOGRAPHY

**ABSTRACT:** Phosphorus is an essential element present in the raw materials of plant origin and is crucial for the bone mineralization. The aim of the present work was to evaluate with computed tomography (CT), the development of the bone in animals with diets supplemented with different P levels, during their growth. For this purpose, 48 gilts were distributed into 4 treatment groups (C0, P digestible (digP) 2.5 g/kg; P0 with digP 1.62 g/kg; P1 with digP 1.62 g/kg and 0.01 % of phytase; and P2 with digP 1.62 g/kg and 0.02% of phytase). The animals were CT-scanned at the live weight of 50, 75 and 120kg. After the last scan, the pigs were slaughtered and femur and tibia were extracted for later scanning. From CT images of live animals, the volume of bone was calculated. From CT images from the femur and tibia, the length and cortical area of the centre of the bone was measured as well as the density (in Hounsfield values) of the cortical area. Results show not significant differences between treatments in any of the parameters evaluated.

**Keywords:** Pigs, bones, Phosphorus, Computed Tomography.

## **INFLUENCIA DEL APORTE DE FÓSFORO EN LA DIETA DE CERDOS HEMBRA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS METACARPOS EVALUADAS MEDIANTE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA**

Sousa<sup>1</sup>, R., Brun<sup>1</sup>, A., Lizardo<sup>2</sup>, R., Gispert<sup>1</sup>, M., Esteve<sup>2</sup>, E., Soler<sup>3</sup>, J. y Font-i-Furnols<sup>1</sup>, M.

<sup>1</sup> IRTA-Monells, Finca Camps i Armet, 17121 Monells, Girona. raquel.marques@irta.cat

<sup>2</sup> Mas de Bover, Ctra de Reus-El Morell km 4,5, 43120 Constantí, Tarragona.

<sup>3</sup> IRTA-Monells, Veïnat de Sies, 17121 Monells, Girona.

### **INTRODUCCIÓN**

El fósforo (P) es un elemento esencial que debe formar parte de la alimentación y que, a pesar de estar presente en las materias primas de origen vegetal contenidas en las dietas, es poco disponible. Dietas bajas en P, así como una inadecuada relación Ca:P y/o bajas en vitamina D pueden ser la base de los problemas de aplomos y cojeras por una disminución de la resistencia ósea (Crenshaw *et al.*, 1981). La utilización de dietas bajas en P, muchas veces rozando el límite de la deficiencia, o el riesgo de posibles interacciones con otros nutrientes de la dieta (iones bivalentes, tales como Ca<sup>2+</sup> o Zn<sup>2+</sup>) puede acarrear una disminución del rendimiento y de la calidad de la carne (Kongsro, 2013) y/o afectar negativamente la mineralización ósea (Varley *et al.*, 2011). Las necesidades de P que optimizan el crecimiento del cerdo no son equivalentes a las que optimizan la resistencia ósea y esto puede tener consecuencias cuando no se suministran alimentos diferenciados a cerdos de engorde y hembras futuras reproductoras. Estas últimas deberían tener una mayor resistencia ósea, y disponer de más reservas minerales para responder al mecanismo de depleción-repleción que sufrirán a lo largo de su vida reproductiva (Quinn, 2014).

La tomografía computarizada (TC) es una herramienta no invasiva basada en rayos X. Desde la década de 90, esta técnica se ha mostrado de gran utilidad para estudiar animales vivos o canales y determinar la composición corporal (Font-i-Furnols *et al.*, 2009, 2015 esta ref. no aparece en la lista). Los rayos X se atenúan más o menos según la densidad del tejido que atraviesan y a partir de estos valores de atenuación y mediante algoritmos de reconstrucción se obtiene una imagen del interior del cuerpo del animal en la que los diferentes tonos de gris se asocian a diferentes densidades expresados en valores Hounsfield. Cuanto mayor el valor de Hounsfield, mayor es la densidad.

El objetivo del presente trabajo es utilizar la TC para determinar las características de los metacarpos de cerdos hembra cuando alimentadas con dietas con diferentes niveles de P.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se usaron un total de 48 cerdos hembras de la genética Large White x Landrace que se distribuyeron en 4 tratamientos alimenticios diferentes (12 cerdos cada uno). Se suministró un pienso durante el período de engorde (50 - 80 kg de peso vivo (PV)) y otro durante el periodo de finalización (de los 80 kg PV hasta el sacrificio a 120 kg). Las dietas eran isoproteicas (14,1% y 13,5% para el engorde y la finalización de todos los tratamientos, respectivamente) e isoenergéticas (2.363 kcal/kg y 2.370 kcal/kg para ambos periodos, respectivamente). La diferencia en la dieta entre los 4 tratamientos se basó fundamentalmente en la variación de los porcentajes de fosfato bicálcico y carbonato cálcico, que resultó en diferentes niveles de Ca y P, y en la adición de fitasas (Tabla 1).

Los cerdos fueron sacrificados al peso objetivo de 120 kg en el matadero del IRTA-Monells, donde se extrajeron los metacarpos de la mano izquierda. Los huesos fueron escaneados con el TC de GE HiSpeed Zx/i en el IRTA-CENTA de Monells. Las condiciones de adquisición fueron 140 kW, 145 mA, 10 mm de grosor, helicoidal a 1s, reconstrucción STD+. A partir de la zona central de los metacarpos, y mediante el programa VisualPork, se determinó el área total del hueso y el área de hueso compacto (Figura 1 izquierda) y se obtuvieron los valores de atenuación de los rayos X (Hounsfield) relacionados con la densidad (mayor valor, mayor densidad). A continuación, se realizó el test de rotura con el

texturómetro (TA HD-Plus, Stable Micro Systems Ltd, Surrey, Reino Unido) para evaluar la resistencia de los metacarpos (Figura 1 derecha). El análisis de los datos se realizó mediante el programa estadístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU). Se utilizó el procedimiento PROC GLM considerando el modelo estadístico que incluía la dieta como efecto fijo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la evaluación de los metacarpos con el texturómetro y el TC. Se puede observar que no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados. En el caso del metacarpo 3, los valores de carga máxima fueron superiores a los del metacarpo 4, indicando que probablemente el metacarpo 3 es más duro. Por lo que respecta a la densidad, evaluada por los valores de Hounsfield y a las áreas del hueso, estas fueron parecidas entre ambos metacarpos. Los resultados obtenidos no son similares a los encontrados en otros trabajos realizados en condiciones parecidas a las del presente experimento (Létourneur-Montminy, *et al.*, 2014; Ryan *et al.*, 2011), ya que en ellos se encontró que una disminución del P en la dieta disminuía la densidad mineral ósea, el área y el volumen de los metacarpos y que la adición de fitasas a dietas bajas en P mejoraba estas características.

Estas diferencias pueden ser debidas a la genética usada, ya que algunos estudios muestran que la respuesta a la deficiencia del P en la dieta está afectada por la genética (Alexander, *et al.*, 2008, 2010). Otras razones podrían ser las condiciones de alimentación seguidas en el presente trabajo.

Por lo tanto, podemos concluir que las dietas y las condiciones de alimentación del estudio no han afectado la calidad de los huesos, indicando que, en estas condiciones, una dieta como el control negativo (P0) es suficiente para garantizar la correcta mineralización ósea.

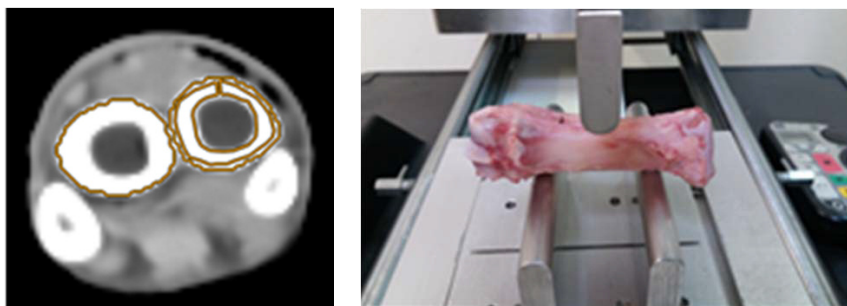
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander, L.S., *et al.*, 2008. J Anim Sci 86: 2585-2595.
- Alexander, L.S., *et al.*, 2010. J Anim Sci 88: 1009–1016.
- Crenshaw, T.D., *et al.* 1981. J Anim Sci 52: 1319-1329.
- Font-i-Furnols, M., *et al.* 2015. Animal 9: 166-178.
- Font i Furnols, M., *et al.* 2009. Chemom Intell Lab Syst 98: 31-37.
- Kongsro, J. 2013. Open J Anim Sci 3: 254-260.
- Létourneau-Montminy, M. P., *et al.*, 2014. J Anim Sci 92: 3914-3924.
- Quinn, A. 2014. Limb health in pigs: The prevalence and risk factors for lameness, limb lesions and claw lesions in pigs, and the influence of gilt nutrition on indicators of limb health. PhD, University of Warwick, Coventry, Reino Unido.
- Ryan, W. F., *et al.*, 2011. Livest Sci 138: 89-95.
- Varley, P.F., *et al.* 2011. Anim Feed Sci Tech 165: 201-209.

**Agradecimientos:** El proyecto ha sido financiado por el INIA a través del proyecto INIA RTA2013-00040-00-00. A INIA también se le agradece la beca FPI otorgada a Raquel Marques de Sousa. Se agradece el trabajo de los técnicos Albert Fontquerna, Agustí Quintana y Albert Rossell y también del doctorando Xin Luo.

**Tabla 1.** Niveles en fósforo, calcio y fitasa de las dietas.

		C0	P0	P1	P2
Engorde	Ca (g/kg)	6,5	5,5	5,5	5,5
	P (g/kg)	5,4	4,3	4,3	4,3
	Pdigestible (g/kg)	2,5	1,62	1,62	1,62
	Fitasa (%)	-----	-----	0,01	0,02
Finalización	Ca (g/kg)	5,9	4,85	4,85	4,85
	P (g/kg)	5,25	4,033	4,033	4,033
	Pdigestible (g/kg)	2,3	1,3	1,3	1,3
	Fitasa (%)	-----	-----	0,01	0,02



**Figura 1.** Medidas de los metacarpos con el programa VisualPork (izquierda); test de rotura de los metacarpos con el texturómetro (derecha).

**Tabla 2.** Medias por mínimos cuadrados de las características de los huesos evaluadas con el texturómetro y con el tomógrafo según la dieta (ver Tabla 1).

	C0	P0	P1	P2	RCME	Valor P
<b>Metacarpo 3</b>						
Carga máxima (kgf)	206	255	201	220	48	0,05
Área total (cm <sup>2</sup> )	2,27	2,42	2,45	2,37	0,24	0,36
Área cortical (cm <sup>2</sup> )	1,10	1,21	1,16	1,24	0,16	0,25
Promedio HU	597,15	551,24	557,05	558,95	63,38	0,36
<b>Metacarpo 4</b>						
Carga máxima (kgf)	178	197	193	190	3	0,64
Área total (cm <sup>2</sup> )	2,22	2,37	2,29	2,26	0,20	0,36
Área cortical (cm <sup>2</sup> )	1,07	1,16	8,85	1,21	14,25	0,48
Promedio HU	592,81	543,14	530,90	568,51	107,40	0,55

RCME: raíz cuadrada del cuadrado medio del error; Promedio HU: valor Hounsfield medio del área cortical

## INFLUENCE OF DIETARY PHOSPHORUS INTAKE IN FEMALE PIGS ON METACARPUS CHARACTERISTICS ASSESSED BY COMPUTED TOMOGRAPHY

**ABSTRACT:** Phosphorus is an important mineral in the diet because it can affect bone characteristics. The aim of the present work was to determine the characteristics of the metacarpus of gilts fed diets with different P and phytase levels by means com computed tomography. For this purpose, 48 gilts were distributed into 4 treatment groups (C0, P digestible (Pdig) 2.5 g/kg; P0 with Pdig 1.62 g/kg; P1 with Pdig 1.62 g/kg and 0.01 % of phytase; and P2 with Pdig 1.62 g/kg and 0.02% of phytase). At 120 kg target body weight pigs scanned with computed tomography (CT) equipment GE HiSpeed Zx/I, then they were slaughtered and metacarpus III and IV were extracted. The shear force was determined with a texturometer. From CT images the total area and the cortical area of the centre of the bone was measured as well as the density (in Hounsfield values) of the cortical area. Results show not significant differences between treatments in any of the parameters evaluated, indicating that, in the conditions of this experiment, the P levels of the diet did not affect at the bone characteristics.

**Keywords:** Pigs, Metacarpos, Phosphorus, CT.



## EVALUACIÓN DE CALOSTRO FRESCO, CONGELADO Y PASTEURIZADO DE VACAS LECHERAS DE LA RAZA FRISONA

Cerqueira, J.O.L.<sup>1,2</sup>, Ferreira, A.C.M.<sup>1</sup>, Faria, F.C.<sup>3</sup>, Blanco-Penedo, I.<sup>4</sup>, Cantalapiedra J.<sup>5</sup>, Araújo, J.P.<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. <sup>2</sup>Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal. <sup>3</sup>NEAGRIL - Soc. Com. Prod. Agro-pecuários de Negreiros, Lda, Barcelos, Portugal. <sup>4</sup>Subprograma Bienestar Animal, IRTA, Monells, Girona, España. <sup>5</sup>Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España. <sup>6</sup>Centro de Investigación de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo, Portugal. [cerqueira@esa.ipvc.pt](mailto:cerqueira@esa.ipvc.pt)

### INTRODUCCIÓN

El calostro es una secreción amarillenta y de consistencia cremosa que se produce en la ubre antes del parto y hasta los primeros cinco días postparto (Godden, 2008). La principal función del calostro es la transmisión de anticuerpos indispensables para la protección del ternero frente a agentes infecciosos en las primeras semanas de vida. Debe inducirse al ternero a ingerir 2 kg de calostro del primer ordeño después del parto, durante las primeras 6 horas de vida permitiendo la absorción de cantidades suficientes de inmunoglobinas. El calostro posee un efecto laxante, esencial para que el ternero excrete las heces acumuladas en el intestino durante la vida intrauterina. También permite disminuir la severidad de las enfermedades, la tasa de mortalidad, y desencadena un mejor desarrollo de los terneros y una mayor producción de leche en el futuro (Santos, 2001). Las observaciones visuales de color y la textura son una indicación adecuada de la calidad del calostro. Un calostro con apariencia espesa, y consistencia cremosa es rico en anticuerpos mientras que un calostro acuoso y fluido probablemente contendrá una menor concentración de anticuerpos (Santos, 2001). El contenido de inmunoglobulinas en el calostro está directamente relacionado con su contenido de sólidos. La densidad del calostro es proporcional a la concentración de inmunoglobulinas, especialmente en vacas de raza Frisona. Peso, pH y conductividad son factores que se pueden considerar indicadores de la calidad del calostro (Radostits *et al.*, 2000). Todas las granjas en el estudio tienen un banco de calostro congelado y la mayoría (60%) pasteurizan el calostro, lo que según Wattiaux (2015) permite optimizar el calostro en las ganaderías y aprovechar el de mayor calidad para su suministro a los terneros. El objetivo del presente estudio consistió en evaluar algunas de las características físico-químicas del calostro fresco, congelado y pasteurizado.

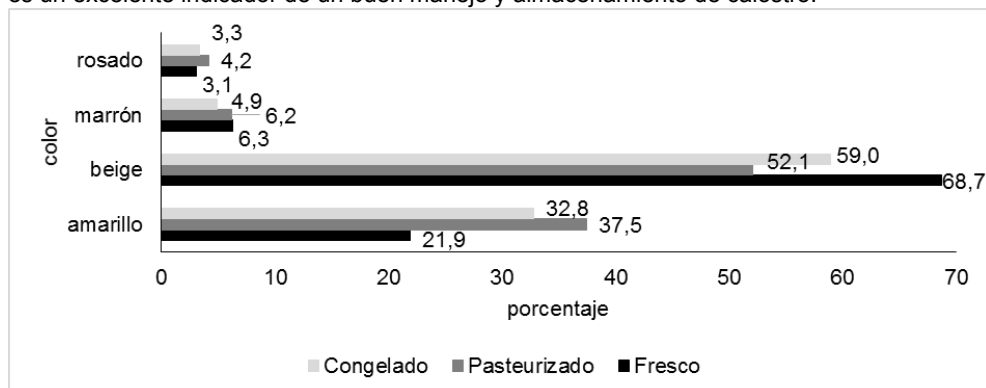
### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en cinco explotaciones de leche de raza Frisona, situadas en el norte de Portugal. De las vacas se registró: su identificación, el número de lactación y la explotación de origen. Se recogieron 141 muestras todas de vacas distintas: 32 de calostro fresco, recogido hasta una hora postparto, 48 de calostro congelado y 61 de pasteurizado. Todas las explotaciones tenían los tres tipos de calostro y el congelado (en arca frigorífica a -20°C) y pasteurizado (el calostro permanece a 60°C durante 60 minutos, después es envasado en sacos de 4 litros e mantenido a -32°C hasta la administración a los terneros) tenían menos de un año de conservación. Las características cualitativas de calostro fueron evaluadas a través de su aspecto sensorial, para el color: amarillo, beige, marrón y rosa y la textura: líquido, líquido con natas, poco espeso, espeso y cremoso. La conductividad eléctrica se obtuvo usando un medidor digital, con la referencia CTL 36694. El contenido de inmunoglobulinas (IgG) se consiguió mediante el refractómetro, con la referencia Brix Itref 32/82/90, que estima la concentración de IgG en el calostro, al medir la cantidad de luz refractada al pasar a través de un líquido. La cantidad de IgG en una proporción de escala Brix, se convirtió en valores expresados como g/L. Para determinar la influencia del tipo de muestra y del número de lactación en los parámetros analizados se empleó análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey para comparar medias.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

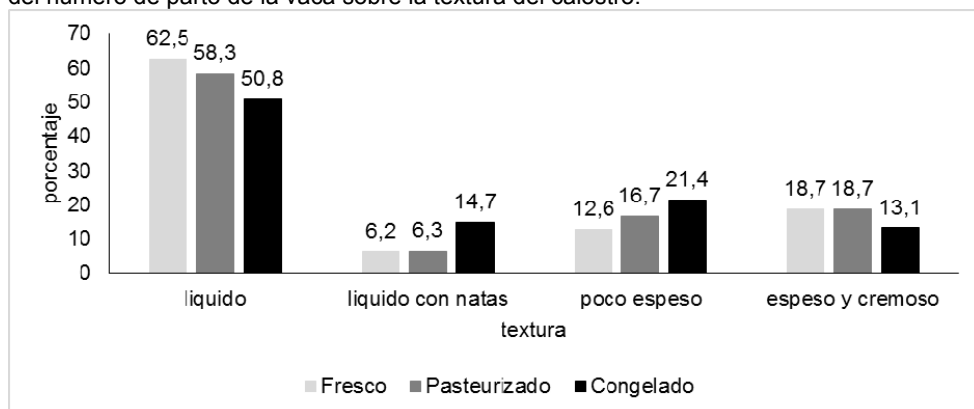
El color de calostro con menor predominancia fue el rosado (3,1% a 4,2%), seguido del color marrón (4,9% a 6,3%). Más de la mitad de las muestras (52,1% a 68,7%) eran de color

beige siendo más frecuente en el calostro fresco (Figura 1). No se ha observado efecto del número de parto de la vaca sobre el color del calostro. El color rosa y marrón obtuvieron valores bajos, lo cual se asocia con escasa presencia de sangre en las muestras, y también es un excelente indicador de un buen manejo y almacenamiento de calostro.



**Figura 1.** Frecuencia de los colores predominantes de acuerdo con el tipo de calostro

El calostro de aspecto líquido fue el predominante (50,8% a 62,5%) y con menor frecuencia se observó líquido con presencia de natas (6,2% a 14,7%) (Figura 2). El calostro de textura poco espesa, espesa o cremosa osciló entre un 12,6 y 18,7%). No se ha observado efecto del número de parto de la vaca sobre la textura del calostro.



**Figura 2.** Distribución de los tipos de calostro de acuerdo a su textura

La conductividad eléctrica global de calostro analizado fue  $2,76 \pm 0,44$  mS/cm. La conductividad eléctrica dependió del tipo de calostro ( $P < 0,05$ ) (Tabla 1). El calostro congelado mostró el valor más bajo, el pasteurizado intermedio y el calostro fresco con el valor más alto.

**Tabla 1.** Efecto del tipo de calostro en la conductividad eléctrica (mS/cm)

Tipo de calostro	N	Media $\pm$ Desviación típica	Mínimo	Máximo	Coefficiente de variación (%)
Fresco	32	$2,94^a \pm 0,42$	1,86	3,69	14,6
Pasteurizado	48	$2,76^{ab} \pm 0,49$	2,03	3,89	17,8
Congelado	61	$2,68^b \pm 0,39$	2,04	3,63	14,6
Significación		$P < 0,05$			

En una columna: a#b para  $P < 0,05$

Los valores de calostro fresco se aproximaron a los mencionados por Patoo *et al.* (2014), en el orden de 3,41 mS/cm. El hecho de que el calostro congelado presentara una conductividad inferior al calostro fresco, al igual que describe Ribeiro (2014), se explica por la conductividad eléctrica aumentada a temperaturas de leche más elevadas. Los resultados también pueden estar relacionados con los altos niveles de grasa en el calostro que actúan como un obstáculo en la conductividad eléctrica, puesto que influyen en los valores de este parámetro (Raimondo *et al.*, 2009).

Las inmunoglobulinas se vieron afectadas por el número de lactación de la vaca ( $P < 0,01$ ) (Tabla 2) y no por el tipo de calostro ( $P > 0,05$ ). El calostro de vacas con cuatro o más partos presentó la más alta concentración de inmunoglobulinas, mientras que el calostro de vacas de segundo parto presentó las concentraciones de inmunoglobulinas más bajas. Las inmunoglobulinas para la raza frisona oscilan entre 55,9 g/l y 90,4 g/l, aproximándose los datos medios en este estudio al límite superior. Estos resultados indican que a medida que aumenta el número de lactación de la vaca existe un mayor nivel de concentración de inmunoglobulinas en el calostro como también constataron Godden (2008) y Corke (2010).

**Tabla 2.** Efecto del número de lactación en la concentración de inmunoglobulinas (g/l)

Nº de partos	N	Media ± Desviación típica	Mínimo	Máximo	Coefficiente de variación (%)
1	19	67,5 <sup>a</sup> ±48,5	12	163	71,9
2	51	64,8 <sup>a</sup> ±39,2	12	151	60,5
3	29	84,7 <sup>ab</sup> ±44,4	12	151	52,5
≥4	42	99,8 <sup>b</sup> ±45,6	12	163	45,7
Significación		P<0,01			

En una columna: a≠b para  $P < 0,01$

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Corke, M.J., 2010. Cattle Practice, 18, 216-218.
- Godden, S., 2008. Food Animal Practice, 24, 19-39.
- Patoo, R.A., et al. 2014. Ind. J. of Hill Farming, 27, 54-58.
- Radostits, O.M., et al. 2000. Veterinary Medicine, 603-691.
- Raimondo, R.F.S., et al. 2009. Ciências Agrárias, 30, 447-456.
- Ribeiro, A.B.C., 2014. Tese de Mestrado, Universidade Norte do Paraná. 39 pp.
- Santos, G.T., 2001. Imunidade passiva colostrar em bovinos. NUPEL.
- Wattiaux, M.A., 2015. Instituto Babcock, Pesquisa e Desenvolvimento da Pecuária Leiteira Internacional.

**Agradecimientos:** A los productores que participaron en este estudio. Este estudio ha sido realizado gracias a los proyectos del CECAV UID/CVT/00772/2013 y UID/CVT/00772/2016, financiados por Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), para el trienio 2015-2017.

#### EVALUATION OF FRESH, FROZEN AND PASTEURIZED COLOSTRUM OF DAIRY COWS OF HOLSTEIN FRIESIAN BREED

**ABSTRACT:** Characteristics of colostrum and its importance for calf health lead to pasteurization and freezing of the colostrum as viable alternatives for later reutilization at the dairy farms. The predominant color in the three types of colostrum was beige (52.1 - 68.7%) and the predominant consistency was liquid (50.8 - 62.5%). The mean value of electrical conductivity was 2.76±0.44 mS/cm; and the average concentration of immunoglobulins was 79.7±45.6 g/L. There were differences among colostrum type ( $P < 0.05$ ) in the electrical conductivity, fresh colostrum showed higher values (2.94 mS/cm) relative to frozen colostrum (2.68 mS/cm). Immunoglobulins were affected by the parity of the cow ( $P < 0.01$ ), cows with four or more lactations showed the highest concentration (99.8 g/L). The analysis of colour and texture, electrical conductivity and immunoglobulin concentration provide relevant information about the quality of colostrum which benefit calve management and the efficient use of this milking by product in the most profitable way at dairy farms.

**Keywords:** Colostrum, sensory factors, electric conductivity, immunoglobulins.

## **EFFECTO DE LA ADICION DE ACEITE VEGETAL MODIFICADO EN LA ALIMENTACION DE OVEJAS F1 (EAST FRIESIAN X OVINO DE PELO) SOBRE EL PESO VIVO DE SU PROGENIE.**

Vicente, JG<sup>1</sup>., Martínez, JM<sup>1</sup>., Pinos, JM<sup>1</sup>., García, SP<sup>1</sup>., Hernández, JA<sup>1</sup>., Estrada, AT<sup>1</sup>., Loeza, R<sup>1</sup>., Alva, M<sup>1</sup>., Juárez, FI<sup>1</sup>., Isabel, B<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana, Veracruz, México. CP 91710 <sup>2</sup>Universidad Complutense de Madrid. CP 28040, España. [jvicente@uv.mx](mailto:jvicente@uv.mx)

### **INTRODUCCIÓN**

La suplementación con grasas en la alimentación de ovejas se ha estudiado ampliamente en los últimos años en razas de lana (Bencini y Purvis, 1990). Khanal y Olson (2004) plantearon la suplementación con fuentes lipídicas como opción energética, sin embargo existen pocos estudios sobre el efecto que puede tener el perfil de ácidos grasos de la grasa suplementada en la alimentación de ovejas de pelo y sus cruces con ovino lechero, bajo condiciones tropicales. Stanton et al. (2003) y Shingfield et al. (2008) proponen la suplementación lipídica de las dietas como una de las vías más utilizadas para la modificación de la composición de la leche y el calostro de ovejas y directamente la productividad del cordero. Sin embargo la utilización de grasas puede servir no solo como aporte de energía, ya que además puede afectar el metabolismo ruminal de forma positiva modificando el reparto de nutrientes. Haciendo posible que la suplementación alimenticia de borregas con grasas afecte positivamente la composición de la leche ya que la proteína, grasa, lactosa y caseína sintetizadas por la glándula mamaria son formadas a partir de los sustratos contenidos en el torrente sanguíneo y que pueden haber sido movilizados a partir de las reservas corporales o aportado a través de la alimentación (Dwain, 2004). Capper et al. (2007) encontraron que la suplementación de ovejas gestantes con ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de cadena larga incrementa el peso al nacimiento del cordero y el peso al destete, lo que tiene un impacto directo en la productividad de los sistemas de producción ovina. Cabe destacar uno de los AGPI más estudiados en investigación, es el ácido linoleico conjugado (CLA) ya que observa numerosas bondades y cualidades que impactan de manera positiva la salud del humano, la productividad y calidad de los productos de origen animal (Bauman *et al.*, 2006). Adicional a lo anterior en países emergentes se utiliza con mucha frecuencia grasas recicladas o recuperadas de la preparación de alimentos fritos para consumo humano existiendo poca información sobre la viabilidad de esta y los posibles efectos sobre parámetros productivos, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la modificación de la grasa vegetal adicionada en la alimentación de reproductoras ovinas sobre el peso vivo de su progenie bajo condiciones tropicales.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El presente estudio se realizó en el Módulo de Ovinos y Caprinos de la Posta Zootécnica "Torreón del Molino", de la Universidad Veracruzana (19° 10' Latitud Norte, 96° 10' Longitud Oeste, 15 metros sobre el nivel del mar) en México. Para la realización del estudio se utilizaron 36 ovejas F1 (East Friesian X ovino de pelo) de segundo parto, con condición corporal de 3 y peso 38 (±3) kg, que fueron seleccionadas al azar y asignadas a tres tratamientos (isoenergéticos). Las ovejas fueron alimentadas con una ración total (15,06% PB, 6,85% GB y 46,18% FND) compuesta por: heno de pasto pangóla (70%), maíz (15,28%), pasta de soja (9,82%), corrector (0,9%) y aceite (4%) correspondiente. Los aceites fueron: Puro: aceite vegetal mixto compuesto por aceites de canola, girasol, soja y cártamo (14,28% ácidos grasos saturados (AGS), 42,26% ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y 43,46% AGPI). CLA: 1% aceite puro + 3% CLA (10,75% AGS, 31,70% AGMI y 57,55% AGPI); Quemado: aceite puro quemado de freiduría de productos del mar (31,28% AGS, 39,19% AGMI y 29,53% AGPI). Los corderos se pesaron al nacimiento y semanalmente durante las cuatro semanas posteriores a éste, durante este

periodo solo consumieron calostro y leche de sus madres. Se ordeñaron las ovejas semanalmente. Para la evaluación de la composición, se tomaron muestras semanales de leche de forma aséptica, acorde a la AOAC. El análisis se realizó en primeras dos horas posteriores a la toma de la muestra. La composición físico-química de la leche se determinó con el espectrofotómetro de luz infrarroja portátil *Lacto Scan MCC50*. Las variables determinadas fueron: grasa, proteína total, lactosa sólidos no grasos (SNG). Los cambios en el peso de los corderos se evaluaron utilizando un análisis de varianza con el paquete estadístico SAS con la adición de aceite vegetal como efecto fijo, los parámetros obtenidos de la leche: grasa, proteína, lactosa y SNG se evaluaron mediante análisis de medidas repetidas para comparar los tratamientos (en el mismo tiempo) con el paquete estadístico ya mencionado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La dieta de la oveja afectó al contenido de grasa de la leche ( $P=0,04$ ), siendo inferior en las ovejas que recibieron el aceite quemado (Tabla 1). No se observaron diferencias para la producción de leche y los componentes SNG, lactosa debidas a la dieta. La semana de lactación afectó a la producción de leche y a los contenidos de grasa y SNG ( $P<0,001$ ) y tendió a afectar al contenido en proteína total ( $P=0,08$ ). Al igual que los estudios de Antongiovanni et al. (2004) y Bodas et al. (2010) la alimentación con aceites vegetales influyó en la composición de la leche de ovejas y el comportamiento de su grasa, siendo posible que el grado de insaturación de la grasa contenida de las dietas experimentales tuvo un efecto directamente proporcional sobre el porcentaje de grasa láctea de los grupos.

**Tabla 1.** Efecto de la adición del tipo de aceite incluido en la dieta de las ovejas (D) y el tiempo (T) sobre producción y la composición de la leche.

	Puro	CLA	Quemado	E.E.M. <sup>1</sup>	P-valor D	P-valor T
Producción leche, ml	1,132	1,157	1,143	195.7	0,76	0,001
Grasa, %	8,7 <sup>a</sup>	9,1 <sup>a</sup>	6,51 <sup>b</sup>	4,07	0,04	0,001
SNG, %	8,41	8,73	8,34	1,14	0,62	0,001
Lactosa, %	3,7	4,16	3,81	0,78	0,34	0,58
Proteína total, %	4,2	3,97	3,78	0,18	0,27	0,08

<sup>1</sup>Error estándar de la media. En un parámetro, distinto superíndice indica diferencias al  $P<0,05$

No se observaron diferencias en el peso del corderos al nacimiento ( $P=0,25$ ). Sin embargo, una vez transcurridas las primeras 4 semanas de vida de los corderos existieron diferencias entre el peso de los corderos de los grupos suplementados con aceite puro y CLA con respecto al grupo de aceite quemado ( $P=0,001$ ).

**Tabla 2.** Efecto de la adición de aceite vegetal modificado en la dieta de las ovejas sobre los pesos de los corderos

	Puro	CLA	Quemado	E.E.M. <sup>1</sup>	P-valor
Peso al nacimiento, kg	3,73	3,91	3,50	0,255	0,25
Peso a los 28 días, kg	11,15 <sup>a</sup>	11,56 <sup>a</sup>	10,38 <sup>b</sup>	0,034	0,001

<sup>1</sup>Error estándar de la media. En un parámetro, distinto superíndice indica diferencias al  $P<0,05$

La ausencia de efecto de la adición de aceite modificado utilizado en la alimentación de las ovejas sobre el peso al nacimiento de los corderos coincide con lo encontrado por Bodas et al. (2009) en los pesos al nacimiento cuando se compararon suplementaciones con grasas con el mismo nivel de insaturación. Hervas et al. (2007) comparando una

alimentación con grasas poliinsaturadas encontró que estas pueden aumentar el peso de los corderos al nacimiento y al destete, dicha coincidencia parcial se puede deber a que hubo poca diferencia en los niveles de poliinsaturación entre los tratamientos y ser el factor por el cual no se encontraron evidencias al nacimiento y al mismo tiempo el nivel de insaturación entre tratamientos si influyó en el peso vivo de los corderos a las cuatro semanas de vida debido a que estos consumieron una leche con un mayor porcentaje de grasa y por ende el aporte calórico diario fue superior en los grupos de aceite puro y CLA. Es importante resaltar que en estudios reportados por Besbes et al. (2005) y Zamorano et al. (2013) encontraron que las grasas vegetales al calentarse durante más de 10 horas a temperaturas cercanas a los 200° C tienden a perder su poliinsaturación situación que ocurrió con el aceite quemado. Dado que estos resultados son datos preliminares, es necesario realizar un mayor número de estudios sobre el perfil de ácidos grasos de la leche que consumieron los corderos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antongiovani, M., et al. 2004. Journal of animal feed science 1(Suppl.1):669-672.
- Bauman, D.E., et al. 2006. En: Ruminant Physiology. Wageningen Academic.
- Bencini, R., Purvis, I.W. 1990. The Australian Society of Animal Production, 18.
- Besbes, S., et al. 2005. Food Chemistry 91, Issue 3 469-476.
- Bodas, R., et al. 2009. XIII Jornadas sobre producción animal (AIDA), tomo I 286-288.
- Bodas, R., et al. 2010. Journal of agricultural and food chemistry 58:10493-10502.
- Capper, J., et al. 2007. Animal 1, 889-808.
- Hervás, G., et al. 2007. Jornadas de Estudio AIDA (XII Jornadas sobre Producción Animal), PAll-1.
- Khanal, R.C., Olson, K.C. 2004. A review. Pakistan J. of Nutrition. 3(2):82-98.
- Shingfield, K.J., et al. 2008. Adv Exp Med Biol 606:3-65.
- Stanton, C., et al. 2003. Research, Volume 2, pp, 123-145.
- Zamorano, M. et al. 2013. Rev. Fac. Cienc. Agrar., Univ. Nac. Cuyo, Mendoza, V. 45.

**Agradecimientos:** Este estudio se ha realizado gracias al financiamiento de un proyecto de fortalecimiento de cuerpos académicos otorgado por el PRODEP y la Universidad Veracruzana de México al UV-CA-382 (Referencia 103.5/15/10542/CVEUV-CA-382.21029).

### EFFECT OF THE ADDITION OF MODIFIED VEGETABLE OIL IN THE DIET OF F1 SHEEP (EAST FRIESIAN X HAIRY SHEEP) ON MILK PRODUCTION AND QUALITY AND ON THE WEIGHT OF THEIR PROGENY.

**ABSTRACT:** The main objective of the present work was the study of the effects to adding modified vegetable oil in F1 ewe's diets in milk production and quality and growth of their lambs. Feeding consisted in 3 isoenergetic Total Mixed Ration diets differing in the oil added: 4% pure oil (T1), CLA 1% and 3% pure oil (T2), and 4% burned fry oil (T3). The addition of the modified oil did not milk production. Milk from burned fry oil diets (T3) resulted in lower fat content compared with those of T1 and T2 (P=0.04). The addition of oil did not affect the birth weight of lambs, however, after four weeks of lactation, body weight of lambs (P<0.001), T1 and T2 lambs were heavier than T3 lambs. These results can be explained by the lower polyunsaturation of burned fry oil used in this study which caused a decreased fat content in milk and a lower energy content of milk and therefore weight gain during four weeks of lactation.

**Keywords:** Sheep, feed, fat, lambs

## **EVALUACIÓN DEL ENSILADO DE HABA FORRAJERA COMO ALTERNATIVA AL ENSILADO DE RAIGRÁS ITALIANO EN LA ALIMENTACIÓN DE VACUNO LECHERO**

Baizán, S., Martínez-Fernández, A. y 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**

La nueva Política Agraria Común (PAC) pretende fortalecer la sostenibilidad ambiental de la producción agroalimentaria estimulando el uso de los recursos naturales (pastoreo) y la diversificación de los cultivos (pago verde). La dependencia de la importación de soja para la alimentación animal constituye una desventaja en la producción agraria de la UE, por lo que la PAC proporciona apoyo específico al cultivo de leguminosas para incluir en las rotaciones forrajeras con el fin de alcanzar la autosuficiencia proteica en la UE. Las leguminosas tienen un papel importante por su capacidad de fijar nitrógeno en el suelo, que posibilita la reducción de la fertilización química (Rochon et al., 2004) y por su mejor aprovechamiento del agua (Ferreyrolle, 2016). Sin embargo, su utilización como ensilado para el racionamiento animal se ve limitada por su bajo contenido en carbohidratos y elevada capacidad tampón (Foster et al., 2011), que puede originar problemas durante el proceso fermentativo. Ahora bien, su intercultivo con gramíneas, no solo incrementa el rendimiento productivo (Baizán et al., 2015) sino que mejora el proceso de fermentación y mantiene la calidad del ensilado debido a la reducción de la degradación de proteínas (Copani et al., 2014). El objetivo de este estudio fue evaluar la posibilidad de sustituir total o parcialmente el ensilado de raigrás italiano en la alimentación de vacas lecheras por ensilado de haba forrajera sin que afecte a la producción ni a la calidad de la leche, de modo que pueda minimizarse la compra de alimentación externa, especialmente piensos proteicos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El ensayo se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad de Leche del SERIDA en Villaviciosa (Asturias) entre octubre y diciembre de 2015. Se utilizó un diseño en cuadrado latino de 3x3 con tres tratamientos (Raigrás: raigrás italiano; Haba: haba; Haba+Raigrás: haba forrajera en intercultivo con raigrás italiano) en tres períodos con nueve vacas frisonas distribuidas al azar en tres grupos. Las vacas se encontraban al inicio del experimento en el primer tercio de la lactación, con un peso vivo promedio de 648 ( $\pm$  59) kg y una producción media de 29,6 ( $\pm$  2,0) kg leche/día. Se elaboraron raciones completas mezcladas isoenergéticas e isoproteicas formuladas con los ensilados de raigrás italiano de primer corte o de los cultivos forrajeros seleccionados: haba forrajera en monocultivo o haba forrajera en intercultivo con raigrás italiano, además de paja de cereal y concentrado. Las raciones fueron ofertadas *ad libitum* en pesebre como complemento a un pastoreo diario de 18 horas en praderas polifitas. Cada período constaba de 21 días, incluyendo 14 días de adaptación a la dieta y 7 de control y muestreo. Al inicio de cada período de muestreo, se realizó un control de producción de la parcela de pastoreo para determinar la disponibilidad de pasto. El consumo de las raciones completas mezcladas fue registrado mediante un sistema de monitorización de ingestión voluntaria basado en el uso de balanzas y el consumo de concentrado suplementario mediante el dispensador de pienso instalado en el robot de ordeño. La ingestión de hierba en pastoreo se estimó según el método de rendimiento animal propuesto por Macoon et al. (2003). Durante el período de muestreo se tomaron muestras diarias de cada una de las raciones completas mezcladas y del concentrado suplementario. La producción de leche se registró en los ordeños de mañana y tarde muestreando la leche tres veces por semana en días alternos en ambos ordeños mediante un muestreador automático acoplado al robot de ordeño. El valor nutritivo de las raciones completas mezcladas fue determinado mediante NIRS, utilizando ecuaciones de predicción desarrolladas y validadas en el Laboratorio de Nutrición del SERIDA y acreditadas por ENAC (Expediente LE/930). Las muestras de leche fueron conservadas con azidiol y enviadas al Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias para el análisis de macrocomponentes (MilkoScan FT 6000). Se estandarizó la producción de leche por grasa y energía según Schlamberger et al. (2010) de acuerdo a la ecuación: Producción de leche estándar (kg) = kg leche \*  $\left[ \left( (0,38 * \%Grasa) + (0,21 * \%Proteína) + 1,05 \right) / 3,28 \right]$ . Los resultados fueron contrastados mediante análisis de varianza utilizando un modelo mixto

considerando la dieta y período como efectos fijos y la vaca como efecto aleatorio, utilizando el software R.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra la composición de ingredientes y el valor nutritivo de las raciones utilizadas en el ensayo. Como se puede observar el aporte de concentrado es menor en las raciones que incluyen leguminosas como respuesta al mayor contenido en proteína de las habas forrajeras.

**Tabla 1.** Composición de ingredientes y valor nutritivo de las raciones completas mezcladas ofertada en la estabulación en los tres tratamientos.

Ingredientes (% MS)	Raigrás	Haba	Haba+Raigrás
Ensilado de raigrás italiano	51,15	-	-
Ensilado de haba + raigrás italiano	-	-	62,08
Ensilado de haba	-	65,19	-
Paja	11,15	7,17	5,79
Concentrado	37,70	27,65	32,13
Materia seca (MS) (%)	28,01	37,05	28,20
Materia orgánica (% MS)	87,90	85,34	88,26
Proteína bruta (% MS)	13,97	13,15	13,25
Fibra neutro detergente (% MS)	52,25	52,25	51,91
Energía neta de lactación (MJ/kg MS)	5,82	5,82	5,82

La Tabla 2 muestra la ingestión de cada uno de los componentes de la ración diaria, la producción de leche y su composición química. Los consumos de materia seca de la ración completa mezclada, concentrado suplementario y hierba no presentaron diferencias según el tipo de dieta ( $P>0,05$ ). La producción de leche tampoco mostró diferencias en función de las dietas ofertadas ( $P>0,05$ ).

**Tabla 2.** Consumo de alimentos, producción y composición de la leche de vacas Holstein en producción consumiendo una ración completa mezclada ofertada en la estabulación y complementada con pastoreo.

	Raigrás	Haba	Haba+Raigrás	DER <sup>1</sup>	Sign. <sup>2</sup>
Ración completa mezclada (kg MS/d)	9,05	8,32	8,73	1,262	NS
Concentrado suplementario (kg MS/d)	3,48	3,32	3,56	0,319	NS
Hierba (kg MS/d)	10,74	11,08	13,73	4,591	NS
Total (kg MS/d)	23,27	22,72	26,03	4,300	NS
Producción de leche estándar (kg/d)	29,48	28,39	28,32	1,197	NS
Grasa (%)	3,65	3,76	3,68	0,206	NS
Proteína (%)	2,94	2,97	2,97	0,044	NS
Urea (mg/dL)	234 <sup>a</sup>	275 <sup>b</sup>	251 <sup>ab</sup>	11,5	***

<sup>1</sup> Desviación Estándar Residual; <sup>2</sup> nivel de significación: NS: No Significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*\* $P < 0,001$

En cuanto a la composición de la leche, ni el contenido de grasa ni el de proteína estuvieron influenciados por efecto de las dietas ensayadas, sin embargo se observaron diferencias en el contenido de urea ( $P<0,001$ ), con una excreción de urea superior en la dieta con ensilado de haba forrajera que la dieta con ensilado de raigrás. La ración con el ensilado de intercultivo de haba y raigrás presentó valores intermedios. En cualquier caso, estos valores se encontraron siempre dentro del rango considerado como óptimo (210 y 320 mg urea/L) según Salcedo-Díaz y Villar-Bonet (2015). Los resultados son concordantes con los obtenidos por Jiménez-Calderón et al. (2016) en ensayos en los que se comparó la ingestión de raciones elaboradas con ensilado de un intercultivo de haba forrajera y colza frente a raciones elaboradas con ensilado de raigrás italiano. En dicho estudio la ingesta de materia seca, la producción de leche y los contenidos de grasa y proteína de la leche tampoco se



vieron afectados por las dietas. Las mayores concentraciones de urea encontradas en los tratamientos que incluyeron leguminosas se achacan a un mayor contenido de N amoniacal en el ensilado de haba forrajera que en el de raigrás italiano (Baizán et al. 2016) o a una mayor degradabilidad ruminal de la proteína de la leguminosa, que incrementaría la síntesis de urea en el hígado y finalmente la excreción de urea en leche (Baker et al. 1995).

La inclusión de ensilados de leguminosas en la dieta de las vacas lecheras puede ser una alternativa viable a los ensilados de raigrás italiano ya que, con un menor aporte de concentrado en la ración, ni el consumo, ni la producción y composición química de los componentes de la leche implicados en el pago por calidad se ven afectados por el tratamiento y puede mejorar el perfil de ácidos grasos de la leche con una mayor insaturación de la grasa (Jiménez-Calderón et al., 2014). Además, el cultivo como forraje de las habas forrajeras presenta otras ventajas sobre el del raigrás italiano, ya que a igualdad de rendimientos en materia seca, proteína y energía, requieren menos manejo al acumular toda la producción en un único corte, y no precisan aporte complementario de nitrógeno en primavera (Baizán et al., 2015), lo que está en la línea de la nueva PAC.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baizán S., Vicente F., Soldado A., Modroño S. & Martínez-Fernández A. 2016. Grassland Science in Europe 21: 242-244.
- Baizán S., Vicente F., González M.A., González C., de la Roza B., Soldado A. & Martínez-Fernández A. 2015. Pastos 45: 23-32
- Baker L.D., Ferguson J.D. & Chalupa W. 1995. J. Dairy Sci. 78: 2424-2434.
- Copani G., Ginane C., le Morvan A. & Niderkorn V. 2014. Anim Prod Sci 54: 1826-1829.
- Ferreyrolle J. 2016. Les légumineuses fourragères et prairiales: Quoi de neuf? • Foster J.L., Carter J.N., Sollenberger L.E., Blount A.R., Myer R.O., Maddox M.K., Phatak S.C & Adesogan A.T. 2011. J Dairy Sci 94: 2042-2050.
- Jiménez-Calderón J.D., Martínez-Fernández A., González A., Soldado A. de la Roza-Delgado B & Vicente F. 2014. Grassland Science in Europe 19: 590-592
- Jiménez-Calderón J.D., Martínez-Fernández A. & Vicente F. 2016. Grassland Science in Europe 21: 242-244.
- Macoon B., Sollenberger L.E., Moore J.E., Staples C.R., Fike J.H. & Portier K.M. 2003. J Anim Sci. 81: 2357-2366.
- Rochon J.J., Doyle C.J., Greef J.M., Hopkins A., Molle G., Sitzia M., Scholefield D. & Smith C.J. 2004. Grass Forage Sci 59: 197-214.
- Salcedo-Díaz G. & Villar-Bonet A. 2015. Interpretación del contenido de urea en leche. Claves para su minimización en las explotaciones de Cantabria. CIFA, Gobierno de Cantabria, Santander, España.
- Schlamberger G., Wiedemann S., Viturro E., Meyer H.H.D. & Kaske M. 2010. J Dairy Sci 93: 2471-2485.

**Agradecimientos:** Silvia Baizán es beneficiaria de un contrato predoctoral FPI-INIA. Este trabajo ha sido financiado por el INIA (proyecto RTA 2012-0006512-05-01) cofinanciado con fondos FEDER.

### EVALUATION OF FABA BEAN SILAGE AS ALTERNATIVE TO ITALIAN RYEGRASS SILAGE TO FEED OF DAIRY COWS

**ABSTRACT:** With the aim to minimize the feeding costs and to meet the requirements of the new CAP, the effect of including faba bean silages in dairy cow rations on milk yield and chemical composition of milk was evaluated. Three diets were randomly assigned to 9 Holstein dairy cows divided in three groups (three cows/group) following a 3 x 3 Latin square design. Total mixed rations were composed by Italian ryegrass silage, faba bean silage in monoculture or faba bean intercrop with Italian ryegrass silage. No differences were observed due to the treatments in dry matter intake, yield of milk and chemical composition of milk. Urea content showed differences due to the treatments. These results showed the potential of faba bean silages as alternative to Italian ryegrass silages in dairy cow production on forage systems. However, further studies should be carried out in a longer term and evaluation of the fatty acid profile and sensory analyses could be done.

**Keywords:** legume crops, Italian ryegrass, silages, dairy productivity.

## EFFECTOS DE LA RELACIÓN FORRAJE A CONCENTRADO EN OVEJAS LECHERAS.

### 1. PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE

Elhadi<sup>1</sup>, A., Caja<sup>1</sup>, G., Salama<sup>1</sup>, A.A.K., Mendivil<sup>2</sup>, M., Durán<sup>2</sup>, E. y Albanell<sup>1</sup>, E.

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España. <sup>2</sup>Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México. [abdelaali.elhadi@uab.cat](mailto:abdelaali.elhadi@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

La distribución de concentrado permite aumentar la ingestión de energía de la ración de una forma rápida, y en muchos casos barata, aunque puede provocar un aumento de la deposición de grasa corporal y modificar el nivel de producción y la composición de leche en el ganado ovino (Bocquier y Caja, 2001). Por otro lado, al igual que en otras especies, la producción y la composición de leche están correlacionados negativamente en ovino (Pulina et al., 2006). Sin embargo, cuando el nivel de concentrado supera el 50% de la materia seca de la ración, se espera que aparezcan problemas de acidez ruminal y se reduzcan simultáneamente los contenidos de grasa y proteína en leche (Sutton y Morant, 1989). Este efecto, que es más rápido en la grasa que en la proteína y varía según la raza de ovino lechero (Bocquier y Caja, 2001), se atribuye a la rápida degradación de los hidratos de carbono no estructurales en el rumen, lo que reduce el pH y altera gravemente la microbiota ruminal. Pese a ello, es habitual observar raciones de ovino lechero con un 80% de concentrado (Gomez-Cortés et al., 2008, 2009).

El efecto de la relación forraje:concentrado (F:C) en la calidad de leche ha sido estudiado ampliamente en vacuno (Rémond, 1985; DePeters y Cant, 1992; Soita et al., 2005) y caprino (Morand-Fehr et al., 1991; Tufarelli et al., 2009), mientras que ha merecido menos atención en la especie ovina, en la que muchos de los datos proceden de ovino de carne (Bocquier y Caja, 2001). Todo parece indicar, además, que los resultados de vacas y cabras no se pueden extrapolar directamente a ovejas lecheras.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la respuesta productiva a diferentes niveles de concentrado en la ración (F:C) de ovejas lecheras durante la lactación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y manejo:** Se utilizaron un total de 72 ovejas lecheras multiparas de raza Manchega (MN, n = 36) y Lacaune (LC, n = 36) a mitad de lactación (65 ± 1 d), después de la cría de sus corderos (destete, 30 d), mantenidas en una estabulación libre con cama de paja y viruta en el Servicio de Granjas y Campos Experimentales de la UAB.

**Tratamientos experimentales:** El experimento consistió en un diseño 2x3 (raza x ración) con 6 grupos equilibrados de ovejas (según raza, producción y días en leche, edad, peso y condición corporal) asignados al azar a cada uno de los tratamientos. Las raciones experimentales, ofrecidas *ad libitum* en forma de ración total usando un mezclador vertical de 8 m<sup>3</sup> (Compar, Sant Pere de Torelló, Girona) y calculadas mediante el programa INRation (v.4.06), consistieron en 3 niveles de concentrado (F:C, %) sobre una base de heno de alfalfa:

- Alto concentrado (AC), 40:60% (1,08 UFL, 15,2% PB y 45,3 FND, sobre MS)
- Medio concentrado (MC), 55:45% (1,07 UFL, 15,7% PB y 52,2 FND, sobre MS)
- Bajo concentrado (BC), 70:30% (1,06 UFL, 16,5% PB y 60,1 FND, sobre MS)

Además, en cada ordeño, se ofreció 0,1 kg de maíz grano para facilitar la entrada.

**Ordeño:** El ordeño se realizó 2 veces al día (7 y 17 h) en una sala 2x12 con línea alta (Amarre Azul-1, DeLaval, Alcobendas) y 12 unidades de ordeño (DeLaval SG-TF100) con medidores automáticos (MM25SG) y desconexión de pezoneras por flujo (<0,1 L/min) o tiempo (>3 min). Los parámetros de funcionamiento fueron de 40 kPa, 120 p/min y 50%. Los pezones se desinfectaron al acabar el ordeño en una solución iodada.

**Toma de muestra, análisis y medidas:** Las cantidades de ración ofrecida y rechazada se midieron a diario en cada grupo de 6 ovejas. La producción de leche se controló a cada ordeño y se recogieron muestras representativas individuales al inicio (sem 3) y al final del estudio (sem 8). La composición de leche se analizó por espectroscopia NIR (NIRSystems 5000, Foss, Hilleröd, Dinamarca). El peso y la condición corporal de las ovejas se evaluó al inicio y final del experimento.

**Análisis estadístico:** Se utilizó el PROC MIXED de SAS (v.9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) con los tratamientos como efecto fijo y el animal y el error como aleatorios. Las medias se expresaron como medias mínimo cuadráticas y se separaron mediante PDIFF a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados productivos obtenidos se han resumido en la Tabla 1. La ingestión total diaria fue similar en los 3 tratamientos ( $P = 0,82$  a  $0,91$ ), para cada una de las razas, pese a las diferencias de composición nutritiva. Sin embargo, la ingestión de forraje (estimada por la proporción F:C) disminuyó un 28% y un 37%, al utilizar el nivel más alto de concentrado (AC) en las ovejas LC y MN, respectivamente ( $P < 0,05$ ). La diferencia entre BC y MC sólo fue significativa en las ovejas MN (21%;  $P < 0,05$ ).

No se detectaron diferencias en la producción de leche, bruta o estandarizada (LCE), entre ninguno de los tratamientos ( $P = 0,53$  a  $0,97$ ; Tabla 1), contrariamente a lo esperado. Esto debió ser consecuencia de la cobertura de necesidades en todos los casos. Aunque se observó una ligera disminución en el contenido en grasa de la leche, las diferencias por efecto de los tratamientos, tampoco fueron significativas en ninguno de los componentes lácteos y el estado sanitario de la ubre ( $P = 0,24$  a  $0,95$ ; Tabla 1). La disminución observada en el contenido en grasa ( $P > 0,05$ ) está de acuerdo con la esperada reducción del pH ruminal en las raciones de AC. Sin embargo, el contenido en proteína aumentó en las raciones MC ( $P > 0,05$ ), compensando el efecto en los sólidos totales.

**Tabla 1.** Efectos del nivel de concentrado en la producción y composición de leche de ovejas lecheras a mitad de lactación según la raza.

Raza	Ítem	70:30	55:45	40:60	ESM	P valor
Lacaune	Ingestión total, kg MS/d	2,96	3,00	3,08	0,19	0,82
	Ingestión forraje, kg MS/d	2,01 <sup>a</sup>	1,76 <sup>ab</sup>	1,45 <sup>b</sup>	0,10	0,06
	Leche, kg/d	2,17	2,10	2,10	0,22	0,97
	Grasa, %	6,60	6,61	6,25	0,25	0,53
	Proteína, %	5,76	5,81	5,81	0,13	0,95
	Sólidos totales, %	17,2	17,3	17,0	0,3	0,72
	LCE <sup>1</sup> , kg/d	2,03	1,96	1,92	0,20	0,92
	Células somáticas, log <sub>10</sub>	5,14	5,16	5,47	0,29	0,67
	Variación de PV, g/d	87 <sup>b</sup>	95 <sup>b</sup>	154 <sup>a</sup>	17	0,02
	Variación de CC-30 d	0,26 <sup>b</sup>	0,40 <sup>ab</sup>	0,45 <sup>a</sup>	0,06	0,05
	Consistencia fecal, 1-4	3,8	3,8	3,7	0,2	0,91
	pH fecal	7,73 <sup>a</sup>	7,55 <sup>b</sup>	7,25 <sup>c</sup>	0,04	0,001
pH urinario	8,27 <sup>a</sup>	8,08 <sup>ab</sup>	7,71 <sup>b</sup>	0,17	0,095	
Manchega	Ingestión total, kg MS/d	2,59	2,54	2,58	0,10	0,91
	Ingestión forraje, kg MS/d	1,74 <sup>a</sup>	1,38 <sup>b</sup>	1,10 <sup>b</sup>	0,07	0,02
	Leche, kg/d	1,43	1,41	1,54	0,09	0,53
	Grasa, %	8,14	8,35	7,46	0,38	0,24
	Proteína, %	6,29	6,66	6,30	0,22	0,39
	Sólidos totales, %	19,1	19,7	18,7	0,4	0,31
	LCE <sup>1</sup> , kg/d	1,50	1,54	1,57	0,08	0,84
	Células somáticas, log <sub>10</sub>	4,86	4,74	4,47	0,25	0,53
	Variación de PV, g/d	74	108	114	25	0,48
	Variación de CC-30 d	0,05	0,26	0,14	0,07	0,14
	Consistencia fecal, 1-4	4,0	3,8	3,6	0,2	0,23
	pH fecal	7,90 <sup>a</sup>	7,55 <sup>b</sup>	7,49 <sup>b</sup>	0,06	0,001
pH urinario	8,30	8,17	8,15	0,09	0,24	

<sup>1</sup>Según INRA (2007): Leche  $\times$  (0.071·Grasa + 0.043·Proteína + 0.2224); En una fila: <sup>a,b,c</sup> $P < 0,05$ .

Por otro lado, el peso vivo de las ovejas aumentó con el nivel de concentrado de la ración, aunque la diferencia sólo fue significativa en el caso de las LC ( $P < 0,015$ ), que aumentaron

2,7 vs. 4,6 kg PV/mes con las raciones MC-BC vs. AC, respectivamente. En las MN, los aumentos fueron de 2,2 vs. 3,3 kg PV/mes ( $P > 0,05$ ), con las raciones BC vs. MC-AC, respectivamente. Estos resultados se confirmaron por la variación de la condición corporal (Tabla 1) e indicaron que, el exceso de la energía por encima de las necesidades de producción, se destinó al aumento del peso y deposición de grasa corporal, sin efectos remarcables en la producción y composición de leche. Debe señalarse además, que el uso de raciones con más de 45% de concentrado (sobre MS) produjo importantes ganancias de peso en las ovejas en ordeño, que podrían acumular más de 10 kg PV durante los meses de lactación posteriores al destete de los corderos.

El nivel del concentrado no tuvo efecto sobre la consistencia fecal, que fue normal, pero sin embargo, el pH fecal disminuyó en los grupos MC y AC de ambas razas ( $P < 0,001$ ; Tabla 1). Esto debió suponer una mayor fermentación en el intestino y el ciego, con modificación de su microbiota y una menor utilización de la proteína microbiana. Por otro lado, se observó una disminución del pH urinario entre los niveles extremos de concentrado en LC (BC vs. AC;  $P < 0,05$ ), lo que indica una mayor acidez metabólica y desmineralización en el caso de las ovejas de alta producción con alto nivel de concentrado.

Como conclusión, no se observaron ventajas productivas al superar el 45% de concentrado en la ración de ovejas lecheras, con riesgos de exceso de peso y posibles efectos en el equilibrio mineral. En consecuencia, la decisión del nivel de concentrado a aplicar en la ración de ovejas lecheras, deberá tomarse según el precio de las materias primas y el estado de reservas corporales.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bocquier, F. & Caja, G. 2001. INRA Prod. Anim. 14:129-140 • DePeters, E.J. & Cant, J.P. 1992. J. Dairy Sci., 75:2043-2070 • Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., De la Fuente, M.A. & Hervás, G. 2008. J. Dairy Sci. 91:3119-3127 • Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., De la Fuente, M.A. & Hervás, G. 2009. J. Dairy Sci. 92:3964-3972 • Morand-Fehr, P., Bas, P., Blanchart, G., Daccord, R., Giger-Reverdin, S., Gihad, E.A., Hadjipanayiotou, M., Mowlem, A., Remeuf, F. & Sauvant, D. 1991. EAAP Publ. 46:209-224 • Pulina, G., Nudda, A., Battacone, G. & Cannas, A. 2006. Animal Feed Sci. and Tech. 131:255-291 • Rémond, B. 1985. Bull. Tech. CRZV Theix, INRA, 62:53-67 • Soita, H.W., Fehr, M., Christensen, D.A. & Mutsvangawa, T. 2005. J. Dairy Sci. 88:2813-2819 • Sutton, J.D. & Morant, S.V. 1989. Livest. Prod. Sci. 23:219-237 • Tufarelli, V., Dario, M. & Laudadio, V. 2009. J. Dairy Res. 76:124-128.

#### EFFECTS OF THE FORAGE TO CONCENTRATE RATIO ON LACTATING DAIRY EWES: 1. LACTATIONAL PERFORMANCES

**ABSTRACT:** The effect of the forage:concentrate ratio (F:C, %) was studied in a total of 72 multiparous Manchega (MN,  $n = 36$ ) and Lacaune (LC,  $n = 36$ ) dairy ewes in mid-lactation. Ewes were allocated in 6 groups and feeding treatments were: AC (40:60), MC (55:45) and BC (70:30). Diets consisted of a total mixed ration fed ad libitum with 0.2 kg/d corn grain fed in the milking parlour. No differences in dry matter intake were detected by treatment, but forage intake decreased 28 and 37% with the AC diets in the LC and MN ewes, respectively ( $P < 0.05$ ). The difference in forage intake was only significant between BC and MC diets in the MN ewes (21%;  $P < 0.05$ ). Milk yield and composition did not vary by treatment, although milk fat content decreased numerically in the highest concentrate diet. Body weight and BCS markedly increased in the LC ewes, but not in the MN, according to their intake and requirements. No effect of concentrate was detected on faeces consistency, although faecal pH decreased when the concentrate increased in both breeds ( $P < 0.001$ ). In conclusion, no more than 45% concentrate (DM basis) was recommended in dairy ewes, the final decision being dependent on the commodities prices and the body reserves of the ewes.

**Keywords:** concentrate, dairy sheep, forage, milk

## EFFECTOS DE LA RELACIÓN FORRAJE A CONCENTRADO EN OVEJAS LECHERAS. 2. PERFIL LIPÍDICO Y RENDIMIENTO QUESERO

Elhadi<sup>1</sup>, A., Minh<sup>2</sup>, L.D.T., Saldo<sup>2</sup>, J., Toral<sup>3</sup>, P.G., Hervás<sup>3</sup>, G. Frutos<sup>3</sup>, P. y Caja<sup>1</sup>, G.

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, <sup>2</sup>Centre Especial de Recerca-Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), XaRTA, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España. <sup>3</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas, Grulleros, León, España. [abdelaali.elhadi@uab.cat](mailto:abdelaali.elhadi@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

La alimentación es uno de los factores que más afectan a la producción y la composición de la leche. De forma general se acepta que la producción de leche y el contenido en proteína aumentan con el nivel del concentrado, mientras que el contenido en grasa disminuye porque se correlaciona negativamente con el balance energético en ganado ovino (Bocquier y Caja, 2001). La calidad físico-química de la leche de oveja está influida por la relación forraje:concentrado (F:C, %) de la ración, lo que tiene repercusión en la cantidad y calidad de los productos lácteos fabricados (Jensen et al., 1991; Michalski et al., 2003). Aunque existen diversos trabajos sobre los efectos de la relación F:C en ovejas Assaf, muchos de ellos se sitúan en el rango de riesgo de acidosis (i.e., 20:80; Gómez-Cortés et al., 2008, 2009), lo que puede alterar las conclusiones. Martini et al. (2010) compararon raciones 60:40 vs. 40:60, en ovejas lecheras Massese, concluyendo que el aumento el concentrado disminuye el contenido en grasa (9%) y aumenta los glóbulos de 3-5  $\mu$  (17%) o de tamaño medio. Los efectos del concentrado en la grasa y el perfil de ácidos grasos (AG) dependen de la naturaleza del concentrado (Gargouri et al., 2006; Gomez-Cortés et al., 2008, 2009), pero en general el concentrado disminuye los valores de mono- (AGMI) y poli- (AGPI) insaturados, incluyendo el CLA. Gómez-Cortés et al. (2011) estudiaron los efectos del nivel de concentrado entre 70:30 y 30:70 en la ración de ovejas Assaf, concluyendo que la producción de leche (15,6%) y contenido en grasa (9%) disminuyen por efecto del concentrado, así como también los AGMI; al contrario, los saturados (AGS) aumentan y los efectos en los AGPI fueron muy variables. Este trabajo completa los datos del anteriormente realizado por Elhadi et al. (2017) y su objetivo fue estudiar la respuesta a 3 niveles de concentrado en la ración, en el perfil de AG de la leche y en las propiedades queseras de la leche, de 2 razas de ovejas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y manejo:** Se utilizaron un total de 72 ovejas lecheras multíparas de raza Manchega (MN, n = 36) y Lacaune (LC, n = 36) ordeñadas a máquina 2 veces/d (Amarre Azul-1, DeLaval, Alcobendas) a mitad de lactación. Los detalles pueden obtenerse en Elhadi et al. (2017).

**Tratamientos experimentales:** El experimento consistió en un diseño 2x3 (raza x ración) y las raciones consistieron en 3 niveles de concentrado (F:C, %):

- Alto concentrado (AC), 40:60%
- Medio concentrado (MC), 55:45%
- Bajo concentrado (BC), 70:30%

**Toma de muestra y análisis medidas:** La producción de leche se controló a cada ordeño y se recogieron muestras representativas de cada grupo de ovejas a los 90 d del experimento.

El perfil de ácidos grasos (AG) de muestras de leche se analizó por cromatografía de gases (Toral et al., 2015) a partir de la grasa separada por centrifugación (1000 x g).

**Rendimiento quesero:** Se utilizó el instrumento óptico de coagulación (Optigraph, Ysebaert, Frépillon, Francia) para simular la fabricación de queso. Los parámetros de coagulación estudiados fueron: el tiempo de coagulación de la cuajada (TCC), que se determinó por el tiempo necesario para obtener el valor máximo de la 1ª derivada de la curva de absorbancia; la tasa de agregación de la cuajada (TAC), que se definió como el valor máximo medido de absorbancia; y la firmeza a 45 min (F45), que se determinó como la diferencia entre el valor de absorbancia a 45 min y el del momento en que todas las muestras se estabilizaron. Para ello, se preparó una solución de coagulante, mezclando 500  $\mu$ L de cuajo de ternero con 4,5 mL de agua destilada diluido, que fue diluida a 1:10 y refrigerada (4 °C). A cada muestra de 10 mL de leche se añadieron 33  $\mu$ L de coagulante y se dejó actuar a 33 °C durante 1 h. Por

otro lado, se determinó también el rendimiento quesero en condiciones de laboratorio (RQL) usando la metodología de Othmane et al. (2002).

**Análisis estadístico:** Los datos se analizaron mediante un modelo mixto mediante PROC MIXED de SAS (v.9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) con los tratamientos como efecto fijo y el animal (en su caso) y el error como aleatorios. Las medias se expresaron como medias mínimo cuadráticas y se separaron mediante PDIFF a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el perfil lipídico de la leche se han resumido en la Tabla 1, en la que solo se han presentado los AG con efectos a  $P < 0,10$ . En el caso de LC, al comparar BC vs. AC, los AGS disminuyeron (1%,  $P < 0,01$ ) mientras que los AGMI y AGPI aumentaron (4 y 12%, respectivamente;  $P < 0,01$ ), en respuesta al aumento del concentrado. Sin embargo, en la MN, semejantes resultados se observaron en la comparación BC vs. MC, de acuerdo con Gomez-Cortés et al. (2011), mientras que fueron contrarios respecto a la comparación anterior BC vs. AC (Tabla 1).

Por otro lado, al aumentar el concentrado, en LC aumentaron los AG  $> 16$  (2%;  $P < 0,05$ ), mientras que en MN disminuyeron (5%;  $P < 0,05$ ). Además, en MN aumentaron los AG  $< 16$  (6%;  $P < 0,05$ ). Todo parece indicar que el efecto del concentrado fue cuadrático y no lineal, lo que deberá ser comprobado, además de depender del nivel de producción. Los cambios en los índices de aterogenicidad fueron irrelevantes.

**Tabla 1.** Efectos de la relación forraje:concentrado en el perfil lipídico<sup>1</sup> (g/100 g AG totales) de la leche de ovejas a mitad de lactación (d 100).

Raza	Item	70:30	55:45	40:60	ESM	P-valor
Lacaune	C4:0	3,30 <sup>a</sup>	3,27 <sup>a</sup>	3,06 <sup>b</sup>	0,01	0,002
	C6:0	2,63 <sup>a</sup>	2,71 <sup>a</sup>	2,53 <sup>b</sup>	0,02	0,016
	C14:0	11,2 <sup>b</sup>	11,6 <sup>a</sup>	11,1 <sup>b</sup>	0,1	0,002
	C16:0	24,3	23,7	23,4	0,2	0,06
	C18:0	9,27	8,82	8,91	0,10	0,09
	<C16	35,6	36,8	35,7	0,3	0,13
	C16	26,1	25,5	25,1	0,2	0,06
	>C16	38,3 <sup>b</sup>	37,8 <sup>b</sup>	39,2 <sup>a</sup>	0,2	0,018
	AGS <sup>2</sup>	70,7 <sup>a</sup>	70,5 <sup>a</sup>	69,1 <sup>b</sup>	0,1	0,002
	AGMI <sup>3</sup>	23,8 <sup>b</sup>	23,7 <sup>b</sup>	24,7 <sup>a</sup>	0,1	0,006
	AGPI <sup>4</sup>	5,50 <sup>c</sup>	5,79 <sup>b</sup>	6,18 <sup>a</sup>	0,04	0,003
Manchega	Índice aterogenicidad <sup>5</sup>	2,53 <sup>a</sup>	2,55 <sup>a</sup>	2,37 <sup>b</sup>	0,01	0,001
	C6:0	2,57	2,74	2,82	0,05	0,089
	C8:0	2,59 <sup>b</sup>	2,81 <sup>a</sup>	2,87 <sup>a</sup>	0,03	0,014
	C10:0	8,17 <sup>b</sup>	9,11 <sup>a</sup>	8,93 <sup>a</sup>	0,09	0,009
	C12:0	4,75 <sup>b</sup>	5,37 <sup>a</sup>	5,11 <sup>a</sup>	0,07	0,020
	C14:0	10,7	11,3	11,2	0,1	0,075
	C16:0	24,3 <sup>a</sup>	23,8 <sup>a</sup>	23,2 <sup>b</sup>	0,1	0,013
	C18:0	9,14	9,28	8,91	0,06	0,051
	<C16	35,0 <sup>b</sup>	37,4 <sup>a</sup>	37,02 <sup>a</sup>	0,2	0,012
	C16	26,2 <sup>a</sup>	25,5 <sup>b</sup>	24,93 <sup>c</sup>	0,1	0,010
	>C16	38,8 <sup>a</sup>	37,1 <sup>c</sup>	38,07 <sup>b</sup>	0,1	0,007
Manchega	AGS <sup>2</sup>	70,0 <sup>b</sup>	71,7 <sup>a</sup>	70,2 <sup>b</sup>	0,1	0,001
	AGMI <sup>3</sup>	24,4 <sup>a</sup>	23,0 <sup>b</sup>	24,1 <sup>a</sup>	0,1	0,001
	AGPI <sup>4</sup>	5,60 <sup>a</sup>	5,43 <sup>b</sup>	5,67 <sup>a</sup>	0,03	0,021
	Índice aterogenicidad <sup>5</sup>	2,43 <sup>b</sup>	2,63 <sup>a</sup>	2,46 <sup>b</sup>	0,01	0,002

<sup>1</sup>Se presentan los AG con efecto  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup>Ácidos grasos saturados; <sup>3</sup>Ácidos grasos mono-insaturados; <sup>4</sup>Ácidos grasos poli-insaturados; <sup>5</sup>  $(C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0)/(AGMI + AGPI)$ . Para una fila, distinto superíndice indica diferencias al  $P < 0,05$ .

**Tabla 2.** Efectos de la relación forraje:concentrado en el rendimiento quesero de ovejas lecheras a mitad de lactación.

Raza	Item	70:30	55:45	40:60	ESM	P valor
Lacaune	TCC <sup>1</sup> , min	15,5	14,6	15,2	2,3	0,95
	TAC <sup>2</sup>	2,64	2,93	3,14	0,44	0,69
	F45 <sup>3</sup>	34,8	33,6	37,0	3,7	0,80
	RQL <sup>4</sup> , g/mL	0,52	0,49	0,50	0,03	0,82
Manchega	TCC, min	18,5	15,3	16,9	1,8	0,45
	TAC	2,74	4,04	3,40	0,36	0,052
	F45	38,9 <sup>b</sup>	47,7 <sup>a</sup>	42,4 <sup>ab</sup>	2,4	0,048
	RQL, g/mL	0,59	0,66	0,57	0,04	0,30

<sup>1</sup>Tiempo de coagulación de la cuajada; <sup>2</sup>Tasa de agregación de la cuajada; <sup>3</sup>Firmeza a 45 min; <sup>4</sup>Rendimiento quesero en laboratorio; En una fila, medias con distinto superíndice indican diferencias a  $P < 0,05$ .

Respecto a la transformación quesera (Tabla 2), no se observaron efectos del concentrado en el caso de la LC ( $P = 0,69$  a  $0,95$ ). Sin embargo, al comparar los tratamientos BC y MC en el caso de la MN, el valor de F45 aumentó (23%;  $P < 0,05$ ) y la RCA tendió a aumentar (47%;  $P < 0,10$ ). En conclusión, no se observaron ventajas de usar alto niveles de concentrado en la producción de queso de oveja.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bocquier, F. & Caja, G. 2001. INRA Prod. Anim. 14:129-140
- Elhadi, A., Caja, G., Salama, A.A.K., Mendivil, M., Durán, E. & Albanell, E. 2017. XVII Jornadas de Producción Animal, AIDA, Zaragoza
- Gargouri, A., Caja, G., Casals, R. & Mezghani, I. 2006. Small Rumin. Res. 66:1-10
- Gómez-Cortés, P., De la Fuente, M.A., Toral, P.G., Frutos, P., Juárez, M. & Hervás, G. 2011. J. Dairy Sci. 94:4578-4588
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., De la Fuente, M.A. & Hervás, G. 2008. J. Dairy Sci. 91:3119-3127
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., De la Fuente, M.A. & Hervás, G. 2009. J. Dairy Sci. 92:3964-3972
- Jensen, R.G., Ferris, A.M. & Lammi-Keefe, C.J. 1991. J. Dairy Sci. 74:3228-3243
- Martini, M., Liponi, G.B. & Salari, F. 2010. J. Dairy Res. 77:239-244
- Michalski, M.C., Gassi, J.Y., Famelart, M.E., Leconte, N., Camier, B., Michel, F. & Briard, V. 2003. Lait 83:131-143
- Othmane, M.H., De La Fuente, L.F., Carriedo, J.A. & San Primitivo, F. 2002. J. Dairy Sci. 85:2692-2698
- Toral, P.G., Hervás, G., Carreño, D. & Frutos, P. 2015. J. Dairy Sci. 99:1133-1144.

#### EFFECTS OF THE FORAGE TO CONCENTRATE RATIO ON LACTATING DAIRY EWES: 2. FATTY ACID PROFILE AND CHEESE-YIELDING FEATURES

**ABSTRACT:** The effect of the forage:concentrate ratio (F:C, %) on the fatty acid (FA) profile and cheese yielding features was studied in a total of 72 Manchega (MN,  $n = 36$ ) and Lacaune (LC,  $n = 36$ ) dairy ewes in mid-lactation. F:C ratios were: 40:60 (AC), 55:45 (MC) and 70:30 (BC), and diets consisted of a total mixed ration fed *ad libitum*. Comparing BC vs. AC in the LC ewes, saturated FA decreased (1%,  $P < 0.01$ ) whereas mono-unsaturated FA and poly-unsaturated FA increased (4 and 12%, respectively;  $P < 0.01$ ). Similar results were obtained in the comparison of BC vs. MC in MN, but on the contrary of observed for BC vs. AC. On the other hand, when the concentrate added increased, the FA > C16 increased (2%;  $P < 0.05$ ) in LC ewes, while the FA > C16 decreased and the FA < C16 increased (-5% and 6%;  $P < 0.05$ , respectively). Changes in atherogenicity index were irrelevant. No effect of the F:C ratio was detected on rennet coagulation time, rate of curd aggregation and laboratory cheese yield in both breeds, although, firmness at 45 min increased between BC and MC in the MN ewes (23%;  $P < 0.05$ ). In conclusion, no benefits in cheese traits were detected when the level of concentrate was increased above the requirements in the diet of dairy ewes.

**Keywords:** cheese, dairy sheep, fatty acid, forage:concentrate ratio

## VARIABILIDAD INDIVIDUAL DE LA ACIDOSIS RUMINAL EN CABRAS LECHERAS

Castro-Costa<sup>1</sup>, A., Caja<sup>1</sup>, G., Dhumez<sup>2</sup>, O., Tessier<sup>2</sup>, J., Eymard<sup>2</sup>, A. y Giger-Reverdin, S.<sup>2</sup>

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

Espanya <sup>2</sup>INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, UMR Modélisation Systémique

Appliquée aux Ruminants, Paris, Francia. [gerardo.caja@uab.es](mailto:gerardo.caja@uab.es)

### INTRODUCCIÓN

La acidosis ruminal subaguda (SARA) es un síndrome complejo asociado a la ingestión de carbohidratos fermentescibles y que se caracteriza por una rápida producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y la acumulación de ácido láctico. La acidosis no es sólo un problema de pH en el rumen y compromete la salud, bienestar y la cantidad y calidad de la producción de los rumiantes, por lo que es necesaria su rápida detección y la aplicación de medidas correctoras. El estudio de del medio ruminal se realiza habitualmente con sondas, cánulas o agujas de ruminocentesis, lo que plantea problemas de representatividad y discontinuidad de las medidas (e.g., pH, AGV, microbiota), así como del bienestar de los animales.

La reciente implementación de las Tecnologías de la Información y la Comunicación en ganadería ha conducido al nuevo concepto de “Ganadería de precisión”, cuyo objetivo es el seguimiento automático e individualizado de los animales para optimizar los procesos de producción, salud y bienestar (Caja et al., 2016). Entre las distintas variables que pueden ser monitorizadas por las tecnologías disponibles, se incluye la medida continua del pH y temperatura del rumen mediante bolos ruminales equipados con sensores. Estos dispositivos fueron utilizados previamente por Castro-Costa et al. (2015) en cabras para evaluar los efectos en la temperatura y pH ruminal de raciones con distinta relación forraje:concentrado y de condiciones de estrés térmico.

Trabajos previos realizados por Desnoyers et al. (2011) y Giger-Reverdin et al. (2014) en cabras lecheras han puesto de manifiesto marcadas diferencias individuales en el comportamiento de ingestión de la ración y en las condiciones ruminales resultantes, en cabras lecheras alimentadas con raciones acidógenas. El objetivo del presente trabajo fue el estudio de la variabilidad de la respuesta a la acidosis de cabras lecheras de alta producción mediante el empleo de cánulas y bolos ruminales inalámbricos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales:** Se utilizaron 8 cabras lecheras ( $66,4 \pm 3,1$  kg PV) de la Granja Experimental del INRA-AgroParisTech en Thiverval-Grignon (Paris, FR), provistas de cánulas ruminales (modelo INRA) y a inicio de lactación ( $93 \pm 2$  d;  $3,8 \pm 0,3$  L/d). Las cabras se alojaron en cajas metabólicas individuales ( $1,2 \times 0,7$  m), equipadas con básculas para el registro continuo del consumo de alimento y agua, y se ordeñaron (7 y 15 h) en una sala rotativa x10 con medidores electrónicos (Gabard système, Decrolab; Moutiers /s Argenton, FR).

**Diseño experimental:** Consistió en 2 períodos (P1, d 1-12; P2, d 13-24 d) en los que se administraron, *ad libitum* y consecutivamente, 2 raciones completas (CO, control; AC, acidógena) con distinta relación forraje:concentrado (% sobre MS):

- P1-CO (80:20): 28% alfalfa deshidratada, 24% heno de pradera, 28% pulpa de remolacha, 15% concentrado comercial (Fluvialac, Agralys Aliment, Châteaudun, FR) y 5% torta de colza (0,83 UFL/kg, 94 g/kg PDIE y 96 g/kg PDIN; sobre MS).
- P2-AC (50:50): 17% alfalfa deshidratada, 15% heno de pradera, 28% pulpa de remolacha, 40% concentrado comercial Fluvialac (0,95 UFL/kg, 104 g PDIE/kg y 110 g PDIN/kg).

Las raciones se ofrecieron 2 veces/d, aproximadamente 1:30 h después de cada ordeño, distribuyendo los aportes de acuerdo con el intervalo entre ordeños. El cambio de ración CO-AC se realizó al final del ordeño p.m. del d 12 y sin ningún tipo de adaptación previa.

**Bolos ruminales inalámbricos:** Los bolos ruminales utilizados ( $n = 8$ ; KB1001, Kahne, Auckland, Nueva Zelanda), descritos previamente por Castro-Costa et al. (2015), se programaron para la medida del pH y la temperatura a intervalos de 15 min durante 35 d y se calibraron en agua desionizada a  $40,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  y con soluciones patrón de pH 4,01 y 7,00



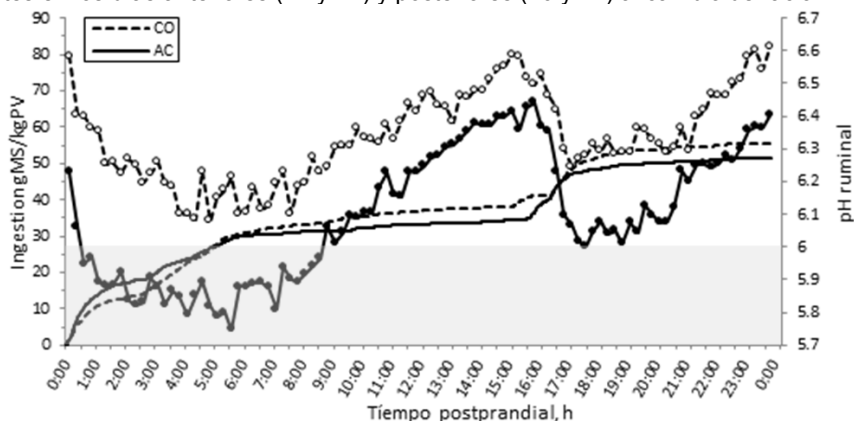
(pH25, Crison, Barcelona). Los bolos se introdujeron en el rumen de las cabras por medio de las cánulas al inicio de la experiencia (d 1) y la descarga de datos se realizó al final del P2.

**Medidas y toma de muestras:** La ingestión de ración y agua, se registró de forma continua diariamente a lo largo de todo el experimento, a la vez que se tomaron muestras de la ración. Una vez a la semana, se tomaron muestras de sangre de la yugular, para análisis de plasma, y de líquido ruminal a través de las cánulas, para la medida del pH con pH-metro portátil (PHM 220-Lab pH Meter, Hach, FR) y análisis de microbiota. Las muestras se congelaron para su análisis y los valores de pH se utilizaron para corregir la deriva de los bolos ruminales.

**Análisis estadístico:** Los datos de pH y temperatura de los bolos se procesaron mediante Solver de Excel y se ajustaron al modelo logístico según Castro-Costa et al. (2015). Para las comparaciones se utilizaron los procedimientos MIXED para medidas repetidas y GLM de SAS v.9.4(SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA) considerando la ración como efecto fijo y el animal y el error como aleatorios. Las medias se separaron mediante el test PDIFF a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Uno de los sensores mostró, desde el inicio del experimento, valores de pH y temperatura fuera de rango y sus datos se eliminaron (12,5%). El resto de valores obtenidos mediante pH-metro y bolos ruminales mostraron alta correlación ( $R^2 = 0,86$ ;  $P < 0,001$ ). La Figura 1 muestra la evolución de la ingestión de materia seca y del pH ruminal medio de las 7 cabras restantes en los días anteriores (-2 y -1) y posteriores (10 y 14) al cambio de ración.



**Figura 1.** Evolución diaria de la ingestión total y del pH ruminal medios de las cabras con la ración control (---○---, CO) y acidógena (—●—, AC). El área sombreada indica pH < 6,0.

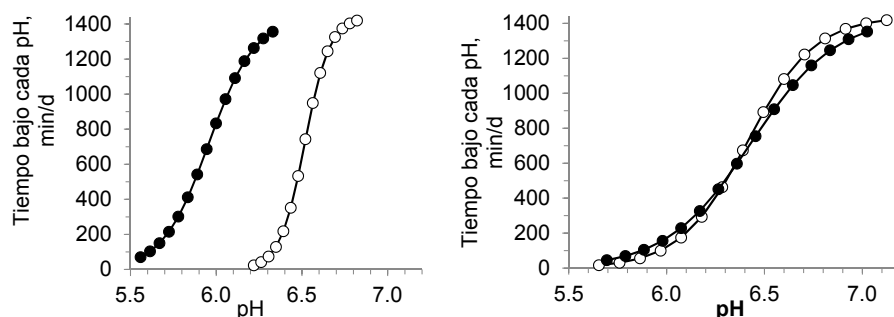
Pese a la diferente evolución del pH ruminal diario (Figura 1), con una diferencia media de 0,20 unidades (CO vs. AC,  $6,32 \pm 0,02$  vs.  $6,12 \pm 0,03$ ;  $P < 0,01$ ), la ingestión total diaria fue semejante entre raciones (CO vs. AC,  $55,3 \pm 9,8$  vs.  $51,3 \pm 6,5$  g MS/kg PV;  $P = 0,95$ ). Sin embargo, como se aprecia en la Figura 1, las fases rápidas de ingestión se relacionaron con fuertes caídas de pH (CO,  $R^2 = 0,87$ ; AC,  $R^2 = 0,77$ ;  $P < 0,001$ ) y, como resultado, se produjo una parada de la ingestión a fin de frenar los efectos fisiológicos de la SARA.

La duración de las paradas de ingestión (mesetas) fue más larga al aumentar la cantidad de ración ofrecida (tarde, 2/3; mañana, 1/3) y al disminuir el pH ruminal. Los valores del nadir de pH postprandial por la tarde (CO vs. AC,  $6,08 \pm 0,02$  vs.  $5,75 \pm 0,06$ ;  $P < 0,001$ ) fueron más bajos que por la mañana (CO vs. AC,  $6,25 \pm 0,06$  vs.  $6,00 \pm 0,07$ ;  $P < 0,001$ ). Como se puede observar en la Fig. 1, sólo en la ración AC el valor de pH estuvo por debajo de pH = 6,0, que es el umbral máximo aceptado para el inicio de la SARA. Además, en ambas raciones, el pH se elevó durante los periodos en los que no hubo ingestión (Figura 1), lo que se atribuyó a la rumia y secreción de saliva con efecto tampón.

El ajuste individual de las curvas de pH y temperatura, realizado mediante el modelo

logístico, mostró resultados satisfactorios en todos los casos ( $R^2 = 0,97$  a  $0,99$ ) pero, en el caso de la temperatura, las diferencias entre modelos no permitieron distinguir entre CO y AC ( $P > 0,05$ ). Sin embargo, en los modelos de pH, se observaron marcadas diferencias individuales entre raciones según las cabras (Figura 2). Así, según la semejanza o disparidad de los modelos para CO y AC, se clasificaron las cabras como sensibles (AC < CO; 3/7, 43%) o resistentes (AC = CO; 4/7, 57%) a la acidosis ruminal, tal como se ilustra en la Figura 2 para 2 cabras extremas. En la sensible, el pH del rumen se mantuvo < 6,0 durante más de 720 min/d (50% del día), mientras que en la resistente el tiempo fue inferior a los 200 min (14% del día).

En conclusión, se confirma la importancia del comportamiento alimentario individual de las cabras en el desarrollo de la acidosis ruminal subaguda, lo que tiene especial importancia y puede ser usado en el diseño de estrategias de alimentación en la práctica ganadera.



**Figura 2.** Ejemplos de ajustes del pH ruminal al modelo logístico en el caso de una cabra sensible (izquierda) y otra resistente (derecha) a la acidosis ruminal antes (○, Control en d 11 y 12 de P1) y después (●, Acidógena en d 20 y 24) del cambio de ración.

**Agradecimientos:** Trabajo realizado mediante una beca de la Unión Europea (COST Action FA1308: DairyCare) a Andreia Castro-Costa como ECI (investigador de carrera temprana).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caja, G., Castro-Costa, A. & Knight, C.H. 2016. J. Dairy Res. 83:136-147
- Castro-Costa, A., Salama, A.A.K., Caja, G., Moll, X. & Aguiló, J. 2015. J. Dairy. Sci. 98:4646-4658
- Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Sauvant, D. & Duvaux-Ponter, C., 2011. J. Dairy Sci. 94:842-852
- Giger-Reverdin, S., Rigalma, K., Desnoyers, M., Sauvant, D. & Duvaux-Ponter, C. 2014. J. Dairy Sci. 97:4367-4378.

### INDIVIDUAL VARIABILITY OF RUMEN ACIDOSIS IN DAIRY GOATS

**ABSTRACT:** Rumen bolus with temperature and pH sensors were used to detect subacute rumen acidosis in rumen cannulated dairy goats fed control (CO) or acidogenic (AC) diets. Rumen pH values by pH-meter and sensors correlated ( $R^2 = 0.86$ ;  $P < 0,001$ ). Although differences were detected on the pattern and daily average of rumen pH (CO vs. AV,  $6.32 \pm 0.02$  vs.  $6.12 \pm 0.03$ ;  $P < 0.01$ ), total feed intake did not vary between CO and AC diets ( $53 \pm 7$  g MS/kg PV, on average;  $P = 0.954$ ). Despite the high proportion of concentrate in the AC diet (50%), rumen pH spent short time under pH 6.0. Moreover, feed intake reached plateaus when the pH were closer to the a.m. or p.m. nadirs. Correlations between intake and pH were high ( $R^2 = 0.77$  to  $0.87$ ) during the pH falling periods. The similarity of differences in the logistic models of pH of each goat when fed CO and AC diets, showed high individual variability allowing classifying the goats as sensible or resistant to rumen acidosis. This can be useful in goat feeding practice.

**Keywords:** rumen, pH, temperature, sensor

## DEPRESIÓN DE LA GRASA LÁCTEA EN OVEJAS QUE CONSUMEN LÍPIDOS DE ORIGEN MARINO: 1. ¿PUEDEN LOS ÁCIDOS GRASOS ANTILOPOGÉNICOS DE LA LECHE EXPLICAR LA VARIACIÓN INDIVIDUAL?

Rodríguez-López, L., Hervás, G., Toral, P.G., Mendoza, A.G., Belenguer, A., Fernández, M. y Frutos, P.

Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España. [p.frutos@csic.es](mailto:p.frutos@csic.es)

### INTRODUCCIÓN

La suplementación de la dieta de ovejas con lípidos de origen marino permite mejorar las propiedades saludables de la leche mediante una modificación de su perfil de ácidos grasos (AG) (incluyendo, p.ej., una reducción de las concentraciones de los aterogénicos 12:0, 14:0 y 16:0 y un aumento de las de vaccénico, ruménico-CLA y n-3 de cadena muy larga, como el DHA; Capper et al., 2007; Bichi et al., 2013b). Sin embargo, esta estrategia de alimentación produce el denominado síndrome de baja grasa en la leche (MDF por sus siglas en inglés; Toral et al., 2015, 2016) que invalida su aplicación en condiciones prácticas de explotación. Entender este síndrome, para poder mitigarlo, es por lo tanto una prioridad en esta línea de investigación.

La MFD se ha relacionado con la presencia en la leche de ciertos metabolitos de la biohidrogenación ruminal (BH) con carácter antilipopogénico. Aunque dicho carácter solo se ha demostrado inequívocamente en el caso del *trans*-10 *cis*-12 CLA, en la actualidad se conocen algunos más a los que también se les atribuye esa propiedad (Bauman et al., 2011; Kairenius et al., 2015; Toral et al., 2016). Por otra parte, diversos estudios han mostrado una amplia variación en la respuesta individual en términos de MFD, con caídas de la grasa muy acusadas en algunas ovejas y mucho menores en otras (Bichi et al., 2013a,b).

Así pues, este trabajo se realizó en ovejas lecheras para estudiar la siguiente hipótesis: las diferencias individuales en la depresión de la grasa láctea en respuesta al consumo de aceite de pescado estarían relacionadas con el perfil de ácidos grasos potencialmente antilipopogénicos de la leche.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizaron 15 ovejas de raza assaf que al inicio del ensayo estaban en el día  $48 \pm 1,4$  posparto y en la lactación  $2,4 \pm 0,42$ .

Los animales recibieron ad libitum una ración mixta completa basada en heno de alfalfa y un concentrado (relación F:C 50:50), sin ninguna suplementación (grupo control; n=5) o suplementada con 20 g de aceite de pescado/kg MS (grupo MFD; n=10). Para seleccionar los 10 animales MFD se había partido de un total de 22, de los cuales se eligieron 5 que mostraron una elevada MFD en respuesta a la adición de aceite de pescado a la dieta (RESPO+) y 5 cuya respuesta fue más leve (RESPO-).

Tras una adaptación a la dieta control y justo antes de recibir esta o la suplementada, durante 3 días consecutivos se midió la producción de leche y se recogieron muestras de cada oveja, proporcionales a la producción de la mañana y de la tarde. Una muestra se conservó con bronopol y se empleó para determinar su contenido de grasa mediante espectrometría de infrarrojos. En otra muestra se analizó el perfil lipídico mediante cromatografía de gases (Shingfield et al., 2003, Toral et al., 2016), con especial atención a los metabolitos derivados de la BH con carácter potencialmente saludable o perjudicial para los consumidores o bien antilipopogénico (ver Tablas 1 y 2). Después de un mes con las dos dietas, se volvió a repetir el proceso otros 3 días consecutivos (i. e., el 31, 32 y 33).

Los resultados se analizaron mediante un ANCOVA, utilizando como covariable los datos obtenidos al inicio del experimento, con el procedimiento MIXED del SAS 9.4 (SAS Inst. Inc., EE. UU.). Para comparar las medias se usaron dos contrastes ortogonales: Control vs. MFD y RESPO- vs. RESPO+.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la Tabla 1, la suplementación de la dieta con aceite de pescado no afectó a la producción de leche ( $P>0,10$ ) pero mejoró su perfil lipídico. Entre los cambios, cabría destacar la caída del porcentaje de los principales AG aterogénicos (i. e., 12:0, 14:0 y 16:0) e incrementos del *cis*-9 *trans*-11 CLA, del ácido  $\alpha$ -linolénico, de AG n-3 de cadena muy

larga (e. g., EPA, DPA y DHA) o de los insaturados y poliinsaturados totales. La reducción del ácido oleico también era esperada dada la conocida inhibición del último paso de la BH causada por los aceites de origen marino, lo que reduce la cantidad de esteárico disponible y, consiguientemente, la síntesis de oleico en la glándula mamaria (Shingfield et al., 2010; Toral et al., 2016). A su vez, también previsto, el consumo de aceite de pescado redujo tanto la concentración de grasa como su producción. La depresión de la grasa láctea fue de un 25,4% en el grupo de ovejas más sensibles (RESPO+) y de solo un 7,6% en el RESPO- ( $P < 0,001$ ). Sin embargo, entre estos dos grupos (RESPO+ vs RESPO-), apenas se detectaron diferencias en los demás parámetros estudiados.

**Tabla 1.** Producción de leche y grasa (g/d) y porcentaje de grasa y de algunos ácidos grasos (g/100 g AG) potencialmente perjudiciales o saludables en ovejas lecheras alimentadas con una dieta control (CON) o suplementada con aceite de pescado (MFD) y que muestran una acusada (RESPO+) o ligera (RESPO-) depresión de la grasa láctea.

	Control	RESPO-	RESPO+	eed <sup>1</sup>	CON vs. MFD <sup>2</sup>	RESPO- vs. RESPO+ <sup>2</sup>
Producción leche (g/d)	2587	2697	2696	151,5	0,420	0,993
Grasa (%)	5,87	5,42	4,38	0,153	<0,001	<0,001
Grasa (g/d)	152,4	143,3	117,9	9,15	0,014	0,018
12:0 + 14:0 + 16:0	45,98	42,35	42,67	1,131	0,003	0,779
18:0	7,29	2,15	1,26	0,517	<0,001	0,114
<i>cis</i> -9 18:1	12,11	7,52	5,86	0,936	<0,001	0,103
<i>trans</i> -11 18:1	0,59	5,06	5,45	0,755	<0,001	0,597
18:3n-3	0,70	0,78	0,82	0,029	0,002	0,155
<i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11 CLA	0,34	2,57	2,45	0,254	<0,001	0,629
20:5n-3	0,05	0,40	0,44	0,049	<0,001	0,440
22:5n-3	0,09	0,97	0,87	0,152	<0,001	0,501
22:6n-3	<0,01	0,73	1,09	0,195	<0,001	0,089
Insaturados totales	21,71	29,15	28,95	0,952	<0,001	0,839
PUFA totales	4,49	9,31	9,54	0,375	<0,001	0,55

<sup>1</sup>eed = error estándar de la diferencia. <sup>2</sup>Nivel de significación ( $P$ )

Los ácidos grasos con demostrado o potencial carácter antilipogénico se presentan en la Tabla 2. Como ya se ha mencionado, únicamente se reconocen propiedades inequívocamente antilipogénicas al *trans*-10 *cis*-12 CLA, aunque su papel en el ovino lechero no parece ser determinante, al contrario de lo que ocurre en el vacuno (Bauman et al., 2011; Carreño et al., 2016). Solo este AG mostró diferencias significativas entre RESPO- y RESPO+ pero, sorprendentemente, el aumento fue superior en el primero. Dada su poca relevancia en ovejas, y su baja concentración y alta variabilidad, no puede descartarse que esta diferencia sea meramente numérica y no tenga un alcance biológico.

Entre los AG a los que se atribuye un carácter potencialmente antilipogénico, hace años que se trabaja con el *trans*-9 *cis*-11 CLA o el *trans*-10 18:1, pero los resultados aún no son concluyentes (Kadegowda et al., 2009; Shingfield et al., 2010). En nuestro caso, ambos aumentaron significativamente en el grupo MFD (especialmente el *trans*-10 18:1), pero sin variaciones entre RESPO- y RESPO+ ( $P > 0,10$ ).

En trabajos más recientes se ha empezado a especular con la posible implicación de otros AG que en muchas ocasiones no aparecían en los perfiles lipídicos, tales como el *cis*-9 16:1 o el *cis*-11 18:1 (Kairenius et al., 2015; Toral et al., 2015). También se sospecha un papel en la MFD del *trans*-10 *cis*-15 18:2, metabolito intermedio de la BH del  $\alpha$ -linolénico que en las condiciones cromatográficas empleadas coeluye con el *trans*-11 *cis*-15 18:2 (Alves y Bessa, 2014; Kairenius et al., 2015). De forma similar, concentraciones más elevadas de algunos cetoácidos suele ser una característica común en animales con MFD (Bichi et al., 2013b; Carreño et al., 2016). Todos estos AG mostraron un incremento significativo en la

comparación Control vs. MFD. No obstante, con la citada excepción del *trans*-10 *cis*-12 CLA, sus valores fueron muy similares en los grupos RESPO- y RESPO+.

**Tabla 2.** Porcentaje de ácidos grasos potencialmente antilipogénicos (g/100 g AG) en ovejas alimentadas con una dieta control (CON) o suplementada con aceite de pescado (MFD) y que muestran una acusada (RESPO+) o ligera (RESPO-) depresión de la grasa láctea.

	Control	RESPO-	RESPO+	eed <sup>1</sup>	CON vs. MFD <sup>2</sup>	RESPO- vs. RESPO+ <sup>2</sup>
<i>cis</i> -9 16:1	0,67	1,07	1,12	0,079	<0,0001	0,5323
<i>trans</i> -10 18:1	0,05	1,00	1,47	0,294	0,0007	0,1355
<i>cis</i> -11 18:1	0,36	0,75	0,79	0,038	<0,0001	0,2413
<i>trans</i> -11 <i>cis</i> -15 18:2 <sup>3</sup>	0,06	0,37	0,46	0,050	<0,0001	0,1102
<i>trans</i> -9 <i>cis</i> -11 CLA	0,01	0,04	0,05	0,009	0,0007	0,7458
<i>trans</i> -10 <i>cis</i> -12 CLA	<0,01	0,02	0,01	0,002	<0,0001	0,0057
10-oxo-18:0	0,02	0,37	0,37	0,035	<0,0001	0,9939

<sup>1</sup>eed = error estándar de la diferencia. <sup>2</sup>Nivel de significación (P) <sup>3</sup>Coeluye con *trans*-10 *cis*-15 18:2.

Por lo tanto, aunque sea necesario continuar investigando al respecto, los resultados de esta prueba nos obligan a rechazar la hipótesis inicial y concluir que las diferencias individuales en la MFD en respuesta al consumo de aceite de pescado no parecen estar relacionadas con el perfil de ácidos grasos potencialmente antilipogénicos de la leche.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Alves, S.P., et al. 2014. *Lipids* 49: 527-541. • Bauman, D.E., et al. 2011. *Ann. Rev. Nutr.* 31: 299-319. • Bichi, E., et al. 2013a. *Anim. Feed Sci. Technol.* 186: 36-44. • Bichi, E., et al. 2013b. *J. Dairy Sci.* 96: 524-532. • Capper, J. L., et al. 2007. *Animal* 1: 889-898. • Carreño, D., et al. 2016. *J. Dairy Sci.* 99: 7971-7981. • Kairenius, P., et al. 2015. *J. Dairy Sci.* 98: 5653-5672. • Kadegowda, A.K.G., et al. 2009. *J. Dairy Sci.* 92: 4276-4289. • Shingfield, K.J., et al. 2003. *Anim. Sci.* 77: 165-179. • Shingfield, K.J., et al. 2010. *Animal* 4: 1140-1166. • Toral, P.G., et al. 2015. *Anim. Feed Sci. Technol.* 210: 66-73. • Toral, P.G., et al. 2016. *J. Dairy Sci.* 99: 1133-1144.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte del Proy. AGL2014-54587; L. Rodríguez-López disfruta de una beca predoctoral FPI y P.G. Toral de un contrato Ramón y Cajal, todos ellos del MINECO y con cofinanciación del FSE.

#### MILK FAT DEPRESSION IN DAIRY EWES FED MARINE LIPIDS: MAY MILK ANTILOPOGENIC FATTY ACID PROFILE EXPLAIN THE INDIVIDUAL VARIATION?

**ABSTRACT:** This study was conducted in dairy sheep to test the hypothesis that the milk concentration of antilipogenic fatty acids (FA) may account for individual variations in marine lipid-induced milk fat depression (MFD). We used fifteen ewes receiving a total mixed ration supplemented with 0 (control; n=5) or 20 g of fish-oil/kg DM [n=10; with animals divided in those showing a strong (RESPO+, n=5) or slight (RESPO-) MFD]. Milk production and composition, and milk FA profile were recorded for 3 consecutive days before and after (i.e., days 31, 32 and 33) treatments. Milk production was not affected by the diets (P>0.10) but milk fat concentration was decreased up to 25.4% in RESPO+ and 7.6% in RESPO- (P<0.0001). Consumption of the fish oil diet enhanced (P<0.01) milk content of both potentially healthy FA (e.g., *cis*-9 *trans*-11 CLA,  $\alpha$ -linolenic acid, very long chain n-3 FA and total PUFA) and antilipogenic FA (e.g., *cis*-9 16:1, *trans*-10 and *cis*-11 18:1, *trans*-10 *cis*-15 18:2, *trans*-9 *cis*-11 and *trans*-10 *cis*-12 CLA, and 10-oxo-18:0). However, differences were hardly detected between RESPO- and RESPO+, which obliges to reject the hypothesis.

**Keywords:** fish oil supplementation, lipogenesis, sheep, *trans* fatty acid.

## DEPRESIÓN DE LA GRASA LÁCTEA EN OVEJAS QUE CONSUMEN LÍPIDOS DE ORIGEN MARINO: 2. ¿PUEDE LA ABUNDANCIA DE ARNm DE GENES IMPLICADOS EN LA LIPOGÉNESIS MAMARIA EXPLICAR LA VARIACIÓN INDIVIDUAL?

Rodríguez-López, L., Frutos, P., Toral, P.G., Mendoza, A.G., Fernández, M. y Hervás, G. Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España. p.frutos@csic.es

### INTRODUCCIÓN

La adición de una pequeña cantidad de lípidos de origen marino (p. ej., aceite de pescado o microalgas) a la dieta de ovejas en lactación permite mejorar las propiedades saludables de la grasa láctea pero produce el denominado síndrome de baja grasa en la leche (MFD), lo cual invalida su aplicación en condiciones prácticas de explotación (Capper et al., 2007; Bichi et al., 2013b; Toral et al., 2016). Sin embargo, la depresión de la grasa presenta una variación individual muy elevada, de modo que es muy severa en algunas ovejas y mucho más ligera en otras (Bichi et al., 2013a,b).

Aunque los trabajos en pequeños rumiantes son aún muy escasos, algunos han mostrado que este tipo de MFD está mediado por mecanismos transcripcionales, concretamente por la represión de ciertos genes implicados en el metabolismo lipídico en la glándula mamaria. Así, por ejemplo, se ha detectado una reducción significativa de la abundancia de ARNm de *ACSS2*, *ACACA*, *FASN*, *LPL*, *LPIN1*, *INSIG1* o *SREBF1* en ovejas con depresión de la grasa láctea (Carreño et al., 2016; Toral et al., 2016).

Por lo tanto, se planteó la siguiente hipótesis: diferencias en la regulación transcripcional de la lipogénesis mamaria podrían ser la causa de la distinta intensidad de MFD mostrada por el ovino cuando consume lípidos marinos. Este experimento se realizó pues para comprobar dicha hipótesis, con el objetivo final de profundizar en el conocimiento de este síndrome, lo cual se considera crucial para poder llegar a evitarlo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizaron las mismas 15 ovejas del experimento que se describe en el primer trabajo de Rodríguez-López et al. (2017); es decir, 5 control, 5 RESPO- y otras 5 RESPO+.

Igualmente, una vez transcurrido el periodo de adaptación y antes de recibir las dos dietas (control o suplementada con 20 g de aceite de pescado/kg MS), durante 2 días consecutivos se tomaron muestras de leche de cada animal para extraer ARN de las células somáticas (como alternativa a la realización de biopsias de tejido mamario, tal y como se expone en Toral et al., 2016). Después de aprox. un mes con las dos dietas, se volvió a repetir el proceso otros 2 días (i. e., el 34 y 35).

En el procedimiento se siguió el protocolo recogido en Suárez-Vega et al. (2015) y Toral et al. (2016) de inyección de oxitocina, limpieza exhaustiva de la ubre y los pezones, y extracción del ARN. Los valores RIN (integridad del ARN) de las muestras fueron  $7,8 \pm 0,10$ . Los fragmentos de ADN complementario sintetizados a partir del ARN se analizaron mediante qPCR (7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems), utilizando cebadores específicos para los siguientes genes:

- *acetil-CoA sintetasa 2 (ACSS2)*: implicado en la activación de ácidos grasos (AG),
- *acetil-CoA carboxilasa  $\alpha$  (ACACA)* y *AG sintasa (FASN)*: implicados en la síntesis de AG de novo,
- *lipoproteinlipasa (LPL)* y *proteína 3 de unión de AG (FABP3)*: implicados en la captación y transporte intracelular de AG,
- *delta-9 desaturasa (SCD)*: implicado en la desaturación delta-9 de los AG,
- *lipina 1 (LPIN1)* y *glicerol-3-fosfato aciltransferasa 4 (GPAT4)*: implicados en la esterificación de los AG al glicerol,
- *factor 1 de unión a elementos reguladores del esteroil (SREBF1)*, *gen 1 inducido por insulina (INSIG1)* y *activador del corte de SREBF1 (SCAP)*, factores de transcripción potencialmente implicados en la regulación de los genes anteriores.

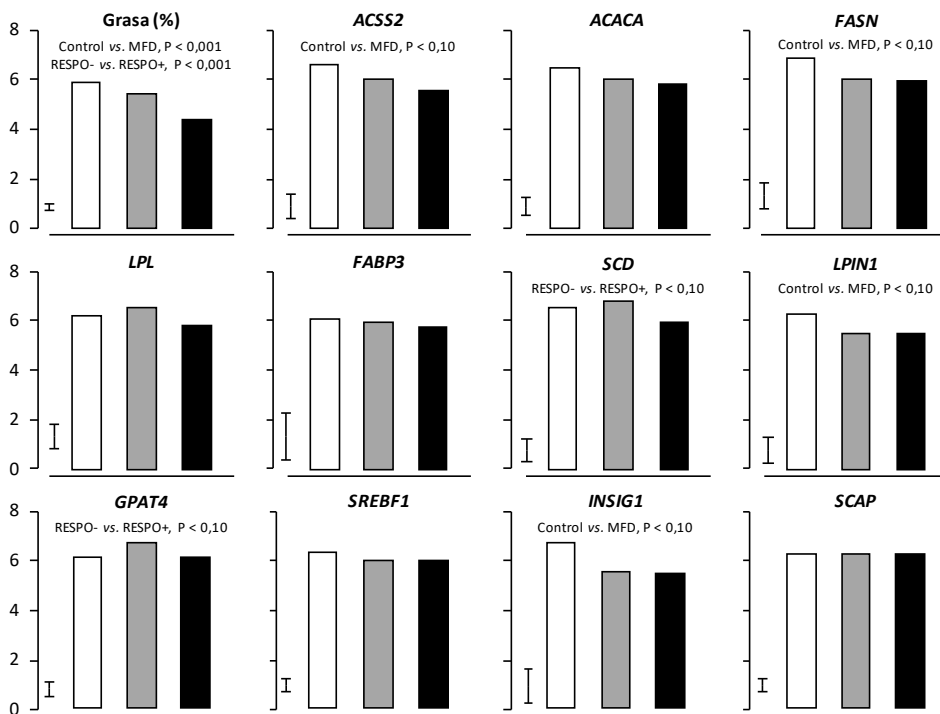
La eficiencia de las qPCR varió entre 88 y 104% ( $r^2=0.991-0.998$ ) y la especificidad de los cebadores se confirmó mediante la secuenciación del producto. La abundancia de los transcritos se normalizó utilizando la media geométrica de los genes de control interno *PPIA*,

*UXT* y *EIF3K*, los más estables según el programa Bestkeeper, y a continuación los datos fueron transformados ( $\log_2$ ).

Los resultados se analizaron mediante un ANCOVA, utilizando como covariable los datos obtenidos al inicio del experimento, con el procedimiento MIXED del SAS 9.4 (SAS Inst. Inc., EE. UU.). Para comparar las medias se usaron dos contrastes ortogonales: Control vs. MFD (es decir, el conjunto de RESPO- y RESPO+) y RESPO- vs. RESPO+.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera gráfica de la Figura 1 se muestra el contenido de grasa láctea de los tres grupos experimentales (control, RESPO- y RESPO+), lo que nos permite tener presente no solo el efecto de la dieta sino también la variación en la respuesta en los animales en los que se indujo la MFD, es decir la variación entre RESPO- y RESPO+.



**Figura 1.** Porcentaje de grasa láctea y abundancia de ARNm de genes candidatos (datos transformados  $\log_2$ ) implicados en la lipogénesis mamaria en ovejas lecheras alimentadas con una dieta control (Control= □) o suplementada con aceite de pescado y que muestran un acusado (RESPO+ = ■) o ligero (RESPO- = ▒) síndrome de baja grasa en la leche. La barra de error corresponde al error estándar de la diferencia.

Aunque algunos ensayos en ovino no pudieron relacionar la abundancia de transcritos de los principales genes de la lipogénesis mamaria con el síndrome de MFD (Bichi et al., 2013a), los trabajos más recientes sí apuntan a una regulación transcripcional de este proceso (Carreño et al., 2016, Ticiani et al., 2016).

Resultados similares a los últimos se observan en este trabajo en las ovejas cuya dieta se suplementaba con aceite de pescado, es decir, una tendencia a la disminución del ARNm de genes que codifican enzimas lipogénicas en la glándula mamaria.

Este mecanismo transcripcional habría afectado ( $P < 0,10$ ) a genes de diferentes rutas metabólicas, incluyendo la activación de AG (ACS2), la síntesis de novo (FASN) o la esterificación de los AG al glicerol (LPIN1). Sin embargo, otros genes como ACACA, LPL o

*FABP3* no mostraron diferencias debidas a la dieta, a pesar de que los animales presentaron MFD en mayor o menor intensidad y diversos trabajos han encontrado variaciones también en ellos (Carreño et al., 2016; Ticiani et al., 2016).

Por otra parte, en relación con el objetivo específico de este estudio, solamente en *SCD* (implicado en la desaturación de los AG) y en *GPAT4* (implicado en la esterificación) se detectó una tendencia a la significación ( $P < 0,10$ ) entre las ovejas RESPO+ y RESPO-, con valores de abundancia de ARNm menores en aquellas con una respuesta más acusada.

Entre los factores de transcripción que funcionarían como reguladores centrales, solo se encontraron variaciones en *INSIG1* ( $P < 0,10$ ), lo cual sorprendió porque este factor está implicado en la activación del *SREBF1* (Yang et al., 2002), con lo que la represión del primero podría haber provocado la del segundo. El papel relevante del *SREBF1* en la depresión de la grasa láctea en ovino se ha señalado en algunos trabajos, no solo de genes candidatos sino también de secuenciación masiva (Suárez-Vega et al., 2017), a pesar de su evolución a veces errática y de que a menudo sus cambios no alcancen el nivel de significación exigido.

En conjunto, aun teniendo en cuenta que las tendencias a la significación no nos permitirían sacar conclusiones sólidas y pendientes del análisis de otros genes candidatos, los resultados preliminares de este trabajo nos obligan a rechazar la hipótesis inicial. Así pues, podríamos concluir que las diferencias en la abundancia de ARNm de genes implicados en la lipogénesis mamaria no parecen ser los principales responsables de la distinta intensidad del síndrome de MFD mostrado por el ovino cuando consume lípidos marinos. No obstante, como ya hemos señalado, son necesarios más estudios al respecto.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bichi, E., et al. 2013a. Anim. Feed Sci. Technol. 186: 36-44.
- Bichi, E., et al. 2013b. J. Dairy Sci. 96: 524-532.
- Capper, J. L., et al. 2007. Animal 1: 889-898.
- Carreño, D., et al. 2016. J. Dairy Sci. 99: 7971-7981.
- Ticiani, E., et al. 2016. Animal 10: 1677-1683.
- Toral, P.G., et al. 2016. J. Dairy Sci. 99: 8461-8471.
- Rodríguez-López et al. (2017). Jornadas AIDA
- Suárez-Vega, A., et al. 2015. Sci. Rep. 5: 18399.
- Suárez-Vega, A., et al. 2017. Sci. Rep. (en prensa).
- Yang, T. et al. 2002. Cell 110: 489-500.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte del Proy. AGL2014-54587; L. Rodríguez-López disfruta de una beca predoctoral FPI y P.G. Toral de un contrato Ramón y Cajal, todos ellos del MINECO y con cofinanciación del FSE.

#### MILK FAT DEPRESSION IN DAIRY EWES FED MARINE LIPIDS: MAY THE mRNA ABUNDANCE OF GENES INVOLVED IN MAMMARY LIPOGENESIS EXPLAIN THE INDIVIDUAL VARIATION?

**ABSTRACT:** This study was conducted in dairy sheep to test the hypothesis that differences in the transcriptional regulation of mammary lipogenesis may be responsible for individual variations in terms of milk fat depression (MFD) in response to diet supplementation with marine lipids. Fifteen ewes receiving a total mixed ration supplemented with 0 (control; n=5) or 20 g of fish-oil/kg DM [n=10; with animals divided in those showing a strong (RESPO+, n=5) or slight (RESPO-) MFD] were used. Candidate gene expression was analysed by quantitative reverse transcription-PCR on milk somatic cells collected on days -2 or -1 and 34 or 35. Consumption of the fish oil diet tended to reduce the mRNA abundance of *ACSS2*, *FASN*, *LPIN1* and *INSIG1* ( $P < 0,10$ ), but only *SCD* and *GPAT4* showed a tendency to differ between RESPO+ and RESPO- ewes ( $P < 0,10$ ). These results would support that the nutritional regulation of milk synthesis is mediated by transcriptional mechanisms but oblige to reject the initial hypothesis.

**Keywords:** fish oil supplementation, gene expression, lipogenesis, nutrigenomics.



## LA APLICACIÓN DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PROTONES (H-NMR) EN OVEJAS CON DEPRESIÓN DE LA GRASA LÁCTEA: ¿PUEDE EL PERFIL METABOLÓMICO DE LA SANGRE EXPLICAR LA VARIACIÓN INDIVIDUAL?

Salama<sup>1</sup>, A.A.K., Toral<sup>2</sup>, P.G., Hervás<sup>2</sup>, G., Caja<sup>1</sup>, G. y Frutos<sup>2</sup>, P

<sup>1</sup> Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. <sup>2</sup> Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España.

[ahmed.salama@uab.cat](mailto:ahmed.salama@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

Se ha observado que la suplementación de la dieta de las ovejas lecheras con lípidos marinos resulta en un perfil de ácidos grasos (AG) más saludable, pero reduce el contenido de grasa láctea, lo que se denomina el síndrome de baja grasa en la leche (MFD; Bichi et al., 2013). El MFD presenta una variación individual muy elevada, de modo que es muy severa en algunas ovejas y mucho más ligera en otras (Bichi et al., 2013). Este hecho hace pensar que pueden existir diferencias individuales en la respuesta a nivel genómico, transcriptómico, proteómico o metabólico.

Por lo tanto, la hipótesis del presente trabajo fue que diferencias en el perfil metabólico de la sangre podrían explicar la variación individual en la intensidad de la MFD causada por la suplementación de la dieta con lípidos marinos. Se ha usado la técnica de resonancia magnética nuclear de protones (H-NMR) para estudiar el perfil metabólico de ovejas sensibles o poco sensibles al MFD, lo que podría ayudar a entender este fenómeno y establecer estrategias para aliviarlo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

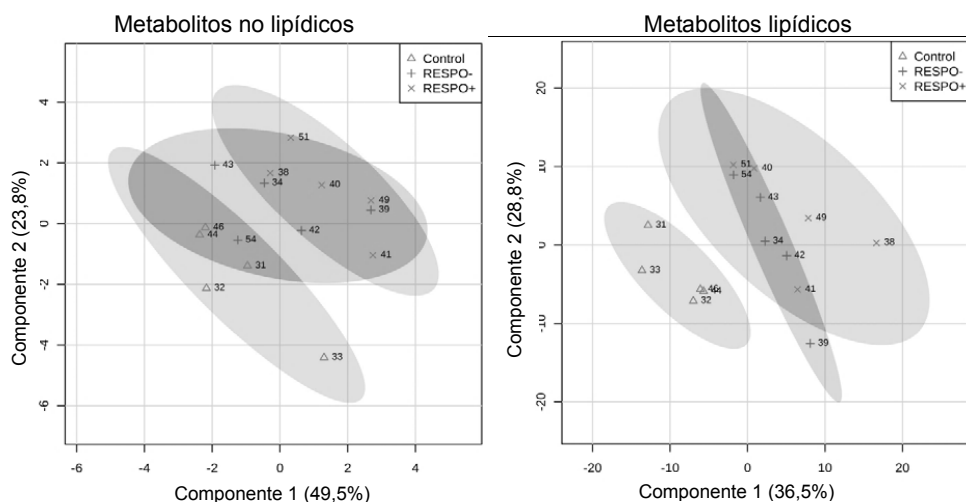
Se utilizaron 15 ovejas assaf ( $48 \pm 1,4$  días en lactación;  $2,4 \pm 0,42$  partos). Las ovejas recibieron *ad libitum* una dieta mixta completa basada en heno de alfalfa y un concentrado (relación F:C 50:50), sin ninguna suplementación (grupo control; n = 5) o suplementada con 20 g de aceite de pescado/kg MS (grupo MFD; n = 10). Para seleccionar los 10 animales MFD se había partido de un total de 22, de los cuales se eligieron 5 que mostraron una elevada MFD (RESPO+) y 5 cuya respuesta fue leve (RESPO-). Se recogieron muestras de sangre en tubos con heparina antes de suplementar con el aceite de pescado y a los 36 d de tratamiento.

Para realizar el análisis de metabolitos con la técnica de H-NMR, el plasma se transfirió a tubos de RMN de 5 mm (Wilmad, VWR International, Eurolab, Barcelona) y se procesaron de acuerdo con la metodología descrita por Beckonert et al. (2007). Los espectros de NMR se obtuvieron utilizando un espectrómetro Bruker Avance-III operando a 600 MHz con temperatura de 298K. La detección de los espectros se controló con el software TopSpin 2.1 (Bruker, Alemania). Para mejor edición espectral, se han usado 2 tipos de filtros: filtrado según tiempo de relajación T2 (usando CPMG) i filtrado según difusión molecular (DOSY-1D).

Los datos se trataron con el paquete "Chemospec" del programa R. A continuación se usó el programa MetaboAnalyst (v.3; <http://www.metaboanalyst.ca>) para la normalización de los datos y su análisis multivariante. Se aplicó el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para determinar el cambio químico de los metabolitos importantes que marcan la diferencia entre grupos. Los metabolitos se identificaron según la posición en el espectro, de acuerdo con la bibliografía disponible (Nicholson et al., 1995; Kostara et al., 2010).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis PLS-DA (Figura 1) muestra la adecuación de la técnica H-NMR para diferenciar las ovejas control de aquellas que sufren una intensa MFD (RESPO+). Sin embargo, no se pudo explicar la diferente respuesta individual en los animales que consumen lípidos de origen marino (es decir, entre RESPO- y RESPO+). Esto coincide con otros datos de las mismas ovejas relativos a la composición de ácidos grasos de su leche o a la expresión de genes implicados en la lipogénesis mamaria (López-Rodríguez et al. 2017a,b).



**Figura 1.** Representación gráfica de los valores de los componentes principales del perfil de metabolitos obtenidos por PLS-DA.

En cuanto a los principales metabolitos que presentan diferencias entre los 3 grupos (Tabla 1), algunos pertenecen al metabolismo proteico y mostraron concentraciones más altas en el grupo control, intermedias en RESPO- y bajas en RESPO+, lo cual podría relacionarse con el mayor porcentaje de proteína láctea en las ovejas control (5,03%) vs. las suplementadas con aceite de pescado, aunque entre estas últimas los valores fueron muy similares (4,76% en RESPO- y 4,73% en RESPO+). La leucina, no obstante, mostró un comportamiento errático, con las concentraciones más elevadas en RESPO-. Es probable que esto apunte a la regulación nutricional de la captación y utilización de aminoácidos por la glándula mamaria y a su implicación en la depresión de la proteína láctea, síndrome que suele acompañar al de MFD pero de forma mucho más limitada (Cant et al., 1993). Aunque la  $\beta$ -glucosa presentó un patrón similar a los aminoácidos, el cuerpo cetónico acetoacetato, que podría ser usado para la síntesis de novo de AG, aumentó a medida que se reducía la grasa láctea.

De los metabolitos lipídicos, el colesterol fue el único cuya concentración plasmática fue superior en el grupo control (Tabla 1). Aunque el contenido de colesterol en leche suele reducirse con la suplementación lipídica, la respuesta en plasma puede ser justo la contraria (Altenhofer et al., 2014; Gómez-Cortés et al., 2015). Los valores del resto de metabolitos lipídicos aumentaron con la caída de la grasa en RESPO- y RESPO+. Esto es inesperado en algunos casos, por ejemplo en el del linoleico, porque el contenido lácteo de este AG en la leche se reduce con el consumo de aceite de pescado (Carreño et al., 2016; Toral et al., 2016). Sin embargo, los incrementos en las ovejas RESPO- y RESPO+ podrían apuntar a la presencia en la sangre de metabolitos intermedios de la biohidrogenación ruminal con carácter antilipogénico. En este sentido, especulamos que los AG monoinsaturados podrían corresponder al *cis*-9 16:1, al *trans*-10 18:1 o al *cis*-11 18:1, sobre cuya implicación en el síndrome de MFD se continúa investigando (Kairenius et al., 2015; Toral et al., 2016). Cabe destacar que se observaron varios lípidos no identificados (datos no presentados) cuyas mayores concentraciones aparecieron en el grupo control y las más bajas en el RESPO+, y que podrían corresponder a lípidos que intervienen en diferentes procesos de la lipogénesis, pero no antilipogénicos.

Estos resultados preliminares no nos permiten aceptar la hipótesis inicial porque no parecen explicar la variación individual en la intensidad de la MFD causada por la suplementación de la dieta con lípidos marinos.

**Tabla 1.** Metabolitos que marcan la diferencia entre grupos en ovejas lecheras alimentadas con una dieta control o suplementada con aceite de pescado y que muestran una acusada (RESPO+) o ligera (RESPO-) depresión de la grasa láctea.

Metabolito	Cambio químico (ppm)	Tratamiento		
		Control	RESPO-	RESPO+
<b>Metabolitos no lipídicos</b>				
Acetoacetato	2.22			
β-glucosa	3.26			
Lactato	1.33 y 4.12			
Creatina	3.05			
Prolina	3.30			
Valina	1.04			
Isoleucina	1.01			
Leucina	0.91			
<b>Metabolitos lipídicos</b>				
Linoleico	2.76			
AG omega-3	0.94			
Glicerol	5.23			
AG monoinsaturado	5.26			
AG monoinsaturado	5.32			
Colesterol	1.02			

Los colores negro, gris y blanco indican una concentración alta, media y baja, respectivamente.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altenhofer, C. et al. 2014. J. Dairy Res. 81: 120-128.
- Beckonert, O. et al. 2007. Nat. Protoc. 2: 2692-2703
- Bichi, E., et al. 2013. J. Dairy Sci. 96: 524-532.
- Cant, J.P. et al. 1993. J. Dairy Sci. 76: 762-774.
- Carreño, D., et al. 2016. J. Dairy Sci. 99: 7971-7981.
- Gómez-Cortés et al., 2015. Food Chem. 188: 325-327.
- Kairenius, P., et al. 2015. J. Dairy Sci.98: 5653-5672.
- Kostara, C.E. et al. 2010. J. Proteome Res. 9: 897-911.
- Nicholson, J.K. et al. 1995. Anal. Chem. 67: 793-811.
- López-Rodríguez et al. 2017a,b. Jornadas ITEA
- Toral, P.G. et al. 2016. J. Dairy Sci. 99: 1133-1144.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte del Proy. AGL2014-54587 y P.G. Toral disfruta de un contrato Ramón y Cajal, ambos del MINECO y con cofinanciación del FSE.

#### THE USE OF H- NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE (H-NMR) IN EWES SUFFERING MILK FAT DEPRESSION: MAY BLOOD METABOLOMIC DIFFERENCES EXPLAIN THE INDIVIDUAL VARIATION?

**ABSTRACT:** This study was conducted in dairy sheep to test the hypothesis that differences in the blood metabolomic profile would explain individual variations in terms of milk fat depression (MFD) when marine lipids were added to the diet. Assaf ewes (n=15) received a total mixed ration supplemented with 0 (control; n=5) or 20 g of fish-oil/kg DM [n=10; with animals divided in those showing a strong (RESPO+, n=5) or slight (RESPO-) MFD]. H-NMR was evaluated in blood samples collected on days 0 and 36. Supplementation with fish oil reduced the concentrations of proline, valine, isoleucine, keratin, lactate and β-glucose in blood. The reductions in amino acid concentrations are in accordance with lower mammary protein synthesis in supplemented ewes. On the other hand, some fatty acids (FA) increased, including some potentially antilipogenic FA that are supposed to be able to induce MFD. However, there was no clear separation between RESPO+ and RESPO-. At the systemic level, blood metabolomic profile was not successful to explain the individual variation in MFD.

**Keywords:** fish oil supplementation, H-NMR metabolomics, sheep.

## EFFECTO SOBRE LA INGESTIÓN VOLUNTARIA DEL CONTENIDO EN COMPONENTES SECUNDARIOS EN RACIONES DE VACUNO LECHERO

Barhouni, N.<sup>1</sup>, Baizán, S.<sup>1</sup>, Vicente, F.<sup>1</sup>, Rodríguez, L.<sup>2</sup>, Feito, I.<sup>2</sup>, Martínez-Fernández, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). 33300 Villaviciosa, Asturias, España. <sup>2</sup>Programa de Investigación Forestal. SERIDA. Finca Experimental La Mata. 33825 Grado, Asturias, España. [admartinez@serida.org](mailto:admartinez@serida.org)

### INTRODUCCIÓN

La Política Agraria Común para el periodo 2015-2020 (BOE, 2014) anima a la agricultura a que garantice la sostenibilidad del medio ambiente con el incentivo del llamado pago verde (Otero y López, 2015; Migoya-Redondo y Fernández-Fano, 2016). Por ello, es necesario avanzar en la investigación sobre los cultivos de forrajes, especialmente leguminosas, como fuente de proteínas vegetales para alcanzar un manejo sostenible en condiciones edafológicas bien definidas, mejorando el rendimiento animal y reduciendo los gastos en alimentación de las explotaciones. Algunas leguminosas forrajeras contienen moléculas bioactivas que tienen gran interés en la nutrición animal porque modifican el metabolismo de las proteínas y de los lípidos en el tracto digestivo (Martín-Pedrosa et al., 2016) y pueden disminuir la ingestión voluntaria de alimentos. Una concentración de taninos condensados superiores a 50-60 g/kg MS afecta negativamente a la ingestión y a la digestión (Aufrere et al., 2013). Sin embargo, estas moléculas bioactivas también pueden aumentar la eficiencia de la conversión de las proteínas en la alimentación de rumiantes (Baumont et al., 2016; Lombardi et al., 2015) y pueden ser utilizados como antiparasitarios alternativos en la sanidad de los rumiantes. Ahora bien, es práctica habitual que los forrajes sean ofertados a los rumiantes como ensilado, por lo que la concentración de componentes secundarios podría verse alterada por los procesos fermentativos. Además, su contenido se encontraría diluido por la adición de otros ingredientes en la ración. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la evolución del nivel de fenoles y taninos condensados en el haba forrajera (*Vicia faba* L.) fresca, prehenificada y conservada como ensilado e integrada en raciones completas mezcladas y su efecto sobre la ingestión voluntaria de raciones completas mezcladas en vacuno lechero.

### MATERIALES Y MÉTODOS

En parcelas colindantes se sembraron raigrás italiano (Raigrás), haba forrajera (Haba) y un intercultivo de haba con raigrás italiano (Haba+Raigrás). Estos forrajes fueron ensilados y utilizados para la formulación de raciones completas mezcladas isoenergéticas e isoproteicas que se ofertaron a 9 vacas frisonas en el segundo tercio de lactación como complemento al pastoreo, distribuidas en tres grupos, según un diseño en cuadrado latino 3x3. Durante el primer periodo de ensayo una de las vacas hubo que ser retirada del ensayo por un proceso patológico, por lo que sus datos no fueron considerados. El consumo de materia seca se determinó mediante un sistema computerizado de control de ingestión. Para la cuantificación del contenido en componentes secundarios se tomaron muestras de los tres forrajes (raigrás italiano, haba forrajera e intercultivo de raigrás italiano + haba forrajera) en corte directo, tras 24 horas de henificación y de sus correspondientes ensilados tras un periodo de fermentación de 170 días. Así mismo, fueron muestreadas las correspondientes raciones completas mezcladas. Las muestras fueron liofilizadas y molidas en molino criogénico. La extracción de los fenoles totales y taninos condensados se realizó siguiendo la metodología propuesta por Sanz et al. (2010). Para la cuantificación de los fenoles totales se empleó ácido gálico como patrón de referencia, expresando el contenido fenólico total como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca (mg EAG/g MS). El análisis y cuantificación de los taninos condensados se realizó según el método de la vainillina (Sun et al., 1998), empleando la (+)-catequina como patrón de calibración y expresando su contenido en miligramos equivalentes de (+)-catequina por gramo de materia seca (mg EC/g MS). Los resultados fueron contrastados mediante dos análisis de varianza considerando de modo independiente el tipo de forraje y el tipo de conservación como factores principales (R Core Team, 2016).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados del contenido en fenoles totales de los forrajes verdes en corte directo, henificados durante un periodo de 24 horas, ensilados y de las correspondientes raciones completas mezcladas. El contenido en fenoles de la leguminosa pura (Haba) y de su intercultivo con raigrás (Haba+Raigrás) es superior ( $P<0,05$ ) al del raigrás italiano (Raigrás). Tras la prehenificación y el ensilado de los forrajes, la concentración de fenoles disminuyó significativamente respecto a los contenidos observados en los forrajes en corte directo. Las diferencias entre el ensilado de raigrás italiano y los ensilados con leguminosa pura y leguminosa con raigrás se mantienen ( $P<0,05$ ). Ahora bien, cuando se elaboran las correspondientes raciones completas mezcladas, la concentración de fenoles se diluyen hasta no mostrar diferencias entre dietas ( $P>0,05$ ).

**Tabla 1.** Contenido en fenoles totales (mg EAG/g MS) en el forraje verde en corte directo, prehenificado, ensilado y en las raciones completas mezcladas con raigrás italiano, haba forrajera e intercultivo de raigrás italiano y haba forrajera.

	Raigrás	Haba	Haba+Raigrás	d.e.r. <sup>1</sup>	Sign. <sup>2</sup>
Forraje verde	13,16 <sup>aB</sup>	40,72 <sup>bC</sup>	33,44 <sup>bC</sup>	3,295	*
Prehenificado	7,99 <sup>aA</sup>	22,25 <sup>cB</sup>	17,45 <sup>bB</sup>	1,048	**
Ensilado	10,24 <sup>aAB</sup>	18,75 <sup>bB</sup>	17,74 <sup>bB</sup>	1,844	*
Raciones completas mezcladas	6,87 <sup>A</sup>	9,73 <sup>A</sup>	8,05 <sup>A</sup>	1,235	NS
d.e.r. <sup>1</sup>	1,634	2,288	2,176		
Sign. <sup>2</sup> conservación	**	***	***		

<sup>1</sup> desviación estándar residual. <sup>2</sup> Significación NS:  $P>0,05$ ; \*  $P<0,05$ ; \*\*  $P<0,01$ ; \*\*\*  $P<0,001$ . Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tipo de forraje. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tipo de conservación.

En la Tabla 2 se presentan los resultados del contenido en taninos condensados de los mismos forrajes. El contenido de taninos condensados del haba verde y prehenificada es superior ( $P<0,05$ ) al del raigrás italiano (Raigrás). Tras su ensilado, el contenido de taninos de tres forrajes son similares ( $P>0,05$ ), debido a un descenso significativo de la concentración de taninos concentrados en el haba y en su intercultivo con raigrás. No se observaron diferencias significativas en las raciones completas mezcladas ( $P>0,05$ ) en cuanto a la concentración de taninos condensados.

**Tabla 2.** Contenido en taninos condensados (mg EC/g MS) en el forraje verde en corte directo, prehenificado, ensilado y en las raciones completas mezcladas con raigrás italiano, haba forrajera e intercultivo de raigrás italiano y haba forrajera.

	Raigrás	Haba	Haba+Raigrás	d.e.r. <sup>1</sup>	Sign. <sup>2</sup>
Forraje verde	0,673 <sup>aB</sup>	1,012 <sup>bB</sup>	0,857 <sup>abB</sup>	0,1056	*
Prehenificado	0,419 <sup>aAB</sup>	0,823 <sup>bB</sup>	0,409 <sup>aA</sup>	0,0553	***
Ensilado	0,439 <sup>AB</sup>	0,390 <sup>A</sup>	0,450 <sup>A</sup>	0,1841	NS
Raciones completas mezcladas	0,241 <sup>A</sup>	0,281 <sup>A</sup>	0,260 <sup>A</sup>	0,0363	NS
d.e.r. <sup>1</sup>	0,1383	0,0686	0,1178		
Sign. <sup>2</sup> conservación	*	***	**		

<sup>1</sup> desviación estándar residual. <sup>2</sup> Significación NS:  $P>0,05$ ; \*  $P<0,05$ ; \*\*  $P<0,01$ ; \*\*\*  $P<0,001$ . Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tipo de forraje. Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tipo de conservación.

La ingestión diaria de materia seca de las raciones completas mezcladas fue similar entre tratamientos (10,8 kg MS/d para el raigrás, 10,3 kg MS/d para el ensilado de haba y 9,6 kg

MS/d para el intercultivo de haba y raigrás,  $P>0,05$ ). Estos resultados de ingestión son similares a los encontrados por Baizán et al. (2017) con dietas y animales similares. Sin embargo, Jiménez-Calderón et al. (2014) comparando raciones formuladas con ensilado de raigrás o ensilado de haba y colza, obtuvieron ingestiones significativamente menores con la ración que incluía la leguminosa.

A la vista de estos resultados, se puede concluir que la conservación como ensilado de las habas forrajeras puras o en intercultivo con el raigrás italiano, disminuye su contenido en fenoles totales y de taninos condensados hasta igualar la concentración de estos últimos con el ensilado de raigrás italiano. Este hecho implica que su inclusión en las dietas del vacuno lechero no afecta negativamente a la ingestión voluntaria, ya que en todos los casos, los contenidos de componentes secundarios (fenoles totales y taninos condensados) en la ración completa mezclada elaborada se encuentra muy por debajo del valor limitante de ingestión (Aufreere et al., 2013). Por lo tanto, en busca de la autosuficiencia proteica que promueve la PAC, el haba forrajera es una buena alternativa al raigrás italiano para rotar con el maíz forrajero en un sistema de rotación de dos cultivos anuales destinados a la alimentación del vacuno lechero.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aufreere, J., Dudilieu, M., Poncet, C. & Baumont, R. 2013. *Animal*. 7: 82-92. • Baizán, S., Martínez-Fernández, A. & Vicente, F. 2017. XVII Jornadas sobre Producción Animal. • Baumont, R., Bastien, D., Féraud, A., Maxin, G. & Niderkorn, G. 2016. *Journées AFFF*. • BOE. 2014. Real Decreto 1075/2014. • Jiménez-Calderón, J.D., Martínez-Fernández, A., Soldado, A., González, A., de la Roza-Delgado, B. & Vicente, F. 2014. XIX Congreso Internacional ANEMBE. • Lombardi, D., Vasseur, E., Berthiaume, R., DeVries, T.J. & Bergeron, R. 2015. *J. Dairy Sci.* 98: 7238-7247. • Martín-Pedrosa, M., Varela, A., Guillamón, E., Cabellos, B., Burbano C., Gómez-Fernández, J., de Mercado, E., Gómez-Izquierdo, E., Cuadrado, C. & Múzquiz, M. 2016. *Span. J. Agric. Res.* 14: e0901. • Migoya-Redondo, J.A. & Fernández-Fano, B. 2016. Fundación Caja Rural de Gijón • Otero, M. & López, C. 2015. *Campoastur* 9: 16-20. • R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. • Sanz, M., Cadahía, E., Esteruelas, E., Muñoz, M.A., Fernández de Simón, B., Hernández, T. & Estrella, I. 2010. *J. Agric. Food Chem.* 58: 9631-9640. • Sun, B., da Silva, J.M.R. & Spranger, I. 1998. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4267-4274.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto INIA RTA2012-00065-C05-01, cofinanciado con fondos FEDER. Naouel Barhoumi es beneficiaria de una beca CIHEAM/IAMZ.

### EFFECT ON VOLUNTARY INTAKE OF SECONDARY COMPONENTS CONTENTS IN DAIRY COW RATIONS.

**Abstract:** In order to improve the management of forage production and the economic and environmental sustainability of Cantabrian coast dairy farms, maintaining the performance and quality of milk standards, different winter forage crops are being investigated as viable alternatives to the Italian ryegrass crop to rotate with maize. The quantification of phenolic compounds, in fresh forage, hay, and silages of Italian ryegrass, faba bean in monoculture or faba bean intercropped with Italian ryegrass, as well as the unifeed rations made with them, were carried out with their analyzes in total phenols and condensed tannins. Three unifeed rations were randomly assigned to 9 Holstein dairy cows divided in three groups following a 3 x 3 Latin square design in order to evaluate the effect of secondary components in voluntary intake. The results show that the faba bean is forage rich in phenolic compounds. However, the silage process reduces significantly its total phenols and condensed tannins proportion, also their inclusion of their silage in the dairy cow ration does not reduce voluntary intake since their effect as antinutritional factors is diluted.

**Keywords:** Dairy cow, Faba bean silage, Phenolic compounds, Voluntary intake

## **CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL Y DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LA HARINA, LA TORTA Y LA CASCARILLA DE CAMELINA**

Salas, H., Castillejos, L. y Ferret, A.

Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, España.

[hector.salas@uab.cat](mailto:hector.salas@uab.cat)

### **INTRODUCCIÓN**

La satisfacción de las necesidades proteicas es uno de los aspectos más limitantes en la nutrición de rumiantes. Esto se debe principalmente al precio tan elevado de algunas materias primas y además en constante fluctuación, como sería el caso de la harina de soja, fuente de proteína de referencia. Esta situación promueve la búsqueda de alternativas con el objetivo de sustituir total o parcialmente a las fuentes proteicas tradicionales. La harina y la torta de camelina son subproductos con un elevado porcentaje de proteína, obtenidos tras la extracción del aceite de las semillas oleaginosas de *Camelina sativa*. La cáscara de camelina se obtiene al separarla de la semilla de dicha planta y puede ser una fuente de fibra no forrajera. Existen muy pocos estudios utilizando estos productos en dietas para rumiantes (Hurtaud y Peyraud, 2007; Moriel et al., 2011; Halmemies-Beauchet-Filleau et al., 2011, 2017; Capellozza et al., 2012; Colombini et al., 2014). FEDNA (2015) introdujo recientemente información analítica sobre la torta de camelina, así como una estimación del valor bromatológico de la harina de camelina. El objetivo de este estudio fue el de caracterizar nutricionalmente estos tres ingredientes, así como determinar la digestibilidad *in vitro* de los mismos, y compararlos con otros que se utilizan comúnmente en alimentación de terneros de cebo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Las fuentes proteicas utilizadas fueron una torta de camelina y una harina de camelina que se compararon con una harina de soja 44, una harina de girasol 36 y una harina de colza 00. Las fuentes de fibra fueron, por su parte, una cascarilla de camelina y una cascarilla de soja. El contenido en materia seca (MS) se obtuvo sometiendo la muestra a 103 °C durante 24 h. Para obtener los contenidos en cenizas, proteína bruta (PB) y extracto etéreo (EE) se siguieron los procedimientos ID 950.05, ID 976.0 e ID 920.30, respectivamente, propuestos por la AOAC (1990). Las determinaciones de fibra bruta (FB), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) se realizaron utilizando un analizador Ankom (Ankom Technology Corporation, Fairport, NY, EE.UU.). En la determinación de FND se usó una alfa-amilasa y sulfito sódico (Van Soest et al., 1991). La lignina ácido detergente (LAD) se determinó después de la determinación de FND y FAD aplicando ácido sulfúrico al 72%. La digestibilidad *in vitro* de la MS y de la materia orgánica (MO) se obtuvieron según el procedimiento propuesto por Tilley y Terry (1963), con la modificación propuesta por Stern y Endres (1991). El líquido ruminal se obtuvo de dos vacas secas adaptadas durante 14 días a una dieta 60:40 a base de heno alfalfa y maíz en grano. El líquido se extrajo a las 08:30 h mediante una bomba de extracción y una malla de filtraje estando las vacas en ayuno desde las 15:00 h del día anterior a la extracción. En resumen, 0,5 g de muestra se colocaron en tubos con 50 ml de una mezcla 1:4 de líquido ruminal y solución buffer de McDougall (1948). Los tubos se gasearon con CO<sub>2</sub> y se mantuvieron en agitación constante, a 39°C de temperatura y anaerobiosis durante 48 h. Se introdujeron 0,2 g de pepsina y 2 ml de HCl en los tubos y éstos se mantuvieron a 39°C con agitación continua 24 h más. Se filtró el contenido de cada tubo utilizando frascos de filtración. El residuo sólido obtenido se introdujo primero en estufa a 103°C durante 24 h, para estimar la digestibilidad de la MS (DMS) y posteriormente en mufla a 550°C durante 12 h, para estimar la digestibilidad de la MO (DMO). La determinación se realizó en dos periodos de fermentación, con tres réplicas por tratamiento y periodo. Los datos obtenidos de la técnica *in vitro* fueron analizados con un PROC MIXED del paquete estadístico SAS utilizando como efecto fijo el tratamiento y el periodo, y como efecto aleatorio el tubo.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La composición química de las diversas fuentes de proteína y de fibra se presenta en la Tabla 1. Las principales diferencias entre la harina de camelina y la torta de camelina son el

mayor porcentaje de PB y de FND (4,4 y 4,8 puntos porcentuales respectivamente) de la harina debido a la nueva extracción química de aceite que recibe la torta de camelina, con mayor EE, para la obtención de la harina. Respecto al resto de fuentes de proteína, la harina de camelina presentó el mismo nivel proteico que la harina de colza y la harina de girasol 36, e inferiores a los de la harina de soja 44. Los valores más bajos de PB los presentó la torta de camelina. También se observó como la FND fue mayor en la harina de girasol 36, seguida por la harina de camelina, la harina de colza 00 y la torta de camelina. La harina de soja 44 presentó los niveles más bajos de FND.

En cuanto a las fuentes de fibra la cascarilla de camelina presentó valores parecidos de FND y FAD que la cascarilla de soja, pero mucha más LAD que la de soja, indicando una calidad inferior de la fibra. Además, la cascarilla de camelina también presentó valores más bajos de PB respecto a la cascarilla de soja.

**Tabla 1.** Composición química de los ingredientes (%s. MS)

% MS	Fuentes de proteína					Fuentes de fibra	
	Harina Camelina	Torta Camelina	Harina Girasol 36	Harina Soja 44	Harina Colza 00	Cascarilla Camelina	Cascarilla Soja
MS	91,5	92,8	90,3	88,1	88,3	92,1	90,0
Cenizas	5,7	4,8	6,6	5,7	6,9	5,4	4,8
PB	39,5	35,1	39,3	46,7	39,8	9,0	17,1
FB	12,3	10,2	19,1	8,4	12,5	32,3	31,9
FND	37,5	32,7	40,2	10,7	35,8	54,9	55,9
FAD	17,4	14,4	23,9	12,0	21,4	34,8	39,7
LAD	4,0	2,6	7,5	0,5	8,8	7,8	1,5
EE	1,3	13,5	1,5	2,6	1,6	5,4	5,6

No hubo diferencias significativas entre los valores de DMS y de DMO de la harina y la torta de camelina (Tabla 2). La harina de soja 44 fue el ingrediente más digestible. En referencia a la DMS, se pudo observar como la harina de camelina, la torta de camelina y la harina de colza 00 fueron los ingredientes proteicos con mayor digestibilidad tras la harina de soja, aunque la torta de camelina y la harina de colza 00 no se pudieron diferenciar de la harina de girasol 36.

Con respecto a la DMO, por debajo de la harina de soja 44, encontramos la harina de colza 00, la harina de camelina y la torta de camelina, con DMO similares. La DMO más baja se registró con la harina de girasol 36, que no se diferenció de la DMO de la torta de camelina ( $P > 0,05$ ).

En cuanto a las fuentes de fibra, la cascarilla de camelina presentó una DMS y una DMO mucho más bajas que la cascarilla de soja. De hecho, la cascarilla de camelina presentó los valores más bajos de DMO y DMS entre todos los ingredientes que se utilizaron.

**Tabla 2.** Digestibilidad de la materia seca (DMS) y digestibilidad de la materia orgánica (DMO)

%	Fuentes de proteína							Fuentes de fibra			
	HC <sup>1</sup>	TC <sup>2</sup>	HG <sup>3</sup>	HS <sup>4</sup>	HCo <sup>5</sup>	EEM <sup>6</sup>	P-valor	CC <sup>7</sup>	CS <sup>8</sup>	EEM	P-valor
DMS	65,4 <sup>b</sup>	64,4 <sup>bc</sup>	60,0 <sup>c</sup>	73,5 <sup>a</sup>	62,0 <sup>bc</sup>	1,07	0,001	44,1 <sup>z</sup>	71,7 <sup>y</sup>	0,88	0,001
DMO	71,5 <sup>b</sup>	69,7 <sup>bc</sup>	66,6 <sup>c</sup>	86,8 <sup>a</sup>	72,4 <sup>b</sup>	0,87	0,001	49,0 <sup>z</sup>	84,1 <sup>y</sup>	0,85	0,001

Los superíndices a, b, c, y, z indican diferencias con  $P$ -valor  $< 0,05$ .<sup>1</sup> Harina de camelina, <sup>2</sup> Torta de camelina, <sup>3</sup> Harina de girasol 36, <sup>4</sup> Harina de soja 44, <sup>5</sup> Harina de Colza 00, <sup>6</sup> Error estándar de la media, <sup>7</sup> Cascarilla de camelina y <sup>8</sup> Cascarilla de soja.



A modo de conclusión, la harina de camelina, por su contenido proteico y digestibilidad, parece ser un buen recurso proteico a utilizar en dietas de rumiantes. El alto contenido de extracto etéreo de la torta de camelina unido a un elevado contenido en proteína (aunque inferior a la harina de camelina), puede hacer que este producto resulte igualmente interesante. En cambio, el menor contenido en proteína, el elevado contenido en lignina y la baja digestibilidad *in vitro* de la cascarilla de camelina, no sugieren que pueda competir con la cascarilla de soja.

**Agradecimientos:** Trabajo realizado en el desarrollo del proyecto RTC-2015-3265-5 de I+D+i Retos de la Sociedad 2015 financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> AOAC, Arlington, VA, EE.UU.
- Cappellozza, B.I., Cooke, R.F., Bohnert, D.W., Cherian, G., Carroll, J.A. 2012. J. Anim. Sci. 90: 4042-4054.
- Colombini, S., Broderick, G.A., Galasso, I., Martinelli, T., Rapetti, L., Russo, R., Reggiani, R. 2014. J. Sci. Food Agric. 94: 736-743.
- FEDNA 2015. <http://www.fundacionfedna.org>
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Kokkonen, T., Lampi, A.M., Toivonen, V., Shingfield, K.J. 2011. J. Dairy Sci. 94: 4413-4430.
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Shingfield, K.J., Simpura, I., Kokkonen, T., Jaakkola, S., Toivonen, V., Vanhatalo, A. 2017. J. Dairy Sci. 100: 305-324.
- Hurtaud, C., Peyraud, J.L. 2007. J. Dairy Sci. 90: 5134-5145.
- McDougall, E.I. 1948. Biochem J. 43: 99-109.
- Moriel, P., Navighu, V., Cappellozza, B.I., Gonçalves, E.P., Krall, J.M., Foulke, T., Cammack, K.M., Hess, B.W. 2011. J. Anim. Sci. 89: 4314-4324.
- Stern, M.D., Endres, M.I., 1991. Laboratory Manual, Department of Animal Science, University of Minnesota, 90-92.
- Tilley, J.A., Terry, R.A. 1963. J. Br. Grassl. Soc. 18: 104-111.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, P.A. 1991. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.

#### CAMELINA MEAL, CAMELINA EXPELLER AND CAMELINA HULLS: NUTRITIONAL CHARACTERIZATION AND *IN VITRO* DIGESTIBILITY

**ABSTRACT:** Few studies have focused on the use of camelina by-products in ruminants. The aim of the present study was to analyze and compare their chemical composition, dry matter (DMD) and organic matter digestibility (OMD). Five protein sources and two fiber sources were analyzed. The same ingredients were used to perform a modified Tilley and Terry *in vitro* technique (1963), in 2 periods with 3 replicates per treatment and period. Camelina meal showed a greater CP and NDF and lower EE values than camelina expeller (CE). Camelina meal CP content was lower than soybean meal 44 (SM) and similar to sunflower meal 36 (SFM) and rapeseed meal 00 (RM). Camelina expeller had the greatest EE content. Camelina hulls showed similar NDF and ADF content, greater ADL and lower CP content than soybean hulls. In the *in vitro* assay, SM showed the greatest DMD and OMD. Camelina meal and CE showed similar DMD and OMD. Camelina meal presented a greater DMD and OMD than SFM, but did not differ from RM. Dry matter digestibility of CE was the same as RM and SFM. Camelina hulls showed the lowest digestibility values.

**Keywords:** *Camelina sativa*, meal, expeller, hulls, protein sources

## **INFLUENCIA DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO EN Balsa SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DEL ORUJO GRASO DE ACEITUNA**

Marcos, C.N.<sup>1</sup>, de Blas, C.<sup>1</sup>, Rodríguez, C.A.<sup>1</sup>, González, J.<sup>1</sup>, Fernández, R.<sup>2</sup>, Molina-Alcaide, E.<sup>3</sup> y Carro, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. <sup>2</sup> SACYR Industrial S.A., Paseo de la Castellana, 83-85, 28046 Madrid, España. <sup>3</sup> Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1, 18008 Granada. España. [navarro-88@hotmail.com](mailto:navarro-88@hotmail.com)

### **INTRODUCCIÓN**

España es el mayor productor mundial de aceite de oliva, cuya extracción genera un residuo denominado alperujo y que tiene una producción anual nacional de casi 4 millones de toneladas (Barres, 2013). Por ello, es necesario buscar alternativas para la reutilización de este subproducto. La alternativa de uso en la alimentación animal representa una opción muy interesante, ya que contribuiría no solo a reciclar el subproducto sino también a reducir los costes de alimentación, contribuyendo a la sostenibilidad de los sistemas ganaderos, y a reducir la huella de carbono de los productos animales debido a su producción regional/local (Del Prado *et al.*, 2013). Además, la inclusión del alperujo en la dieta de rumiantes puede tener un valor añadido debido a su contenido en fenoles y ácidos grasos específicos, reduciendo las emisiones de metano y mejorando el perfil de ácidos grasos de los productos animales (Molina-Alcaide *et al.*, 2010). El alperujo suele permanecer durante un tiempo variable (0-8 meses) en balsas de almacenamiento antes de su procesado, lo que puede provocar cambios en su composición y valor nutritivo. Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar las variaciones temporales, producidas durante el almacenamiento, en la composición y fermentación ruminal *in vitro* de muestras de orujo graso de aceituna.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron muestras de orujo graso desecadas y peletizadas obtenidas de la misma balsa, a intervalos de un mes, durante seis meses consecutivos (diciembre de 2015 - mayo de 2016). Las muestras se molieron (1 mm) y se analizó su contenido en materia seca y materia orgánica según la AOAC (1999). El contenido en energía bruta (EB) se determinó en una bomba calorimétrica PARR 1356 (Parr Instrument Company, Moline, IL, Estados Unidos), el contenido en N se analizó por el método de combustión Dumas y el contenido en extracto etéreo (EE) se midió mediante extracción con éter de petróleo. La concentración en fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) se analizó siguiendo la técnica secuencial descrita por Van Soest *et al.* (1991) y el contenido en azúcares se determinó por la técnica de la Antrona (Yemm y Willis, 1954).

Las incubaciones *in vitro* se llevaron a cabo en viales de vidrio (60 ml) en los que se pesaron 200 mg de materia seca de cada muestra. El líquido ruminal se obtuvo de cuatro ovejas, que recibieron dos veces al día heno de gramíneas y concentrado en proporción 2:1. El contenido ruminal extraído de cada animal se filtró a través de cuatro capas de gasa y se trasladó inmediatamente al laboratorio. El fluido ruminal se mezcló con medio de cultivo (Goering y Van Soest, 1970) en una relación 1:4 (vol/vol), a 39 °C bajo gaseado continuo con CO<sub>2</sub>, y se dosificaron 20 ml de la mezcla en cada vial mediante una bomba peristáltica (Watson-Marlow 520UIP31). Los viales se cerraron herméticamente y se incubaron a 39 °C durante 24 horas. Adicionalmente, se incluyeron viales sin sustrato para corregir para la producción de gas procedente del inóculo. Las incubaciones se realizaron utilizando el inóculo de cada oveja por separado, para obtener cuatro réplicas por tratamiento. Al finalizar la incubación, en cada vial se midió el volumen de gas y el pH y se tomaron muestras para el análisis de la concentración en N-NH<sub>3</sub> y ácidos grasos volátiles (AGV) siguiendo los procedimientos descritos por Martínez *et al.* (2010).

Los resultados *in vitro* se analizaron mediante un análisis de varianza, utilizando un modelo mixto con medidas repetidas, donde el tiempo de recogida se consideró como efecto fijo y el inóculo (oveja donante) como efecto aleatorio. Asimismo, se realizaron contrastes polinomiales para estudiar el efecto lineal del tiempo de almacenamiento de las muestras.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en materia orgánica, EE y EB de las muestras presentó pequeñas variaciones durante el almacenamiento (Tabla 1). Por el contrario, la concentración en azúcares disminuyó de forma acusada (desde 20,2 hasta 2,89%) con el tiempo y aumentó el contenido en FND (44,5 – 71,2%) y FAD (32,5 – 46,8%). El contenido en PB osciló entre 8,65 en diciembre y 10,3% en mayo, sin que se observaran variaciones claras debidas al tiempo de almacenamiento. En todas las muestras una alta proporción de la proteína estuvo ligada a la FAD (44 - 62%), lo que confirma resultados previos e indica una baja utilización de la proteína (Molina-Alcaide et al., 2003). Los valores de composición química estuvieron dentro del rango señalado por Molina-Alcaide y Yáñez-Ruiz (2008) en un trabajo de revisión.

**Tabla 1.** Composición química de muestras de orujo graso de aceituna recogidas a diferentes tiempos de almacenamiento en balsa

Item <sup>1</sup>	Tiempo de muestreo					
	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo
Materia seca <sup>1</sup>	92,4	89,8	90,6	88,8	92,1	86,2
Materia orgánica <sup>2</sup>	93,1	92,5	92,5	92,8	94,8	93,4
Fibra neutro detergente <sup>2</sup>	44,5	49,4	51,3	61,7	65,2	71,2
Fibra ácido detergente (FAD) <sup>2</sup>	32,5	36,5	36,6	43,8	45,3	46,8
Lignina <sup>2</sup>	17,2	19,1	18,2	20,9	20,4	20,9
Extracto etéreo <sup>2</sup>	10,4	11,8	8,60	11,8	10,3	10,0
Proteína bruta (PB) <sup>2</sup>	8,65	9,66	9,76	10,1	9,30	10,3
PB-FAD <sup>2</sup>	4,72	6,01	5,17	5,82	4,40	4,51
Azúcares <sup>2</sup>	20,2	10,6	8,02	3,34	3,30	2,89
Energía bruta <sup>3</sup>	21,7	21,9	21,5	22,0	22,0	22,8

<sup>1</sup> g/100 g materia fresca; <sup>2</sup> g/100 g materia seca; <sup>3</sup> MJ/kg MS

A medida que aumentó el tiempo de almacenamiento se observó un aumento lineal ( $P < 0,001$ ) en el pH final de los cultivos, así como una reducción ( $P < 0,001$ ) lineal en la producción de gas, AGV totales, acético, propiónico y butírico (Tabla 2).

**Tabla 2.** Efecto de la época de muestreo en los parámetros fermentativos in vitro de muestras de orujo graso de aceituna

Item	Tiempo de muestreo						eem <sup>1</sup>	P = <sup>2</sup>
	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo		
pH	6,78 <sup>a</sup>	6,87 <sup>b</sup>	6,90 <sup>b</sup>	6,97 <sup>c</sup>	7,04 <sup>d</sup>	7,08 <sup>d</sup>	0,01	<0,001
Gas (ml)	18,5 <sup>d</sup>	14,5 <sup>c</sup>	14,6 <sup>c</sup>	11,2 <sup>b</sup>	9,52 <sup>a</sup>	8,60 <sup>a</sup>	0,65	<0,001
AGV (µmol)								
Total	907 <sup>e</sup>	811 <sup>d</sup>	796 <sup>d</sup>	675 <sup>c</sup>	615 <sup>b</sup>	477 <sup>a</sup>	50,2	<0,001
Acético (Ac)	577 <sup>e</sup>	513 <sup>d</sup>	503 <sup>d</sup>	420 <sup>c</sup>	384 <sup>b</sup>	279 <sup>a</sup>	30,4	<0,001
Propiónico (Pr)	204 <sup>e</sup>	179 <sup>d</sup>	176 <sup>d</sup>	144 <sup>c</sup>	125 <sup>b</sup>	107 <sup>a</sup>	11,0	<0,001
Butírico	91,9 <sup>e</sup>	83,8 <sup>de</sup>	80,4 <sup>cd</sup>	73,5 <sup>bc</sup>	68,6 <sup>b</sup>	58,2 <sup>a</sup>	8,55	<0,001
Valérico	11,1	10,8	10,9	10,6	10,0	10,6	1,05	0,069
Isobutírico	8,20	8,46	8,56	9,27	8,85	7,68	0,95	0,858
Isovalérico	15,5	16,6	17,1	18,1	18,1	14,0	2,26	0,714
Ac/Pr (mol/mol)	2,87	2,89	2,88	2,91	3,06	2,60	0,14	0,219
N-NH <sub>3</sub> (mg/l)	217	199	202	229	238	201	27,1	0,591

<sup>1</sup> eem: error estándar de la media

<sup>2</sup> Efecto lineal del tiempo de muestreo

<sup>a-e</sup> Medias en la misma fila con diferentes superíndices son diferentes ( $P < 0,05$ )

En comparación con la primera muestra (obtenida en diciembre), el almacenamiento durante tres meses en la balsa provocó una reducción del de la producción total de AGV del 12,2%, pero el almacenamiento durante seis meses aumentó esta reducción hasta el 47,4%. La reducción observada en la producción de gas y AGV al avanzar el tiempo de almacenamiento podría ser debida al menor contenido en sustancias fácilmente fermentables, como los azúcares, y al aumento proporcional del contenido en FND y FAD. Por el contrario, no se observó un efecto lineal del tiempo ( $P>0,05$ ) en la producción de isobutírico e isovalérico, la relación acético/propiónico ni la concentración de  $N-NH_3$ . Estos resultados concuerdan con las menores variaciones en el contenido en proteína bruta observadas a lo largo del tiempo de almacenamiento y con la utilización de un medio de cultivo que aporta nitrógeno para los microorganismos ruminales. Los resultados de este estudio indican que los orujos de aceituna con un mayor tiempo de almacenamiento tendrían un menor valor nutritivo para los animales rumiantes, por lo que sería aconsejable su procesado en las primeras fases.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AOAC.1999. Official Methods of Analysis. Ed. Association of Official Analytical Chemists. (16th ed. 5th rev.). Internacional.
- Barres T. 2013. *Producción y Consumo Sostenibles y Residuos Agrarios*. Ed. MAGRAMA, Madrid.
- Del Prado A. *et al.* 2013. *Sci. Total Environm.* 465: 156-165.
- Goering. H. K., Van Soest. P. J. 1970. Agricultural Research Service-USDA. Washington. D.C.
- Martínez, M.E. *et al.* 2010. *Anim. Feed Sci. Tech.* 158: 126-135.
- Molina Alcaide, E. *et al.* 2003. *Small Rum. Res.* 49: 329-336.
- Molina. E., Yáñez-Rúiz. D.R. 2008. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147: 247-264.
- Molina-Alcaide, E. *et al.* 2010. *J. Dairy Sci.* 93: 2076-2087.
- Van Soest, P.J. *et al.* 1991. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Yemm, E.W. Willis, A.J. 1954. *Biochem. J.* 57: 508-514.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2016-75322-C2-1-R y AGL2014-56653-C3-1-R, financiados por el MINECO. Nuestro agradecimiento al Dr. Fernando Bacha por su ayuda para conseguir las muestras utilizadas en este trabajo.

### INFLUENCE OF STORAGE TIME ON CHEMICAL COMPOSITION AND *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION OF CRUDE OLIVE CAKE

**ABSTRACT:** The objective of this study was to analyze the influence of storage time in the pond on chemical composition and *in vitro* ruminal fermentation of crude olive cake (COC). Samples of COC were obtained monthly from the same pond on six consecutive months (December 2015 - May 2016). *In vitro* incubations (24 h) were carried out with sheep rumen fluid to measure the main fermentation parameters. Organic matter (92.5 – 94.8%), ether extract (8.60 – 11.6%) and gross energy (21.5 – 22.8 MJ/kg) content were slightly variable. In contrast, there was a pronounced decrease in sugars concentration as storage time advanced (20.2 to 2.89%), as well as an increase in neutral detergent fibre (NDF; 44.5 – 71.2%) and acid detergent fibre (ADF; 32.5 – 46.8%). Crude protein content ranged from 8.65 to 10.3%, and a high proportion (44 – 62%) was linked to ADF. Increasing storage time linearly decreased ( $P<0.001$ ) final pH in the *in vitro* cultures and the production of gas, total volatile fatty acids (VFA), acetate, propionate and butyrate. Compared with the sample from in December, the storage of COC for three months reduced total VFA production by 12.2%, but increasing storage time to six months resulted in a 47.4% reduction of total VFA, which was consistent with the decrease in the concentration of sugars, and the corresponding increase in NDF and ADF. There was no linear effect ( $P>0.05$ ) of storage time on  $NH_3-N$  concentrations, production of minor VFA (isobutyrate, isovalerate) or acetate/propionate ratio. The results indicate that increasing storage time decreases the nutritive value of COC for ruminants.

**Keywords:** crude olive cake, storage time, chemical composition, *in vitro* ruminal fermentation

## COMPOSICIÓN QUÍMICA Y FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE SUBPRODUCTOS DE INVERNADERO

Molina-Alcaide, E.<sup>1</sup>, Romero-Huelva, M.<sup>2</sup> y Carro, M.D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1, Granada. España.

<sup>2</sup>UNIPROCA, calle Carnicerías, 17, 45600, Talavera de la Reina, España. <sup>3</sup>Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. [molina@eez.csic.es](mailto:molina@eez.csic.es)

### INTRODUCTION

España es, después de Italia, el segundo mayor productor hortofrutícola europeo y el primer exportador de estos productos (MAGRAMA, 2016). Este sector genera una gran cantidad de desechos vegetales, muchos de los cuales tienen un considerable contenido en nutrientes, pero también presentan un elevado potencial contaminante. Por otra parte, es esencial encontrar alternativas locales al uso de materias primas importadas en la alimentación del ganado y los desechos vegetales podrían ser una alternativa válida, pero es necesario conocer su valor nutritivo. La valoración nutritiva de alimentos no convencionales es compleja, ya que suelen tener una composición heterogénea, variable y a menudo desequilibrada, lo que ha contribuido a que existan pocos datos sobre su valor nutritivo, especialmente de los recursos generados en nuestro país. El objetivo de este trabajo fue analizar la composición química y la fermentación ruminal *in vitro* de 10 desechos de hortalizas procedentes de cultivos de invernadero.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de esta prueba se utilizaron desechos de cosecha de distinto origen (una muestra de cada tipo). Las muestras se liofilizaron y se molieron a través de una criba de 1 mm de paso antes de realizar los análisis de composición química (AOAC, 2005) e incubaciones *in vitro*. La composición química de las muestras obtenidas se presenta en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Composición química<sup>1</sup> de diferentes desechos de la horticultura

Desecho	MS	MO	PB	EE	FND	FAD	LAD	TCL	TCT
Alcachofa	178	771	138	13,8	514	340	154	2,24	17,2
Berenjena	74,2	823	175	7,15	383	214	148	0,476	1,86
Brócoli	165	810	317	18,2	325	146	62,7	1,08	2,11
Calabacín	153	724	281	11,9	263	130	47,6	0,428	1,37
Berza	90,7	779	225	13,7	223	119	2,4	0,487	0,573
Pepino	53,6	760	198	13,0	168	131	2,5	15,0	50,6
Pimiento rojo	66,0	760	164	20,1	148	118	30,2	1,01	2,06
Pimiento verde	66,0	799	129	12,2	263	202	1,12	0,675	1,86
Tomate	51,1	803	162	12,9	178	133	76,6	7,33	12,7
Zanahoria	152	826	108	15,4	305	140	109	0,325	1,41

<sup>1</sup> MS; materia seca (g/kg materia fresca); MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; LAD: lignina ácido detergente; TCL: taninos condensados libres; TCT: taninos condensados totales. Todas las fracciones, excepto la MS, están expresadas en g/kg MS.

Cada una de las muestras se fermentó *in vitro* con líquido ruminal procedente de tres cabras fistuladas que recibían heno de alfalfa a nivel de mantenimiento. Las incubaciones *in vitro* se llevaron a cabo en viales de vidrio (120 ml) en los que se pesaron 500 mg de materia seca de cada una de las muestras. El contenido ruminal extraído de cada animal se mezcló y se trasladó inmediatamente al laboratorio en termos aislantes. A continuación, se filtró a través de cuatro capas de gasa, se mezcló con el medio de cultivo de Goering y Van Soest (1970) en una relación 1:4 (vol/vol) a 39 °C bajo gaseado continuo con CO<sub>2</sub> y se dosificaron 60 ml de la mezcla en cada uno de los viales. Para cada muestra se utilizaron dos viales, que se cerraron herméticamente y se incubaron a 39 °C durante 24 horas. Adicionalmente, se

incluyeron dos viales sin sustrato (blancos) para corregir con la producción de gas procedente del inóculo. Al finalizar la incubación, en cada vial se midió la presión y el volumen de gas producido utilizando un transductor y una jeringuilla de plástico y se tomó una muestra de este (5 ml) para analizar su contenido en metano mediante cromatografía de gases (Martínez et al., 2010). Tras medir el pH del contenido de los viales se tomaron muestras para el análisis de su concentración en ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases (Martínez et al., 2010). Las incubaciones se repitieron en 3 días diferentes para obtener tres réplicas por tratamiento.

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza, utilizando un modelo mixto en el que el destribo incubado se consideró un efecto fijo y el día de incubación como un efecto aleatorio. Cuando se detectó un efecto significativo del tratamiento ( $P < 0,05$ ), las diferencias entre medias se analizaron mediante el test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en materia seca de todas las muestras (Tabla 1) fue bajo, oscilando entre 51,1 g/kg para el tomate y 178 g/kg para la alcachofa. Todas las fracciones químicas analizadas fueron variables: el extracto etéreo osciló entre 7,15 y 20,1 g/kg MS para la berenjena y el pimiento rojo, respectivamente; la proteína bruta presentó valores entre 108 y 317 g/kg MS para la zanahoria y el brócoli, respectivamente y los taninos condensados totales variaron entre 0,573 y 50,6 g/kg MS para la berza y el pepino, respectivamente.

Los valores de pH promovidos por la fermentación de las muestras (no mostrados) oscilaron entre 6,57 y 6,74, estando en todos los casos dentro del rango adecuado para la celulólisis. La producciones de metano más bajas ( $P < 0,05$ ) correspondieron al pimiento verde y alcachofa, y los valores más elevados a la berenjena, pepino, pimiento rojo y zanahoria. La producción de AGV más baja ( $P < 0,05$ ) correspondió a la alcachofa y la más elevada al pimiento rojo, tomate y zanahoria (Tabla 2). El mayor contenido en carbohidratos estructurales en la alcachofa podría explicar estas diferencias con respecto a los otros subproductos (Beever et al., 1989).

**Tabla 2.** Parámetros fermentativos tras la incubación *in vitro* durante 24 h de diferentes destribo de horticultura con fluido ruminal de cabra

Destribo	Metano (mmol)	AGV (mmol)	Proporciones molares (mol/100 mol)				Ac/Pr	Metano/AGV
			Acético (Ac)	Propiónico (Pr)	Butírico	Otros AGV <sup>1</sup>		
Alcachofa	0,974 <sup>a</sup>	2,13 <sup>a</sup>	68,4	21,3	7,26 <sup>a</sup>	1,96	3,22	0,457 <sup>d</sup>
Berenjena	1,50 <sup>c</sup>	3,66 <sup>c</sup>	65,9	21,7	9,71 <sup>b</sup>	1,45	3,12	0,410 <sup>d</sup>
Brócoli	1,37 <sup>b</sup>	3,71 <sup>c</sup>	64,1	22,2	9,68 <sup>b</sup>	2,12	3,00	0,369 <sup>b</sup>
Calabacín	1,14 <sup>ab</sup>	3,50 <sup>b</sup>	63,8	23,9	9,12 <sup>b</sup>	1,85	2,77	0,325 <sup>b</sup>
Berza	1,15 <sup>ab</sup>	3,66 <sup>b</sup>	62,6	24,4	9,81 <sup>b</sup>	1,32	2,64	0,314 <sup>b</sup>
Pepino	1,49 <sup>c</sup>	3,78 <sup>cd</sup>	65,2	23,0	9,07 <sup>b</sup>	1,67	2,95	0,394 <sup>cd</sup>
Pimiento rojo	1,48 <sup>c</sup>	4,05 <sup>d</sup>	63,2	25,7	8,29 <sup>b</sup>	1,87	2,63	0,365 <sup>b</sup>
Pimiento verde	0,64 <sup>a</sup>	3,86 <sup>cd</sup>	62,5	26,3	8,41 <sup>b</sup>	1,81	2,52	0,165 <sup>a</sup>
Tomate	1,42 <sup>c</sup>	4,01 <sup>d</sup>	61,8	24,6	11,1 <sup>c</sup>	1,47	2,71	0,354 <sup>b</sup>
Zanahoria	1,49 <sup>c</sup>	4,05 <sup>d</sup>	63,4	25,4	8,50 <sup>b</sup>	1,66	2,50	0,368 <sup>b</sup>
P-valor	0,001	0,001	0,56	0,44	0,04	0,54	0,30	0,001
EEM <sup>2</sup>	0,019	0,066	1,461	1,072	0,345	0,102	0,188	0,006

<sup>a, b, c</sup> Medias en la misma columna con diferente superíndice son diferentes ( $P < 0,05$ )

<sup>1</sup> suma de isobutírico, isovalérico y valérico, <sup>2</sup> error estándar de la media.

La relación metano/AGV también fue variable ( $P < 0,001$ ), con los valores más bajos para el pimiento verde y los más elevados para alcachofa y berenjena. Probablemente las diferencias en el contenido en pared celular y carbohidratos fácilmente degradables de los distintos

subproductos hayan jugado un papel importante en las diferencias observadas en la producción de metano (Johnson and Johnson, 1995), aunque no puede descartarse la presencia de compuestos secundarios bioactivos con actividad antimetanoagénica en algunos destríos (Newbold et al., 2004). Las proporciones molares de acético, propiónico y otros AGV, así como la relación acético/propiónico, no se vieron afectadas ( $P>0,05$ ) por el tipo de muestra. Por el contrario, la proporción molar de butirico si se vio afectada ( $P=0,04$ ), correspondiendo el valor más bajo a la alcachofa y el más elevado al tomate, lo que posiblemente estuvo relacionado con el contenido en azúcares en los destríos (Oba, 2011).

Los resultados obtenidos en la fermentación *in vitro* de los distintos destríos de invernadero reflejan su potencial como materias primas alternativas en la alimentación de los rumiantes. Sin embargo, la variabilidad entre subproductos es un factor a tener en cuenta a la hora de seleccionar las especies de destino y su estado fisiológico antes de incluirlos en sus dietas. Ha de considerarse no solo el papel que juega su uso en alimentación no sólo como vía de reciclaje de material potencialmente contaminante para el medioambiente sino también por su potencial antimetanoagénico.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis, 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- Beever, D. et al. 1989. Proceedings 11th Symposium on Energy Metabolism EAAP, Publication No 43: 33.
- Johnson, K.A. & Johnson, D.E. 1995. J. Anim. Sci. 73: 2483-2492.
- Goering, M.K. & Van Soest, P.J. 1970. Agricultural Handbook, N°. 379. Agricultural Research Services, USDA, Washington DC.
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). 2016. Avances de Superficies y Producciones Agrícolas. Enero 2016. NIPO: 280-15-040-0 MAGRAMA, Madrid.
- Martínez, M.E. et al. 2010. Anim. Feed Sci. Tech. 158: 126–135.
- Newbold, C.J. et al. 2004. Anim. Feed Sci. Tech. 114: 105-112.
- Oba, M. 2011. Can. J. Anim. Sci. 91: 37-46.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos P12-AGR-587 (financiado por la Junta de Andalucía) y AGL2016-75322-C2-1-R (financiado por el MINECO). Nuestro agradecimiento a Julia Fernández y Lesly Arbesú por su excelente ayuda técnica.

### CHEMICAL COMPOSITION AND *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION OF WASTE FRUITS FROM HORTICULTURE

**ABSTRACT:** The aim of this work was to evaluate the chemical composition and *in vitro* ruminal fermentation of 10 different waste fruits from horticulture (artichoke, eggplant, broccoli, zucchini, cabbage, green and red pepper, cucumber, tomato and carrot). Three incubation runs were carried out with batch cultures of ruminal micro-organisms from goats containing 500 mg of substrate and the main fermentation parameters were determined after 24 h incubation. Chemical composition was highly variable, with dry matter (DM) content ranging from 51.1 to 178 g/kg fresh matter (tomato and artichoke, respectively), ether extract from 7.15 to 20.1 g /kg dry matter (eggplant and red pepper), and crude protein from 108 to 317 g/kg DM (carrot and broccoli). Artichoke showed the lowest total VFA production and butyrate molar proportions ( $P<0.05$ ), and tomato had the greatest butyrate proportion ( $P<0.05$ ). Artichoke and green pepper showed methane productions lower than 1.0 mmol per culture, whereas eggplant, zucchini, red pepper, tomato and carrot had values greater than 1.4 mmol per culture. Results from this experiment reveal the potential of waste fruits from horticulture in ruminants feeding. The potential of some of them to reduce methanogenesis should be further investigated.

**Keywords:** Waste fruits from horticulture, chemical composition, methane, *in vitro* fermentation

## LA DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA MATERIA ORGÁNICA Y EL NITRÓGENO SEGÚN EL NIVEL DE INCLUSIÓN DE GUISANTE EN PIENSO PARA EL CEBO DE CORDEROS

Blanco, M., Rufino, P.J., Lobón, S., Casasús, I., Joy, M.  
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón.  
Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. [mblanco@aragon.es](mailto:mblanco@aragon.es)

### INTRODUCCIÓN

La mayor parte de la producción de carne de ovino se realiza mediante sistemas intensivos cuyos principales retos pasan por aumentar su eficiencia productiva, minimizar sus impactos ambientales, reducir la competencia por alimentos de posible consumo humano y aumentar su autosuficiencia. Europa es extremadamente dependiente de las importaciones de soja para abastecerse de proteína. La inclusión en el pienso de altas proporciones de soja tiene detractores por su volátil precio, por su alto impacto ambiental al haber desplazado a otros cultivos y bosques para su producción y por ser en muchos casos un organismo modificado genéticamente. Por eso hay un creciente interés por sustituirla con la incorporación de fuentes de proteína de producción local como es el guisante. Dicho cultivo tiene interés agronómico ya que fija el nitrógeno e interés como práctica que se enmarca en las prácticas beneficiosas para el clima y el medio ambiente o “greening” recogida en la Política Agraria Común.

Los guisantes tienen un alto contenido en almidón (48%, Petit et al., 1997) y proteína (19-26%, Soto-Navarro et al., 2012). La degradación ruminal del almidón del guisante es más lenta que en la cebada (Walhain et al., 1992) y la de la proteína es mayor que la de la soja en novillas (Rotger et al., 2006; Vander Pol et al., 2009). Sin embargo, no se ha estudiado el efecto de su incorporación en dietas de corderos. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del nivel de inclusión de guisante en el pienso de corderos de cebo sobre la digestibilidad aparente de la materia orgánica (MO) y del nitrógeno (N).

### MATERIAL Y MÉTODOS

En el ensayo se han valorado 4 piensos de cebo de corderos con distinto nivel de inclusión de guisante (0, 10, 20 y 30%). Los ingredientes de los piensos se ajustaron para reducir al máximo la proporción de soja (Tabla 1), intentando que los piensos fueran iso-proteicos (17,5% proteína bruta) e iso-energéticos (11,8 MJ energía metabolizable/kg).

**Tabla 1.** Ingredientes de los piensos de cebo utilizados según la inclusión de guisante.

Ingredientes	0% (Control)	10%	20%	30%
Cebada 2 carreras	27,3	23,0	15,5	11,4
Maíz nacional	25,7	15,0	7,5	9,2
Harina de soja 47	22,4	17,5	13,0	10,0
Trigo blando	20,0	20,0	25,0	30,0
Guisantes 22/11	0,0	10,0	20,0	30,0
Salvado 20%	0,0	8,5	12,8	6,1
Carbonato cálcico	1,5	1,5	1,3	1,3
Melaza caña	1,5	1,5	1,5	0,0
Aceite de palma	1,0	2,4	2,9	1,4

Para el ensayo se emplearon 12 corderos machos de 4 meses de edad ( $\pm 0,3$ ) y peso medio 33 kg ( $\pm 2,8$ ). El ensayo se realizó en 3 periodos de una duración de 14 días de adaptación y 7 días de toma de muestras. Los corderos se distribuyeron aleatoriamente en 4 lotes equilibrados según la fecha de nacimiento, el peso vivo (PV) al inicio del periodo, la ganancia de peso previa y el tratamiento previo, para que ningún cordero repitiera pienso. El número de corderos por pienso está en la Tabla 3. Se calculó el aporte de pienso según el peso al inicio del periodo de control para que en los tres periodos la ingestión por kg de PV fuera similar. Los corderos recibieron 700, 750 y 800 g/d de pienso en los periodos 1, 2 y 3



respectivamente. Además, recibieron diariamente 400 g/d de paja en los periodos 1 y 2, y 500 g/d en el periodo 3.

Diariamente, a primera hora de la mañana se registró la oferta y rehusado de alimento, y la excreción de orina y heces de cada jaula. Se tomaron muestras de la oferta, rehusado y heces por animal y periodo para la determinación de su composición química. Las muestras se secaron a 60 °C durante 48 horas y se molieron. La orina (10%) se conservó a 4 °C para determinar el contenido de N.

La materia seca (MS) y las cenizas de los alimentos, rehusados y heces se determinaron según los métodos de la AOAC (AOAC, 1999). La fibra neutro detergente (FND), ácido detergente (FAD) y la lignina ácido detergente (LAD) se determinaron según el método de Van Soest et al. (1991). Para el análisis de FND se empleó una amilasa resistente al calor. El contenido en LAD se analizó con los residuos de FAD por solubilización de la celulosa con ácido sulfúrico. Todas las fracciones se corrigieron por su contenido de cenizas. El N de los alimentos, heces y rehusados se determinó con el método de combustión Dumas, y el de la orina mediante Kjeldhal. A partir de estos datos se estimó la MO y la digestibilidad aparente de la MO (DMO) y del N (DN) de la dieta. Para estimar la DMO del pienso se asumió una DMO de la paja del 44%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A pesar de que se intentaron formular los piensos para que fueran iso-proteicos, el pienso con el 30% de inclusión de guisante presentó un menor contenido en PB y MO que el resto de los piensos (Tabla 2).

**Tabla 2.** Composición química de los alimentos (media  $\pm$  desviación estándar)

Contenido, g/kg	paja	Piensos según la inclusión de guisante			
		0%	10%	20%	30%
Materia seca	852 $\pm$ 24	852 $\pm$ 9	853 $\pm$ 7	851 $\pm$ 6	850 $\pm$ 4
Fibra neutro detergente	795 $\pm$ 10	238 $\pm$ 41	246 $\pm$ 47	245 $\pm$ 35	252 $\pm$ 50
Fibra ácido detergente	480 $\pm$ 11	46,2 $\pm$ 2,9	54,8 $\pm$ 4,4	62,9 $\pm$ 3,7	61,4 $\pm$ 2,6
Lignina ácido detergente	61,0 $\pm$ 1,7	3,6 $\pm$ 2,0	5,0 $\pm$ 2,4	7,8 $\pm$ 2,2	5,6 $\pm$ 2,2
Cenizas	67,2 $\pm$ 7,6	52,3 $\pm$ 1,2	53,0 $\pm$ 1,3	50,9 $\pm$ 0,9	54,3 $\pm$ 1,9
Materia orgánica	933 $\pm$ 8,0	948 $\pm$ 1,2	947 $\pm$ 1	949 $\pm$ 1	946 $\pm$ 2
Proteína bruta	28,0 $\pm$ 6,8	199 $\pm$ 3,2	195 $\pm$ 4	196 $\pm$ 3	188 $\pm$ 3

La inclusión de guisante en el pienso no afectó a la ingestión de pienso, excreción de heces ni orina ( $P > 0,05$ ) (Tabla 3). La excreción de orina registró una gran variabilidad entre animales, por lo que la diferencia de 20 ml/PV<sup>0,75</sup> entre el pienso con el 20% de guisante y el resto de piensos no resultó significativa.

**Tabla 3.** Ingestión y excreción diarias según la inclusión de guisante en el pienso

	0%	10%	20%	30%	Raíz ECM <sup>1</sup>	P-valor
n	7	6	7	7		
Ingestión de pienso, g MS/d PV <sup>0,75</sup>	41,0	40,8	41,1	40,3	1,43	0,87
Ingestión de paja, g MS/d PV <sup>0,75</sup>	17,9	17,9	15,7	18,6	1,61	0,22
Excreción de heces, g MS/d PV <sup>0,75</sup>	16,5	17,4	17,2	17,8	1,15	0,36
Excreción de orina, ml/d PV <sup>0,75</sup>	78,6	70,4	53,3	78,3	5,92	0,51

<sup>1</sup>Error cuadrático medio

La inclusión de guisante en el pienso de los corderos no afectó a la ingestión y excreción de MO ( $P < 0,05$ ) (Tabla 4). Sin embargo, la inclusión de guisante en el pienso tendió a afectar a la DMO aparente de la dieta ( $P = 0,05$ ). Con respecto al pienso Control (0%), la inclusión del 20% y 30% de guisante provocó una disminución de la DMO aparente ( $P < 0,05$ ), mientras

que el pienso con el 10% de guisante presentó una DMO intermedia. La DMO aparente del pienso difirió entre piensos ( $P < 0,05$ ). El pienso con el 20% de guisante presentó la menor DMO aparente del pienso. El motivo de dicha reducción no está claro, aunque podría estar ligado al mayor contenido en LAD del pienso.

**Tabla 4.** Digestibilidad aparente de la materia orgánica (MO) y del nitrógeno (N) según la inclusión de guisante en el pienso de cebo de corderos

	0	10	20	30	Raíz ECM <sup>1</sup>	P-valor
Ingestión MO, g/d kg PV <sup>0,75</sup>	55,4	55,1	53,6	55,4	1,58	0,51
Excreción MO, g/d kg PV <sup>0,75</sup>	15,0	15,9	15,8	16,2	1,12	0,31
DMO dieta, %	73,1 <sup>a</sup>	71,1 <sup>ab</sup>	70,5 <sup>b</sup>	70,6 <sup>b</sup>	1,34	0,05
DMO pienso, %	79,5 <sup>a</sup>	77,0 <sup>ab</sup>	72,3 <sup>b</sup>	77,6 <sup>a</sup>	2,06	0,03
Ingestión N, g/d kg PV <sup>0,75</sup>	1,37	1,35	1,35	1,30	0,24	0,13
Excreción N, g/d kg PV <sup>0,75</sup>	1,09	1,11	1,12	1,07	0,32	0,80
N retenido, g/d kg PV <sup>0,75</sup>	0,29	0,24	0,23	0,22	0,29	0,45
retención N, %	20,9	17,3	16,5	17,4	2,53	0,59

<sup>1</sup>Error cuadrático medio; En un parámetro, medias con distinta letra difieren al  $P < 0,05$

La inclusión de guisante en el pienso no afectó a la ingestión de N, ni a la excreción ni a la retención de N ( $P > 0,05$ ). Por lo tanto, habría que estudiar si la diferente digestibilidad de las dietas obtenidas con los piensos del 20 y 30% de guisante afecta a los rendimientos productivos de los corderos en el cebo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC 1999. AOAC International.
- Petit, H.V., et al. 1997. J. Dairy Sci. 80: 3377-85.
- Rötger, A., et al. 2006. Anim. Feed Sci. Technol. 125: 73-87.
- Soto-Navarro, S.A., et al. 2012. J. Anim. Sci. 90: 585-91.
- Vander Pol, M., et al. 2009. Anim. Feed Sci. Technol. 150: 95-105.
- Van Soest, P.J., et al. 1991. J. Dairy Sci. 74:3583-97
- Walhain, P., et al. 1992. Anim. Feed Sci. Technol. 38: 43-55

**Agradecimientos:** Financiado por INIA (RTA2014-00038-C02-01 y RZP2013-00001-00-00). Contratos de formación de investigadores de S. Lobón y P.J. Rufino financiados por el Gobierno de Aragón e INIA, respectivamente. Contrato de M. Blanco financiado por INIA y FSE. Los autores expresan su agradecimiento al personal del CITA.

#### ORGANIC MATTER AND NITROGEN APPARENT DIGESTIBILITY ACCORDING TO THE INCLUSION OF FIELD PEA ON THE FATTENING CONCENTRATE OF LAMBS

**ABSTRACT:** The use of field pea is being studied to replace soybean in the fattening diets of ruminants in Europe as a local legume. The aim of the study was to evaluate the effect of the inclusion of field pea (0, 10, 20 and 30% inclusion) in the concentrate of lambs on the organic matter and nitrogen apparent digestibility. Lambs were individually stocked in cages for 14 days of adaptation and 7 days of control. During the control period, feeds, orts, feces and urine were collected daily to determine the chemical composition and calculate the organic matter and nitrogen apparent digestibility.

The inclusion on field pea in the concentrate did not affect the intake and excretion of organic matter ( $P > 0.05$ ) but tended to affect the organic matter apparent digestibility of the diet ( $P = 0.05$ ). The 10 and 20% inclusion of field pea reduced digestibility when compared to the 0% inclusion ( $P < 0.05$ ). The inclusion of field pea in the concentrate did not affect the intake of nitrogen, the excretion and retention of nitrogen ( $P > 0.05$ ). It would be advisable to study if the reduction in the organic matter digestibility of the diets with 20 and 30% of field pea affect the performance of fattening lambs.

**Keywords:** *Pisum sativum*; ovine; straw; *in vivo* digestibility

## EFEECTO DEL TIEMPO DE PERMANENCIA DE SEMILLAS DE TEOSINTE EN EL RUMEN DE MORUECOS SOBRE SU EMERGENCIA Y VIABILIDAD

Cirujeda, A.<sup>1</sup>, Pardo, G.<sup>1</sup>, Marí, A.I.<sup>1</sup>, Casasús, I.<sup>2</sup> y Joy, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza, España. <sup>2</sup>Tecnología en Producción y Sanidad Animal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza, España. acirujeda@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

La ingestión de semillas por parte del ganado ovino, sean de cultivo o de malas hierbas, es frecuente durante el pastoreo de los rastrojos. Tras ello, algunas semillas pueden permanecer viables cuando son depositadas en el suelo con las heces. En el caso de especies de malas hierbas invasoras e infestantes de cultivos, el ganado puede actuar como vector dispersando semillas de un campo a otro. En Aragón, en agosto del 2014 se detectó la presencia de teosinte, *Zea mays* ssp. *mexicana ad int.* El teosinte es originario de México y considerado uno de los ancestros del maíz. En maizales se comporta como una mala hierba muy competitiva, reduciendo drásticamente las cosechas hasta un 60% dependiendo de la infestación, según datos obtenidos en México (Balbuena, et al., 2009). Al ser una especie nueva, las medidas que eviten su diseminación son muy recomendables. En este sentido y de acuerdo con lo anteriormente comentado, es importante conocer cómo afecta la fermentación ruminal y el tránsito digestivo a la viabilidad de semillas de teosinte para germinar en el campo tras su expulsión a través de las heces. Debido a la dureza de las semillas se considera posible que un cierto porcentaje de las semillas lleguen al rumen de los animales sin ser masticadas. Por ello el objetivo del trabajo fue el de conocer si las semillas de teosinte continúan siendo viables tras permanecer en el rumen de los moruecos durante diferentes periodos de tiempo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

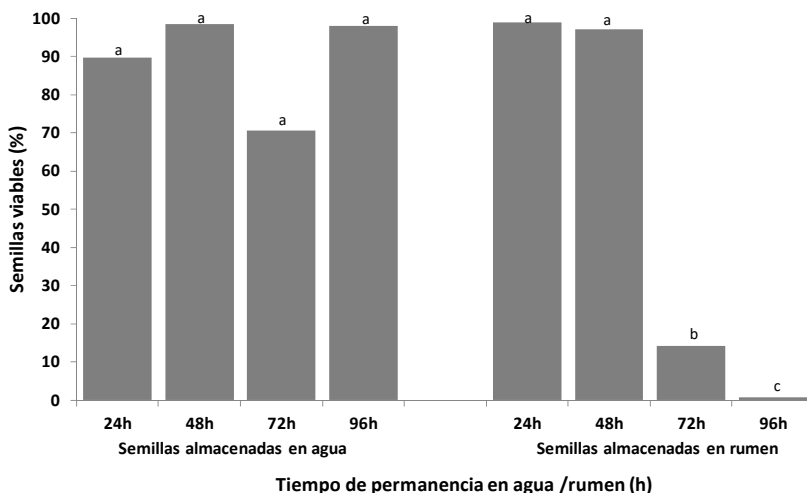
El ensayo se llevó a cabo en las instalaciones del CITA en Montañana (Zaragoza) en abril 2016 con 4 moruecos canulados en rumen. Los animales permanecieron en jaulas individuales de 3 m<sup>2</sup> de superficie y disponían de una dieta constituida por 70:30 heno de alfalfa:cebada, la cual se distribuía en dos veces (8 y 14h) en partes iguales. Se utilizaron semillas de teosinte (*Zea mays* subsp. *mexicana ad int.*) recolectadas en otoño de 2015. Se introdujeron 8 sacos de nylon (50 µm; Ankom, NY, EE.UU.) en el rumen, los cuales contenían 10 semillas cada uno de ellos. Durante 4 días, diariamente se extraían 2 sacos de nylon de cada morueco (24, 48, 72 y 96 horas), obteniendo 8 réplicas de cada tratamiento. A modo de testigo se incluyeron tres repeticiones con 10 semillas cada una mantenidas en agua durante el mismo período de tiempo a 36 °C en una estufa en oscuridad (PSelecta, Digitheat). Una vez extraídos los sacos de nylon del rumen fueron lavados dos veces con agua tibia. Seguidamente se extrajeron las semillas y se procedió a un tercer lavado. Inmediatamente después, las semillas de cada saco fueron sembradas en macetas de plástico con turba hidratada. Las macetas fueron colocadas en una cámara de germinación durante 12 días a 20-30 °C durante 12/12 horas en oscuridad/luz, respectivamente (SCLAB, PGA-180). Se anotó la emergencia (número de plantas germinadas/plantas totales \*100) diariamente y tras 12 días se procedió al desenterrado de las semillas restantes y se practicó la tinción de tetrazolio según el protocolo utilizado por el Centro de Sanidad y Certificación Vegetal de Aragón para analizar semillas de maíz (CSCV, adaptando el protocolo de Porter et al., 1947). Las semillas que mostraron una tinción completa en tamaño e intensidad de la coloración se consideraron vivas, mientras que el resto fue considerado no viable. El porcentaje de viabilidad se calculó sumando la emergencia con el porcentaje de vivas.

Previo al ANOVA, los datos se tuvieron que transformar según  $\arcsen((raíz(x/100)))$  para cumplir con los criterios de normalidad de los datos y de homogeneidad de varianzas mediante Mintab V.13.1. Los datos se analizaron, en primer lugar, en un

ANOVA conjunto en el que se incluyeron los factores “tiempo de permanencia”, “medio” y su interacción, pero al ser significativa dicha interacción se optó considerar como tratamientos cada combinación de “tiempo” y “medio”. En este último análisis se realizó la separación de medias ( $P < 0,05$ ) utilizando el test Student-Newman-Keuls (SNK).

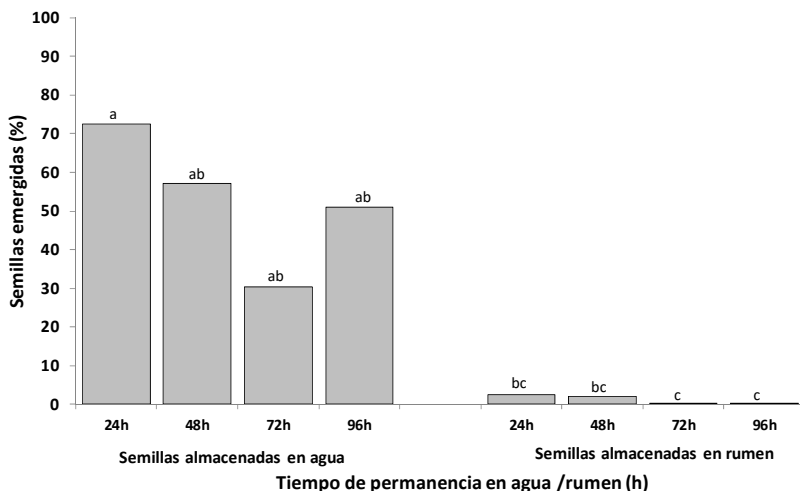
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las semillas mantenidas en agua fueron viables hasta el final del periodo estudiado (96 horas), mientras que las semillas que habían permanecido en el rumen de los moruecos perdieron su viabilidad a partir de las 72 horas, incrementándose esa pérdida todavía más a las 96 horas (Figura 1).



**Figura 1.** Porcentaje de semillas de teosinte viables tras permanecer 24, 48, 72 y 96 horas en rumen o en agua a 36°C.

Diferentes letras se refieren a diferencias a  $P < 0,05$ .



**Figura 2.** Porcentaje de semillas de teosinte emergidas tras permanecer 24, 48, 72 y 96 horas en rumen o en agua a 36°C.

Diferentes letras se refieren a diferencias a  $P < 0,05$ .

En cuanto a la emergencia, el efecto de la permanencia en el rumen se notó ya a partir de las 24 horas siendo significativamente menor ( $P < 0,05$ ) que la de las semillas mantenidas en agua durante el mismo período de tiempo. Utilizando otras especies invasoras (*Eragrostis lehmanniana*), Fredrickson et al. (1997) no detectaron este efecto sobre la germinación de las semillas hasta después de 72 horas de incubación ruminal en moruecos. Según Hogan y Phillips (2011) el tiempo de permanencia de las semillas de malas hierbas en un animal suele estar comprendido entre 30 y 70 horas, así que sería posible que semillas de teosinte no masticadas pudiesen mantener su viabilidad después de permanecer en el rumen en el caso de estar menos de 48 horas en él. No obstante, este estudio es preliminar y falta tener en cuenta el efecto físico-químico de la masticación y de la abrasión que ocurre en los intestinos que posiblemente pueda reducir dicha viabilidad. En cuanto a la reducción de emergencia detectada tras la permanencia en el rumen, ésta posiblemente sea debida a una inducción de dormición secundaria. Dado que se observa ya a partir de las 24 horas de permanencia es muy probable que este efecto se produzca en la mayoría de casos. Como conclusión se puede decir que la permanencia de semillas de teosinte en el rumen de corderos tuvo un efecto inhibitorio sobre la emergencia en las primeras 24 horas estudiadas. Sin embargo, la viabilidad sólo se vio reducida a partir de 72 horas de permanencia. Así, en caso de ingesta de semillas de teosinte sin masticar, una parte de ellas permanece viable tras su paso por el rumen, dependiendo del tiempo de permanencia en él. No obstante esta viabilidad podría reducirse todavía más en el momento de la excreción, tras la abrasión físico-química en los intestinos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balbuena, A., González A., Pérez D.J., Franco A.L. & S. Sánchez. 2009. Germinación y emergencia del teocintle con otras especies cultivables. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. XXX Congreso de la ASOMECIMA, Culiacán, Sinaloa, México
- Fredrickson, E. L., R. E. Estell, K. M. Havstad, T. Ksiksi, J. V. Tol, & M. D. Remmenga. 1997. Effects of ruminant digestion on germination of Lehmann love-grass seed. *J. Range Manage.* 50: 20-26.
- Hogan J.P. & Phillips C.J.C. (2011). Transmission of weed seed by livestock: a review. *Animal Production Science* 51, 391-398.
- Porter, R., Durrell, M. & Romm, H. (1947). The use of 2,3,5-triphenyl-tetrazoliumchloride as a measure of seed germinability. *Plant Physiol* 22: 149.

**Agradecimientos:** Agradecemos la colaboración de Angelines Legua, Guillermo Tanco, Fernando Arrieta, José Ángel Alins y Jorge Pueyo.

#### EFFECT OF TIME PERIODO IN SHEEP RUMEN ON EMERGENCE AND VIABILITY OF TEOSINTE SEEDS

**ABSTRACT:** One in-vivo trial on fistulized sheep was established in 2016 to assess emergence and viability of the invasive weed teosinte (*Zea mays* spp. *mexicana*). Seeds were maintained 24, 48, 72 and 96 hours in the rumen of 4 wethers and as a comparison seeds were maintained in distilled water at 36°C in darkness during the same periods of time. Results showed that emergence was lower already after 24 hours in the rumen but viability decreased only after 72 hours of more. No significant decrease was recorded for the seeds kept in water. Thus, in case of ingestion of teosinte seeds without chewing, viable seeds could be excreted despite seeds might suffer loss of viability afterwards due to abrasion in the intestines.

**Keywords:** invasive weed, *Zea mays* spp. *mexicana*, wethers, tetrazolium viability test.

## COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO* DE SUBPRODUCTOS DE CÍTRICOS

De Evan, T.<sup>1</sup>, Haro, A.N.<sup>1</sup>, de Blas, C.<sup>1</sup>, García-Rebollar, P.<sup>1</sup>, Ferrer, P.<sup>2</sup>, Cerisuelo, A.<sup>3</sup>, Ranilla, M.J.<sup>4</sup> y Carro, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dpto. Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. <sup>2</sup> Institute of Animal Science and Technique. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s.n. 46022 Valencia, España. <sup>3</sup> Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Pol. La Esperanza 100, 12400 Segorbe (Castellón), España.

<sup>4</sup> Dpto. Producción Animal, Universidad de León, 24071 León. Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros (León), España.  
t.deevan@alumnos.upm.es

### INTRODUCCIÓN

España es el mayor productor de cítricos de la Unión Europea y el quinto a nivel mundial, con una producción anual superior a cinco millones de toneladas (MAGRAMA, 2016). Este sector genera una gran cantidad de subproductos, con un elevado aporte energético y alto contenido en pectinas y azúcares, por lo que podrían usarse como materias primas en dietas para rumiantes. Sin embargo, los subproductos de cítricos son muy diversos, por lo que su composición química y valor nutritivo también puede ser variable (FEDNA, 2010; Feedipedia, 2016). El objetivo de este trabajo fue analizar la composición química y la producción de gas *in vitro* de subproductos de cítricos producidos en nuestro país.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 muestras de subproductos de cítricos (10 de naranja y 10 de limón) obtenidas en diferentes empresas procesadoras. Para cada tipo de cítrico, cinco muestras estaban formadas por pulpa y otras cinco por corteza, según la clasificación realizada por las empresas. Además se incluyeron con fines comparativos una muestra de cebada y otra de pulpa de remolacha. Las muestras de subproductos se liofilizaron y se molieron usando una malla de 1mm de paso para su análisis químico (Tabla 1) y fermentación *in vitro*.

**Tabla 1.** Composición química (mínimo-máximo) de los subproductos y materias primas de comparación.

Muestra	Naranja		Limón		Cebada	Pulpa de remolacha
	Corteza	Pulpa	Corteza	Pulpa		
MS <sup>1</sup>	156 - 225	184 - 204	117 - 215	130 - 169	89,9	90,2
MO <sup>2</sup>	965 - 969	968 - 969	954 - 961	933 - 959	98,4	94,9
PB <sup>2</sup>	51,3 - 67,9	58,4 - 73,3	65,8 - 81,9	57,1 - 79,6	11,2	9,41
EE <sup>2</sup>	15,5 - 55,6	20,3 - 49,0	43,8 - 80,5	44,2 - 54,4	2,52	0,80
Azúcares <sup>2</sup>	431 - 523	409 - 544	196 - 295	236 - 389	NA <sup>3</sup>	NA <sup>3</sup>
FND <sup>2</sup>	132 - 218	163 - 215	278 - 431	190 - 354	16,8	48,1
FAD <sup>2</sup>	97,7 - 123	89,0 - 133	153 - 202	142 - 184	6,92	24,2

<sup>1</sup>g/kg materia fresca; <sup>2</sup>g/kg MS; <sup>3</sup>no analizado

Se realizó una incubación *in vitro* con líquido ruminal obtenido de cuatro ovejas adultas fistuladas en el rumen y alimentadas con heno de gramíneas y concentrado en proporción 2:1. Se incubaron 200 mg de materia seca (MS) de cada muestra en viales de 60 ml, a los que se añadieron 20 ml de una mezcla del líquido ruminal de cada oveja y medio de cultivo (Goering y Van Soest, 1970) en relación 1:4 (vol/vol). Los viales se incubaron a 39°C y se midió la producción de gas a las 2, 4, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60, 72 y 96 horas. A la producción de gas en los viales se le restó la originada en el blanco correspondiente para corregir la producción de gas endógena. Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo:  $Y = PP (1 - e^{-(c(t - Lag))})$ , en el que  $c$  es el ritmo fraccional de producción de gas,  $PP$  su producción potencial,  $Lag$  es el tiempo necesario para que comience la producción de

gas y t es el tiempo de medida. Asimismo, se calculó la degradabilidad efectiva de la MS para un ritmo de paso del 6% (DEMS<sub>6</sub>).

Los datos de composición química se analizaron mediante un análisis de varianza factorial, en el que los factores fueron el tipo de cítrico (naranja vs. limón), la fracción (pulpa vs. corteza) y la interacción cítrico x fracción. Los parámetros de producción de gas se analizaron con el mismo modelo, pero además se incluyó el inóculo como un efecto aleatorio. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS y el nivel de significación estadística se estableció en P<0,05.

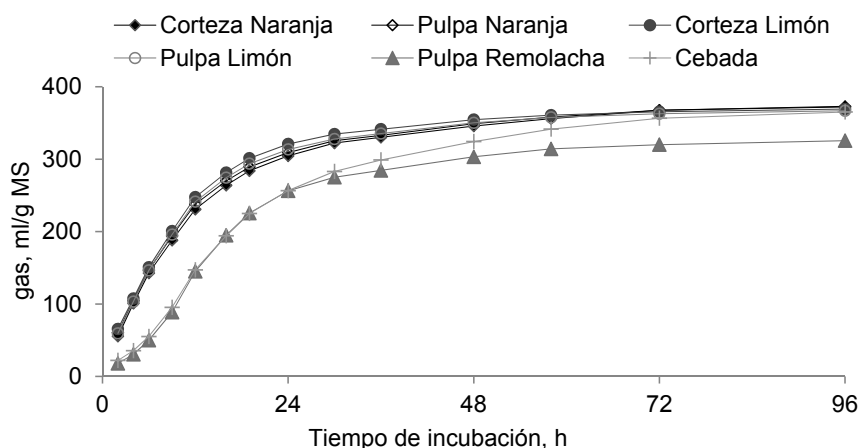
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los subproductos de naranja presentaron mayor (P≤0,007) contenido en MS, materia orgánica y azúcares y menor (P≤0,004) contenido en proteína bruta (PB), extracto etéreo (EE), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) que los subproductos de limón (Tabla 2). Sin embargo, no hubo diferencias entre la corteza y pulpa en ninguna de las fracciones químicas analizadas (P>0,05), excepto una tendencia (P=0,07) a un mayor contenido en extracto etéreo en la pulpa que en la corteza. Todos los valores estuvieron en el rango de los descritos por otros autores (Bampidis y Robinson, 2006; Feedipedia, 2016). La composición química puede variar en función del tipo de cítrico, pero también del abonado, la climatología y los procesos industriales de los que se obtienen los subproductos cítricos.

**Tabla 2.** Efecto del tipo de cítrico (C) y la fracción del subproducto (F) en la composición química de subproductos de cítricos.

Muestra	Cítrico		Fracción		EEM <sup>2</sup>	P-valor		
	Naranja	Limón	Corteza	Pulpa		C	F	C x F
MS <sup>1</sup>	190	152	171	170	12,2	0,007	0,95	0,81
MO <sup>2</sup>	968	953	959	962	2,4	0,001	0,24	0,06
PB <sup>2</sup>	60,1	70,5	65,3	65,3	3,10	0,004	0,99	0,08
EE <sup>2</sup>	34,2	57,1	40,2	51,1	5,55	0,001	0,07	0,48
Azúcares <sup>2</sup>	460	289	392	356	26,6	0,001	0,20	0,08
FND <sup>2</sup>	189	313	239	262	22,4	0,001	0,32	0,32
FAD <sup>2</sup>	115	170	139	146	7,6	0,001	0,42	0,41

<sup>1</sup>g/kg materia fresca; <sup>2</sup> g/kg MS; <sup>3</sup> error estándar de la media.



**Figura 1.** Producción de gas de subproductos de cítricos, pulpa de remolacha y cebada.

La producción de gas hasta las 60 horas de incubación fue mayor en los subproductos de cítricos que en la cebada y la pulpa de remolacha (Figura 1), lo que ocasionó menores valores de *Lag* (< 0,9 h) para los subproductos que para la cebada y pulpa de remolacha (>3,0 h). No se observaron interacciones cítrico x fracción en los parámetros de producción de gas, excepto en el parámetro *c* ( $P=0,005$ ; Tabla 3). Los subproductos del limón tuvieron mayores valores de *Lag* y *c* que los de naranja, pero no hubo diferencias ( $P>0,05$ ) entre cítricos en los valores de PP y DEMS<sub>6</sub>. El menor *Lag* de los subproductos de naranja pudo deberse a su mayor contenido en azúcares, que son rápidamente degradados en el rumen. No se detectaron diferencias ( $P<0,05$ ) entre fracciones en ninguno de los parámetros de producción de gas.

**Tabla 3.** Efecto del tipo de cítrico (C) y la fracción del subproducto (F) en los parámetros de la cinética de producción de gas de los subproductos de cítricos

	Cítrico		Fracción		EEM <sup>5</sup>	P-valor		
	Naranja	Limón	Corteza	Pulpa		C	F	C x F
PP <sup>1</sup> (ml/g MS)	361	360	361	361	2,2	0,52	0,63	0,56
<i>c</i> <sup>2</sup> (%/h)	8,33	9,41	8,97	8,86	0,142	0,001	0,97	0,005
<i>Lag</i> <sup>3</sup> (h)	0,28	0,57	0,39	0,43	0,063	0,001	0,90	0,79
DEMS <sub>6</sub> <sup>4</sup> (%)	54,2	53,9	54,7	53,8	0,40	0,45	0,26	0,37

<sup>1</sup> producción potencial de gas; <sup>2</sup> ritmo fraccional de producción de gas. <sup>3</sup> tiempo hasta que empieza la producción de gas; <sup>4</sup> degradabilidad efectiva de la materia seca para un ritmo de paso de 6,0%. <sup>5</sup> error estándar de la media.

En resumen, todos los subproductos de cítricos analizados se degradaron en el rumen más rápidamente que la cebada y la pulpa de remolacha y existieron pocas diferencias entre ellos en su cinética de producción de gas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bampidis V.A., Robinson P.H. 2006. Anim. Feed Sci. Technol. 128: 175–217.
- FEDNA. 2010. Ed.: C. de Blas et al. Madrid.
- Feedipedia. 2016. Base de datos. <http://www.feedipedia.org>. Consultado 15/07/2016.
- Goering, H. K., Van Soest, P. J. 1970. Agricultural Research Service-USDA, Washington, D.C.
- MAGRAMA. 2016. Avances de Superficies y Producciones Agrícolas. Ed. MAGRAMA, Madrid.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2016-75322-C2-1-R, AGL2016-75322-C2-2-R y AGL2014-56653-C3-1-R.

#### CHEMICAL COMPOSITION AND GAS PRODUCTION KINETICS OF CITRUS BY-PRODUCTS

**ABSTRACT:** The objective of this study was to analyze the chemical composition and *in vitro* gas production of samples of citrus by-products produced in Spain. Ten samples of citrus pulp (5 from orange and 5 from lemon) and 10 samples of citrus peel (5 from orange and 5 from lemon) were used, and samples of barley grains and sugar beet pulp were included for comparison. The contents (g/kg dry matter) in neutral detergent fibre (189 – 310), sugars (289 – 460), crude protein (513 – 819) and ether extract (34.2 – 57.1) were variable, but in the range reported in the literature. Lemon samples had higher ( $P<0.05$ ) fiber, crude protein and ether extract contents compared with orange samples, but lower ( $P<0.05$ ) sugars content. There were no differences ( $P>0.05$ ) between fractions (pulp vs. peel) in chemical composition. The potential gas production and gas production rate of all by-products were similar to those for barley, but the *lag* time of the citrus by-products was lower (<0.9 vs. >3.0 h), possibly due to their high sugars content. The results indicate that citrus by-products can be an adequate energy source in the diets of ruminants replacing barley.

**Keywords:** citrus by-products, *in vitro* gas production, chemical composition, ruminants.



## COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* EN PORCINO Y RUMIANTES DE SUBPRODUCTOS DE LA ACEITUNA

Farias, C., Marcos, C.N., García-Rebollar, P., Rodríguez, C.A., Carro, M.D. y de Blas, C. Departamento de Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. [c.deblas@upm.es](mailto:c.deblas@upm.es)

### INTRODUCCIÓN

Durante la obtención del aceite de oliva se generan grandes cantidades de subproductos que tienen un alto poder contaminante, pero también contienen nutrientes, por lo que pueden ser utilizados en alimentación animal. Dos de estos subproductos son la pulpa de aceituna y el orujillo, ambos procedentes del procesado del alperujo. El alperujo, tras ser deshidratado y retirados los restos de huesos, genera pulpa de aceituna, cuya grasa puede ser posteriormente extraída y se genera orujillo. La composición química de estos subproductos varía ampliamente según las características de la aceituna y las condiciones de cultivo, pero también con el procesado que sufren en las orujeras, influyendo todos estos factores en su valor nutritivo (Molina-Alcaide et al., 2003). El objetivo de este trabajo fue analizar la variabilidad existente en la composición química de muestras de pulpa de aceituna y orujillo y la relación entre la composición química y su digestibilidad *in vitro* en porcino y rumiantes.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 24 muestras, 15 de pulpa de aceituna y 9 de orujillo, que fueron recogidas en diferentes fechas en cuatro orujeras. Doce de las muestras (6 de pulpa de aceituna y 6 de orujillo) procedían de la misma balsa y fueron recogidas a intervalos de un mes, durante seis meses consecutivos. Las muestras se molieron (1 mm) y se analizó su composición química (AOAC, 1999) y su digestibilidad *in vitro*. La determinación de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (MS) en porcino se llevó a cabo según la metodología propuesta por Boissen (1991), con las modificaciones descritas por Abad *et al.* (2013). El procedimiento se realizó en bolsas de poliéster (Ankom Corp #57; 30 µm; Ankom Technology Corp., Fairport, NY, EE.UU.), en las que se pesaron 500 mg de muestra y se sometieron a tres incubaciones sucesivas con pepsina, pancreatina y viscozyme. Para prevenir adherencias de la muestra en las bolsas se realizaron tres lavados con acetona y se dejaron en papel absorbente. Por último, se secaron las bolsas a 103 °C durante 24 h.

Para la determinación de la digestibilidad verdadera *in vitro* de la materia seca en el rumen (Van Soest et al., 1966) se pesaron 300 mg de muestra en bolsas de poliéster (Ankom Corp #57) y se incubaron con una mezcla 1:4 de líquido ruminal y el medio de cultivo de Goering y Van Soest (1970) durante 24 horas. El líquido ruminal se obtuvo de cuatro ovejas, que recibieron dos veces al día con heno de gramíneas y concentrado en proporción 2:1. Posteriormente, las bolsas se lavaron con agua fría, se secaron en estufa (60 °C), se trataron con una solución neutro detergente y ebullición durante 1 hora, se lavaron y se secaron (60 °C) para calcular la digestibilidad *in vitro* de la MS.

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y se utilizaron bolsas sin contenido como blanco en cada tanda de incubación. Las incubaciones se llevaron a cabo en un incubador (Ankom Daisy II; Ankom Technology Corp., Fairport, NY, EE.UU.) a 39 °C y con rotación continua. Las relaciones entre la composición química y la digestibilidad *in vitro* se analizaron mediante análisis de regresión, usando el Proc REG (opción stepwise) del programa SAS (Statistical Analysis Systems, Inst. Inc., Cary, NC).

### Resultados y Discusión

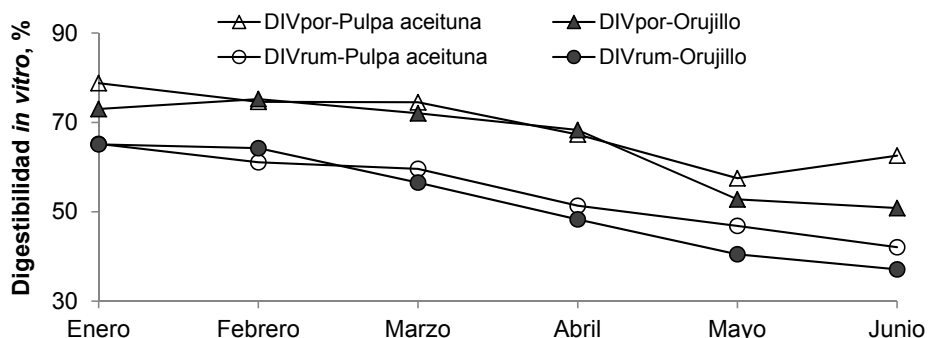
Se observaron pocas diferencias entre la pulpa de aceituna y el orujillo en los valores extremos (máximo y mínimo) de los contenidos en proteína bruta y azúcares (Tabla 1). En cuanto al contenido en extracto etéreo, en las muestras de pulpa de aceituna llegó al 19,5%, mientras que en las muestras de orujillo fue inferior al 3,5%. Los valores de digestibilidad *in vitro* de la MS en porcino de la pulpa de aceituna y el orujillo fueron mayores que los valores obtenidos en rumiantes. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la digestibilidad en porcino estima la digestibilidad en el total de tracto digestivo, mientras que la de rumiantes estima la digestibilidad verdadera en el rumen.

La digestibilidad *in vitro* de la pulpa de aceituna fue mayor que la del orujillo, tanto en porcino como en rumiantes.

**Tabla 1.** Composición química y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIV) de muestras de pulpa de aceituna y orujillo

Item	Pulpa de aceituna (n = 15)		Orujillo (n = 9)	
	Media	Mínimo - máximo	Media	Mínimo - máximo
Materia seca (MS), % MF	90,6	86,2 - 94,4	88,6	86,0 - 90,8
Materia orgánica, %MS	92,3	88,7 - 94,8	91,9	89,4 - 93,5
Fibra neutro detergente, %MS	55,4	42,4 - 71,2	64,5	52,8 - 76,6
Fibra ácido detergente, %MS	39,2	29,1 - 48,7	45,2	38,5 - 51,7
Lignina ácido detergente, %MS	19,6	13,6 - 23,9	22,2	19,7 - 24,8
Extracto etéreo, %MS	12,7	8,60 - 19,5	1,59	0,40 - 3,20
Proteína bruta (PB), %MS	10,5	8,30 - 13,9	11,1	9,90 - 14,7
PB-fibra ácido detergente, %MS	5,16	3,25 - 6,78	5,88	4,90 - 7,63
Azúcares, %MS	3,92	0,80 - 20,2	5,74	0,80 - 19,7
Energía bruta, MJ/kg MS	22,5	21,5 - 23,6	20,0	19,5 - 20,8
DIV porcino, %	66,2	51,3 - 78,8	61,9	50,8 - 75,2
DIV rumiantes, %	52,5	36,6 - 65,2	48,7	37,1 - 65,1

Los valores de digestibilidad *in vitro* de la materia seca en porcino y rumiantes se redujeron al aumentar el tiempo de almacenamiento en la balsa ( $P < 0,001$ ; Figura 1), aunque la reducción fue, en general, más acusada para los valores de los rumiantes. Existieron pocas diferencias entre los dos tipos de subproductos (pulpa de aceituna y orujillo) en sus valores de digestibilidad *in vitro* de la MS, pero las diferencias se acentuaron al aumentar el tiempo de almacenamiento.



**Figura 1.** Efecto de la fecha de recogida de muestras de pulpa de aceituna y orujillo en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (%) en porcino (DIVpor) y en el rumen (DIVrum).

La Digestibilidad *in vitro* de la MS en porcino se pudo predecir a partir del contenido en fibra ácido detergente y azúcares y la de rumiantes a partir del contenido en fibra neutro detergente y azúcares cuando se utilizaron las 24 muestras (Tabla 2). La Digestibilidad *in vitro* de la MS en porcino se pudo predecir a partir del contenido en fibra ácido detergente (FAD) y azúcares y en rumiantes a partir del contenido en fibra neutro detergente (FND) y azúcares cuando se utilizaron las 24 muestras (Tabla 2). Para las muestras de pulpa de aceituna, la digestibilidad *in vitro* de la MS en porcino se predijo a partir del contenido en FAD, proteína bruta y azúcares y la de rumiantes a partir del contenido en FAD y azúcares.

Para las muestras de orujillo se obtuvo una buena predicción a partir del contenido en FND y extracto etéreo en porcino y del contenido en FND y azúcares en rumiantes. En todos los casos el aumento las fracciones FAD y FND ocasionó una disminución de la digestibilidad *in vitro* de la MS y el aumento del contenido en azúcares la afectó positivamente.

**Tabla 2.** Ecuaciones de predicción de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIV) en porcino y rumiantes de muestras de pulpa de aceituna y orujillo a partir de la composición química

	Ecuación <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	P-valor
<b>Pulpa de aceituna y orujillo</b>			
DIV porcino	111,3 (±6,77) – 1,19 (±0,15) FAD + 0,53 (±0,18) AZ	0,82	0,001
DIV rumiantes	95,1 (±4,28) – 0,79 (±0,07) FND + 0,56 (±0,13) AZ	0,91	0,001
<b>Pulpa de aceituna</b>			
DIV porcino	45,6 (±21,08) – 0,56 (±0,25) FAD + 3,60 (±0,25) PB +1,16 (±0,28) AZ	0,91	0,001
DIV rumiantes	103,4 (±4,61) – 1,34 (±0,11) FAD + 0,40 (±0,14) AZ	0,94	0,001
<b>Orujillo</b>			
DIV porcino	124,7 (±10,04) – 1,04 (±0,15) FND + 2,48 (±1,22) EE	0,90	0,001
DIV rumiantes	97,2 (±4,28) – 0,81 (±0,16) FND + 0,67 (±0,24) AZ	0,95	0,001

<sup>1</sup> FAD: fibra ácido detergente; AZ: azúcares; FND: fibra neutro detergente; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo. Todas las fracciones expresadas en g/100 g de materia seca.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2014-56653-C3-1-R y AGL2016-75322-C2-1-R, ambos financiados por el MINECO. Nuestro agradecimiento al Dr. Fernando Bacha por su ayuda para obtener las muestras utilizadas en este trabajo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• AOAC 1999. Official Methods of Analysis. Ed. Association of Official Analytical Chemists. (16th ed. 5th rev.). Internacional. • Abad R. et al. 2013. Anim. Feed Sci. Technol., 182: 61-70. • Boissen S. 1991. CAB international, Wallingford, UK., pp.135-145. • Goering, H. K., Van Soest P.J. 1970. Agricultural Research Service-USDA, Washington, D.C. • Molina-Alcaide E. et al., 2003. Small Rumin. Res. 49: 329–336. • Van Soest P.J. et al., 1966. Proc. 10th Int. Grasslands Congress pp. 438-441. Helsinki, Finnish Grassland Association.

#### CHEMICAL COMPOSITION AND *IN VITRO* RDRY MATTER DIGESTIBILITY IN PIG AND RUMINANTS OF OLIVE BY-PRODUCTS

**ABSTRACT:** The objective of this study was to analyze the variability in chemical composition and dry matter *in vitro* digestibility in pigs (IVDpig) and true dry matter *in vitro* digestibility in the rumen (IVDrum) of 24 samples of olive by-products (15 of crude olive cake (COC) and 9 of exhausted olive cake (EOC)). There was great variability in the content (% dry matter) of neutral detergent fibre (NDF; 42.4 - 71.2% for COC and 52.8 - 76.6% for EOC), acid detergent fibre (ADF; 29.1 – 48.7% and 38.5 – 51.7%), acid ether extract (EE; 8.60 – 19.5% and 0.40 – 3.20%), crude protein (CP; 8.30 – 13.9% and 9.90 – 14.7%) and sugars (0.80 – 20.2 and 0.80 – 19.7%). Values of IVDpig ranged from 51.3 to 78.8% for COC and from 50.8 to 75.2% for EOC, whereas those of IVDrum ranged from 36.6 to 65.2 for COC and from 37.1 to 65.1% for EOC. Both IVDpig and IVDrum decreased by increasing the storage time in the pond. The IVDpig could be predicted from ADF and sugars content (P<0.001; R<sup>2</sup> = 0.82) and IVDrum from NDF and sugars content (P<0.001; R<sup>2</sup> = 0.91).

**Keywords:** crude olive cake, exhausted olive cake, chemical composition, *in vitro* digestibility

## **FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE CEBADA EN FUNCIÓN DE NIVEL DE INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN DIETAS PARA EL CEBO DE TERNEROS**

Amanzougarene, Z., Yuste, S., Vega A. y Fondevila, M.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. [mfonde@unizar.es](mailto:mfonde@unizar.es)

### **INTRODUCCION**

En dietas para rumiantes en cebo intensivo, así como para vacuno lechero, la adición de grasa en el concentrado permite aumentar la concentración energética y modificar el perfil de ácidos grasos absorbidos, además de atenuar la actividad fermentativa (Palmquist y Jenkins, 1980), contribuyendo a reducir el riesgo de acidosis ruminal. Sin embargo, un nivel de inclusión excesivamente alto puede afectar negativamente a la microbiota del rumen y a sus procesos fermentativos, efecto que puede variar con la naturaleza de la grasa (Doreau et al., 2009, Beauchemin et al., 2009). Los ácidos grasos de cadena media tienen un efecto antimicrobiano selectivo (Henderson, 1973), mientras que los de cadena larga deprimen la actividad microbiana en general, en especial los insaturados (Jenkins 1994). Este trabajo estudia, en condiciones *in vitro*, si la inclusión de diferentes dosis de ácidos grasos en dietas ricas en concentrado para el cebo de terneros puede reducir o ralentizar el ritmo de la fermentación microbiana, y con ello evitar un excesivo descenso del pH ruminal, contribuyendo a la prevención de la acidosis.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizaron tres tandas de incubación *in vitro* de 24 horas, a 39 °C y en atmósfera de CO<sub>2</sub>, en un sistema con cultivos ruminales no renovados, reduciendo la concentración de bicarbonato en la solución de incubación para mantener el pH alrededor de 6,2 (Amanzougarene et al., 2015). Se empleó cebada como modelo de sustrato concentrado (500 mg por botella), sola o suplementada con tres niveles (2, 4 y 6 mg/g) de una mezcla de AGM (de 6 a 12 átomos de carbono, Ka Plus, NUTRIKA Managing Animal Nutrition) y dos sustratos comerciales, diferentes en cuanto a tamaño y grado de saturación; ácido palmítico (PAL) y ácido linoleico (LIN), ambos incluidos a 15, 30 y 45 mg/g. Las dosis de inclusión de ácidos grasos de cadena media fueron menores que las de ácido linoleico y ácido palmítico debido a que, mientras los efectos del primer aditivo son selectivos sobre determinadas especies de bacterias ruminales, pudiendo modificar así la actividad microbiana, en los últimos la respuesta depende de la reducción de la actividad fermentativa general en función de su concentración (Jenkins 1994). Se incubaron tres botellas por tratamiento y tanda, con 80 ml de medio de incubación. Como inóculo se empleó líquido de rumen procedente de tres terneros de cebo canulados, utilizando inóculo de un ternero diferente en cada tanda. La producción de gas se determinó por cambios de presión a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 y 24 h de incubación, que se presenta por unidad de materia orgánica (MO). A las 8 h se determinó el pH del medio con una botella por tratamiento. Al finalizar la incubación, se determinó el pH a las 24 h y se estimó la desaparición de materia seca (dMS). La masa microbiana de la fase líquida se determinó por centrifugación a 10000 x g durante 20 minutos (Hsu y Fahey, 1990). Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA, considerando la tanda de incubación como bloque y la media de las botellas como unidad experimental. Los niveles de inclusión de cada aditivo se compararon respecto al control (sin aditivo) mediante el test de Dunnett y se establecieron contrastes ortogonales para comparar los aditivos entre sí y contrastes polinomiales (lineal y cuadrático) para estimar la tendencia en la respuesta de cada aditivo. Las diferencias se consideraron significativas cuando  $P < 0,05$ .

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

La inclusión de los distintos niveles tanto de AGM como de ácido palmítico no afectó al volumen de gas producido por la fermentación de la cebada (Tabla 1). De hecho, en ningún caso se detectaron diferencias entre ninguno de los niveles de inclusión de estos compuestos y la cebada no suplementada (Control). Por el contrario, la inclusión del nivel alto de ácido linoleico promovió una menor producción de gas ( $P < 0,05$ ) respecto al volumen de gas producido con la cebada no suplementada a partir de las 12 h de incubación, que se reflejó en una evolución descendiente de tipo cuadrático ( $P < 0,05$ ) durante todo el periodo de incubación, promovido por el menor volumen de gas registrado con el nivel de inclusión alto

respecto al Control. No se detectaron diferencias entre los diferentes aditivos en cuanto a la producción de gas, aunque con AGM tendió a ser mayor que con ácido linoleico a las 18 y 24 h de incubación ( $P=0,09$  y  $P=0,07$ , respectivamente).

**Tabla 1.** Volumen de gas producido (ml/g MO) a distintos tiempos de incubación *in vitro*, con cebada sola (0) o con tres niveles (bajo, medio y alto) de una mezcla de ácidos grasos de cadena media (AGM), ácido palmítico y ácido linoleico

	Nivel	tiempo de incubación, h					
		2	6	10	12	18	24
Control	0	29,8	79,6	117,5	132,5	153,6	175,6
AGM	Bajo	26,5	69,5	101,3	116,2	136,6	157,0
	Medio	23,7	67,1	98,0	111,2	130,3	149,9
	Alto	21,7	63,0	94,1	107,2	125,5	141,9
valor medio	---	24,0	66,5	97,8	111,5	130,8	141,6
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ácido palmítico	Bajo	18,2	59,7	91,2	105,4	123,1	142,7
	Medio	17,6	57,6	90,1	104,2	120,5	140,4
	Alto	16,8	55,8	86,7	99,8	118,6	140,0
valor medio	---	17,5	57,7	89,3	103,1	120,7	141,0
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ácido linoleico	Bajo	24,2	67,7	97,0	109,9	125,7	144,5
	Medio	13,9	54,4	83,7	96,6	114,0	132,4
	Alto	13,6	51,3	79,0	90,0*	105,2*	122,7*
valor medio	---	17,2	57,8	86,6	98,8	115,0	133,2
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		0,03	0,03	0,02	0,01	0,01	0,007
desviación residual estándar		9,75	14,93	16,55	17,00	18,73	18,38

NS:  $P>0,05$ ; \*: valores con asterisco indican diferencias con el control ( $P<0,05$ )

No se observó una respuesta a la adición de los distintos ácidos grasos sobre el pH de incubación a las 8 y 24 h, excepto una tendencia cuadrática ( $P=0,06$ ) al aumento del pH a las 24 h con AGM. Esta ausencia de respuesta a las 8 h puede deberse en parte por la inclusión, aunque a baja concentración, de tampón en el medio de incubación para mantenerlo a niveles próximos a 6,2. No obstante, a partir de ese tiempo la capacidad tampón se consume en estas condiciones de incubación (Amanzougarene et al., 2015), por lo que la respuesta a las 24 h puede considerarse independiente del tampón del medio. La inclusión de AGM a niveles intermedio y alto redujo la dMS de la cebada ( $P<0,05$ ), mostrando un descenso cuadrático ( $P=0,001$ ) respecto al control. Igualmente, la inclusión de ácido linoleico redujo de forma cuadrática la dMS respecto al control ( $P=0,006$ ), mientras que ácido palmítico no afectó a este parámetro ni a la producción de gas. La inclusión tanto de AGM como de ácido linoleico redujo cuadráticamente ( $P<0,05$ ) respecto al control la masa microbiana asociada a la fase líquida, aunque hay que tener en cuenta que el método de estimación de este parámetro es inespecífico, y determina únicamente la masa microbiana de la fase líquida, por lo que sus resultados deben tomarse con precaución.

La inclusión de los tres aditivos no afectó de forma manifiesta la fermentación microbiana *in vitro* de la cebada en términos de los parámetros estudiados, aunque promovieron una mayor llegada de material potencialmente digestible a tramos posteriores. Sin embargo, las diferencias en la respuesta entre el volumen de gas producido y la dMS sugieren que el patrón de fermentación, en términos de proporciones molares de ácidos grasos volátiles, pudo ser diferente, aunque no se dispone de resultados al respecto. Es de destacar la tendencia ( $P=0,06$ ) a un aumento del pH del medio tras 24 h de incubación con la adición de

AGM, sin modificar la magnitud o el ritmo de fermentación, lo que pudiera sugerir unas mejores condiciones ambientales en el rumen de terneros de cebo con la utilización de este aditivo. No obstante, la constatación de este efecto requeriría un estudio con un medio con capacidad tampón todavía más débil.

**Tabla 2.** Valores de pH a las 8 y 24 h de incubación, desaparición de materia seca (dMS) y masa microbiana a las 24 h, con cebada sola (0) o con tres niveles (bajo, medio y alto) de una mezcla de ácidos grasos de cadena media (AGM), ácido palmítico y ácido linoleico.

	Nivel	pH 8 h	pH 24 h	dMS	Masa microbiana (mg/ml)
Control	0	6,17	5,86	0,434	2,64
AGM	Bajo	6,13	5,92	0,387	2,45
	Medio	6,10	5,94	0,372*	2,40
	Alto	6,13	5,97	0,339*	2,26*
valor medio	---	6,12	5,94	0,366	2,37
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	0,001	0,008
Ácido palmítico	Bajo	6,11	5,88	0,403	2,64
	Medio	6,14	5,89	0,395	2,53
	Alto	6,11	5,87	0,396	2,49
valor medio	---	6,12	5,88	0,398	2,55
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	NS	NS
Ácido linoleico	Bajo	6,08	5,90	0,420	2,62
	Medio	6,10	5,91	0,385	2,50
	Alto	6,05	5,88	0,378	2,40
valor medio	---	6,08	5,90	0,394	2,51
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	0,006	0,021
desviación residual estándar		0,048	0,058	0,025	0,124

NS:  $P > 0,05$ ; \*: valores con asterisco indican diferencias con el control al  $P < 0,05$

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amanzougarene, Z, Schauf, S, Fondevila, M. 2015. XVI Jornadas de AIDA, vol I: 212-214.
- Beauchemin, KA, McGinn, SM, Benchaar, C, Holtshausen, L. 2009. J. Dairy Sci. 92 :2118–2127
- Doreau, M, Arousseau, E, Martin, C. 2009. Anim. Feed Sci. Technol. 150: 187-196
- Henderson, C. 1973. J. Agric. Sci., 81: 107-112
- Hsu JT & Fahey GCJr. 1990. J. Dairy Sci. 73: 149-152
- Jenkins, T.C. 1994. J. Nutr. 124, 1372-1376
- Palmquist, D.L. & Jenkins, T.C. 1994. J. Dairy Sci. 63: 1-14,

**Agradecimientos:** Trabajo financiado con el Proyecto AGL 2013-46820 (MINECO), con la ayuda del Departamento de Industria e Innovación (Gobierno de Aragón) y el Fondo Social Europeo. S. Yuste disfrutó una beca FPU (Ministerio de Educación, Cultura y Deporte).

### ***In vitro* fermentation of barley according to the inclusion of levels of fatty acid additives in diets for intensive beef production**

**Abstract.** A mixture of medium-chain fatty acids (AGM), palmitic acid and linoleic acid were added at three levels to evaluate their effect on *in vitro* barley fermentation in intensive feeding beef diets, using low-buffered medium. The mixture of medium-chain fatty acids did not affect gas production from barley but decreased quadratically ( $P=0.001$ ) dry matter disappearance (DMd). In contrast, the higher level of linoleic acid decreased gas production from 12 to 24 h ( $P<0.05$ ), but did not affect DMd ( $P>0.05$ ), and palmitic acid did not affect gas production nor DMd ( $P>0.05$ ). Consequently, the three studied fatty acids did not negatively affect the medium pH throughout the incubation.

**Keywords:** fatty acid additives, pH, *in vitro* barley fermentation, intensive beef feeding

## **SUPLEMENTACIÓN CON CULTIVO ACTIVO DE LEVADURAS EN EDADES TEMPRANAS EN CABRITAS. 2) EFECTO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL, DIGESTIBILIDAD Y PRODUCCIÓN LECHERA EN LA PRIMERA LACTACIÓN**

Serrano, R.<sup>1</sup>, Abecia, L.<sup>1</sup>, Jiménez, E.<sup>1</sup>, Martín-García, A.I.<sup>1</sup>, Doblas, A.<sup>2</sup>, Yáñez-Ruiz, D.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Estación Experimental del Zaidín (CSIC) Profesor Albareda 1, 18008-Granada, España

<sup>2</sup>Agroalimentaria Manchega de Biotecnología S.L., 45007-Toledo, España.

[david.yanez@eez.csic.es](mailto:david.yanez@eez.csic.es)

### **INTRODUCCIÓN**

Estudios recientes sugieren que ciertas intervenciones nutricionales aplicadas en edades tempranas de rumiantes pueden modificar el patrón de colonización microbiana y el desarrollo del rumen (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2015). Sin embargo, se desconoce el impacto que estos cambios puedan tener en el animal cuando entra en etapa productiva, sobre todo en el caso de producción lechera. En el trabajo que precede a éste, se ha observado que la aplicación de cultivo activo de levaduras (CAL) ejerce un efecto positivo sobre el desarrollo ruminal en cabritos (Abecia *et al.*, 2017). El objetivo del presente estudio fue evaluar la persistencia en el tiempo del efecto de dicho tratamiento, junto con el efecto del tipo de lactancia que recibieron, sobre la fermentación ruminal, digestibilidad y producción de leche cuando alcanzan la primera lactación.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Dieciséis cabras de raza Murciano-Granadina fueron seleccionadas de un experimento anterior (Abecia *et al.*, 2017) en el que se aplicaron 2 efectos: el tipo de lactancia (natural-NAT o artificial-ART) y la adición de cultivo activo de levaduras (CAL vs. Control: CTL). Esto dio lugar a 4 tratamientos distintos en el pre-destete: CAL-NAT, CAL-ART, CTL-NAT y CTL-ART. Las cabritas fueron alimentadas con dieta de crecimiento hasta que alcanzaron los 10 meses de edad, momento en que se inseminaron. Los animales, una vez gestantes, fueron alojados individualmente (1,7 x 1,2 m) con acceso libre a agua y mezcla seca completa. El experimento duró 10 semanas. Dos semanas antes del parto, se comenzó a suministrar a todas las cabras gestantes el tratamiento probiótico CAL a base de *Saccharomyces cerevisiae* (RFN Lactation®). La dosis fue calculada en relación al peso corporal del animal, ajustándola semanalmente y suministrándola de forma oral con un dispensador bucal dos veces al día. Se recogieron muestras de líquido ruminal mediante sonda esofágica para el análisis de ácidos grasos volátiles (AGV) y pH las semanas 3, 5 y 7 de lactación al mismo tiempo que se determinó la producción de leche. La última semana se realizó una prueba de digestibilidad, colocando los animales en jaulas metabólicas durante cuatro días. Tras la prueba de digestibilidad se recogió contenido ruminal de cada animal por vía esofágica y se llevó a cabo una prueba de fermentación *in vitro* para observar la evolución del pH, incubándose líquido ruminal con glucosa y sin tampón (Durmic *et al.*, 2012).

Los resultados se analizaron mediante el procedimiento modelo lineal general medidas repetidas y modelo lineal general univariado de IBM SPSS Statistics (Versión 23) considerando como efectos principales el tratamiento con levadura, la lactancia y el tiempo de muestreo (salvo en el caso de la digestibilidad).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

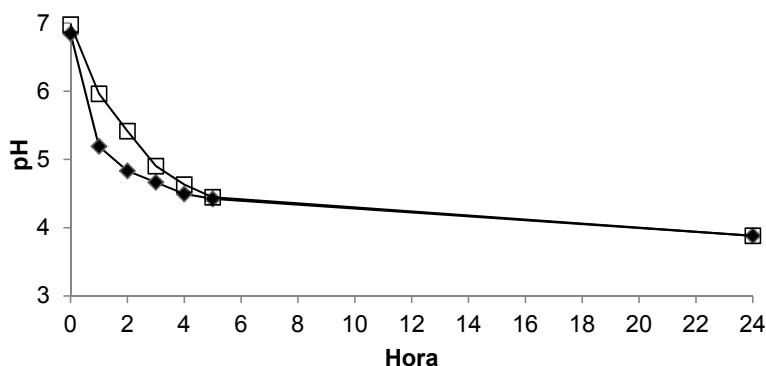
Tras el parto, las cabras en lactación tienden a incrementar paulatinamente la ingesta de alimento, lo que conlleva una disminución del pH ruminal y un aumento de la concentración de AGV ( $P=0,05$ ) (Tabla 1). La adición del cultivo activo de levaduras tendió a mejorar la producción diaria de leche independientemente del tipo de lactancia recibida ( $P=0,08$ ). Diversos trabajos evidencian un incremento en la producción de leche en los animales suplementados con levadura (Williams *et al.*, 1991, Cakiroglu *et al.*, 2010), tal y como muestran los resultados del presente estudio. A pesar de esta tendencia positiva, es necesario interpretar los resultados con cautela debido a la variabilidad observada y al número limitado de animales empleados por tratamiento ( $n=4$ ). Aún así, la adición del cultivo activo de levaduras en edades tempranas también incrementó la digestibilidad del nitrógeno ( $P=0,002$ ) y promovió valores numéricos más elevados para el resto de nutrientes, resultados que concuerdan con estudios anteriores (Erasmus *et al.*, 1992). Esta mayor digestibilidad de los nutrientes podría explicarse por dos razones: i) una capacidad de

absorción mayor por el mejor desarrollo de papilas ruminales en el epitelio (Abecia *et al.*, 2017) y/o ii) una población microbiana más adaptada a lidiar con una producción alta de ácido y bajada de pH. Así, la prueba *in vitro* de capacidad tampón del contenido ruminal (Figura 1) mostró que el pH descendió de manera más acusada ( $P=0,02$ ) durante las 3-4 primeras horas en aquellos animales CTL, que no habían recibido el cultivo activo de levaduras en el predestete. Nuestra hipótesis es que la administración de levaduras en edades tempranas favorece que se establezcan bacterias consumidoras de lactato, como *Megasphaera elsdenii* y *Selenomas ruminantium* (Pinloche *et al.*, 2013), y que estos animales respondan mejor al tratamiento en edad adulta por tener estas poblaciones en mayor abundancia.

**Tabla 1.** Efecto del tratamiento (T), tipo de lactancia (L) recibido en el predestete y tiempo (Tp) sobre parámetros ruminales, producción lechera y digestibilidad en primera lactación.

	NATURAL		ARTIFICIAL		e.e.m. <sup>1</sup>	P-valor		
	CTL	CAL	CTL	CAL		T	L	TP
AGV totales, mM								
semana 3	52,2	73,5	88,4	66,3	5,00	0,81	0,64	0,05
semana 5	104	110	93,5	107				
semana 7	88,4	94,3	79,7	65,8				
pH								
semana 3	6,80	6,45	6,48	6,52	0,300	0,43	0,83	0,02
semana 5	6,55	6,26	6,48	6,54				
semana 7	6,32	6,41	6,43	6,18				
Leche, ml								
semana 3	1060	1222	700	1205	140	0,08	0,19	0,24
semana 5	926	1354	495	1315				
semana 7	1400	1494	505	1265				
Digestibilidad, %								
Materia seca	0,66	0,74	0,70	0,72	0,01	0,11	0,82	
Materia orgánica	0,68	0,76	0,72	0,73	0,01	0,18	0,84	
Nitrógeno	0,68	0,79	0,76	0,80	0,01	0,002	0,05	
Energía	0,67	0,76	0,71	0,73	0,02	0,18	0,95	
Extracto etéreo	0,90	0,92	0,92	0,93	0,006	0,16	0,16	
Fibra neutro detergente	0,28	0,49	0,35	0,32	0,04	0,33	0,54	

<sup>1</sup>error estándar de la media



**Figura 1.** Evolución media del pH en prueba de fermentación *in vitro* (Durmic *et al.*, 2012) con líquido ruminal recogido de cabras control (◆) o tratadas con levadura en edades tempranas (□).



Los resultados del presente trabajo sugieren que la inclusión de cultivo activo de levaduras en la dieta de cabritas durante los primeros meses de vida promueve una mayor capacidad digestiva para el nitrógeno al comienzo de la lactación con efectos positivos sobre la producción de leche. Estos resultados deben ser confirmados con una prueba de granja empleando un mayor número de animales.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Abecia L. et al. 2017. AIDA (este volumen). • Cakiroglu D. et al.2010. J. Anim. Vet. Advanc., 9: 1370-1374. • Durmic Z. et al. 2012. Anim. Feed Sci. Technol. 178: 57-66. • Erasmus L.J. et al. 1992. J. Dairy Sci. 75: 3056-3065. • Pinloche E. et al. 2013. PLOS One, 8: e67824. • Yáñez-Ruiz D.R. et al. 2015. Front. Microbiol. 6: 1133. • Williams, P.E.V. et al. 1991. J. Anim. Sci. 69: 3016-3026.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el CSIC (Proyecto Intramural 201440E048) y MINECO (BFU2014-57964-R).

#### STUDY OF THE EFFECTS OF FEEDING LIVE YEAST CULTURE IN EARLY LIFE OF GOATS ON RUMEN FERMENTATION, DIGESTIBILITY AND MILK YIELD DURING THE FIRST LACTATION

**ABSTRACT:** the main objective of the present study was to evaluate the long term effect of live yeast culture (LYC) treatment (on goat kids during pre-weaning phase) and the effect of two different lactation system (natural- NAT- or artificial-ART-) on the ruminal fermentation, digestibility and milk yield in goats. Sixteen goats were selected from the previous study (Abecia et al., 2017) in which there were four different treatments during pre-weaning phase and inseminated at the age of 10 months. The experiment lasted 10 weeks. Two weeks before giving birth, all goats commenced to receive treatment with YLC and samples of rumen fluid and milk were taken in weeks 3, 5 and 7 of lactation. In the last week, a digestibility trial was conducted in metabolic cages. After that, ruminal liquid was taken from individual animals and incubated in vitro to assess pH evolution. The results showed that supplementing with YLC had a tendency to increase milk yield and improve nitrogen digestibility. We concluded that adding LYC during early life seems to promote a better use of nutrients and ability to cope with low rumen pH when animals reach adult age.

**Keywords:** early life, live yeast culture, long term effect, milk yield.

## RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y PRODUCTIVAS DE CABRAS LECHERAS MURCIANO-GRANADINAS AL ESTRÉS POR FRÍO

Coloma-García., Mehaba, N., Salama, A.A.K., Such, X. y Caja, G.

Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España. [ahmed.salama@uab.cat](mailto:ahmed.salama@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

Las bajas temperaturas invernales habituales en algunas localidades españolas, combinadas con las olas de frío extremo cada vez más frecuentes, repercuten negativamente en la producción, comportamiento y el bienestar de los animales. Esto es debido a la puesta en marcha de mecanismos para reducir las pérdidas de calor (Salama et al., 2016), aumentando las necesidades de mantenimiento (NRC, 2007). Los efectos esperables son variables según las condiciones ambientales (viento, humedad, tipo de pelo), pero parecen ser menores en animales lactantes que secos debido al aumento del calor corporal por la elevada ingestión (Cannas, 2004). Sin embargo, pese a que a los rumiantes se les atribuye un amplio rango de tolerancia térmica, no está claro si en situaciones extremas son capaces de mantener este estatus (Sejian y Srivastava, 2010). Además, el estrés por frío puede producir efectos secundarios, como la baja de la inmunidad y desarrollo de posibles enfermedades. En el caso del caprino lechero existe muy escasa información sobre los efectos del frío (Bøe et al., 2007; Simensen et al., 2010), aunque hay una extendida creencia entre los ganaderos que hace bajar la producción de leche y aumentar las mamitis.

El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de bajas temperaturas en cabras lecheras a mitad de la lactación mediante la valoración de las respuestas productivas y fisiológicas en condiciones de cámara climática.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 cabras lecheras multíparas de raza Murciano-Granadina ( $41,8 \pm 5,7$  kg PV) a mitad de lactación ( $77 \pm 2$  d;  $2,13 \pm 0,36$  l/d), previamente adaptadas a cajas metabólicas de tipo plástico con zona de reposo de goma y paredes con paneles cortaviento. Las cajas se situaron en una cámara climática ( $4 \times 6, 2 \times 3, 6$  m [an  $\times$  al  $\times$  pr]; ETS Lindgren-Euroshield Oy, Eura, Finlandia), equipada con un sistema de enfriamiento programable (Rele programable, Siemens logo; Inmasa, Tarragona) y registro de humedad (no programable).

Las cabras se asignaron aleatoriamente a 2 grupos a los que se aplicaron los tratamientos experimentales correspondientes a 2 temperaturas ambientales, con humedad relativa ( $60 \pm 7,5$  %) y fotoperiodo (luz-oscuridad, 12 - 12 h) constantes. Los tratamientos fueron:

- Termo-neutralidad (TN):  $15-20^{\circ}\text{C}$ , durante todo el día y noche.
- Estrés por frío (EF):  $-3$  a  $6^{\circ}\text{C}$ , con cambios graduales de temperatura ( $0,75^{\circ}\text{C/h}$ ) con mínima y máxima a las 2 h (noche) y 13 h (día).

El diseño experimental consistió en un diseño cruzado de 2 períodos (21 d cada uno) con 4 cabras en cada periodo. Las cabras recibieron una ración total mezclada (70% forraje; heno de alfalfa y 30% concentrado) *ad libitum*, de acuerdo con sus necesidades (INRA, 2007) y se ordeñaron 2 veces al día (8 y 17 h) en el interior de la cámara utilizando un equipo portátil (GEA, Granollers) a 40 kPa, 120 ppm y 60:40% de pulsación. El agua se suministró libremente a temperatura ambiente.

Diariamente se registraron la ingesta de alimento, el consumo de agua, la temperatura rectal y el ritmo de respiración. Semanalmente se tomaron muestras de leche para analizar su composición (proteína, grasa, lactosa y células somáticas), así como muestras de sangre para la determinación de insulina, glucosa, ácidos grasos no esterificados (AGNE),  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB), colesterol y triglicéridos. El peso vivo (PV) se registró al inicio y al final de cada período.

Los datos fueron analizados mediante el procedimiento MIXED de SAS bajo un modelo mixto para medidas repetidas. Las medias se expresaron como medias mínimo cuadráticas y las diferencias se separaron a  $P < 0,05$  mediante PDIFF. El modelo estadístico considerado incluyó como efectos fijos las condiciones ambientales (EF vs. TN) y el período experimental (1 o 2), además de su interacción y como efectos aleatorios el animal y error residual.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de los parámetros fisiológicos, metabólicos y productivos de las cabras en condiciones termoneutras (TN) o estrés por frío (EF) se resumen en la Tabla 1. Con respecto a los parámetros fisiológicos, las cabras en estrés por frío tuvieron menos temperatura rectal ( $-0.32^{\circ}\text{C}$ ) y frecuencia respiratoria ( $-6$  respiraciones/min) ( $P < 0,001$ ), mostrando un comportamiento de erizamiento del pelo y cuerpo encogido. La disminución de ambos indicadores y el patrón de comportamiento pusieron de manifiesto la efectividad del tratamiento de estrés por frío aplicado.

**Tabla 1.** Parámetros fisiológicos, metabólicos y productivos de cabras lecheras expuestas a estrés por frío o termo neutralidad

Parámetro	Tratamiento			P-valor <sup>2</sup>		
	Termo-neutralidad	Estrés por frío	EED <sup>1</sup>	T	P	T X P
Temperatura rectal, °C	38,41	38,09	0,07	0,001	0,02	0,50
Frecuencia respiratoria, /min	32,4	26,5	0,5	0,001	0,001	0,05
Insulina, mg/dl	0,332	0,291	0,058	0,38	0,49	0,69
Glucosa, mg/dl	64,1	66,7	1,0	0,005	0,77	0,08
AGNE, mmol/l	0,107	0,215	0,025	0,004	0,06	0,048
BHB, mmol/l	0,528	0,400	0,036	0,001	0,79	0,01
Colesterol, mg/dl	86,5	83,7	5,5	0,62	0,45	0,18
Triglicéridos, mg/dl	22,0	18,2	0,86	0,003	0,002	0,11
Ingestión, kg MS /d	2,71	2,57	0,11	0,20	0,096	0,08
Leche, l/d	1,88	1,69	0,08	0,003	0,06	0,44
Consumo de agua, l/d	5,34	4,13	0,23	0,001	0,14	0,40
Aumento de peso, kg	2,20	-0,45	0,77	0,03	0,06	0,097
Composición de leche						
Proteína, %	3,41	3,77	0,13	0,001	0,01	0,09
Grasa, %	4,47	5,01	0,13	0,001	0,83	0,33
Lactosa, %	4,53	4,70	0,05	0,001	0,05	0,02
Células somáticas, log <sub>10</sub>	6,22	6,34	0,12	0,17	0,62	0,38

<sup>1</sup>error estándar de la diferencia; <sup>2</sup> T: tratamiento; P: Período

No se detectaron diferencias en las concentraciones de insulina y colesterol en sangre ( $P > 0,05$ ), en contra de lo observado por Verbeek et al. (2012) en ovejas que aumentaron en sus valores al ser expuestas al frío, pese a las diferencias esperadas por la lana y estado de lactación. Al contrario, los valores de glucosa y AGNE aumentaron con el estrés por frío ( $P < 0,05$ ), de acuerdo con los resultados observados en vacas sometidas a muy bajas temperaturas (Broucek., et al. 1991; hasta  $-19^{\circ}\text{C}$ ), pero no con lo observado por Wentzel et al., (1979) y Cronjé (1992), que señalaron disminuciones de la glucosa en sangre en estudios realizados en cabras.

A pesar de que diversas referencias indican aumentos de la ingestión, para aumentar el calor metabólico a bajas temperaturas (Young, 1981; Kennedy, 1985), la ingestión de las cabras Murciano-Granadinas en lactación disminuyó numéricamente en el tratamiento de estrés por frío ( $-5\%$ ;  $P > 0,05$ ). Consecuentemente, las cabras bajo estrés por frío también disminuyeron su producción de leche ( $-10\%$ ;  $P < 0,05$ ), respecto las cabras en termo-neutralidad y de acuerdo a lo indicado en vacas (Angrecka y Herbut, 2015).

Por otro lado, las cabras en estrés por frío consumieron menos agua ( $-23\%$ ), efecto casi el doble del esperado por la reducción de la ingestión, pero produjeron una leche más concentrada, con mayores contenidos en grasa (12%), proteína (10%) y lactosa (4%) ( $P < 0,001$ ; Tabla 1). Por otro lado, mientras que las cabras en termoneutralidad ganaron peso al final del período experimental, las cabras en estrés por frío perdieron casi 0,5 kg, debido posiblemente a la movilización de la grasa y proteína corporal por un balance energético negativo (Wolkers et al., 1994), al aumentar sus necesidades de mantenimiento. Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas para la mayoría de interacciones ( $P > 0,05$ ), exceptuando los parámetros de frecuencia respiratoria, AGNE y lactosa ( $P > 0,05$ ).

De acuerdo con la pérdida de peso y la movilización de reservas corporales, las cabras en estrés por frío tuvieron niveles más altos de AGNE en sangre (Tabla 1). Sin embargo, estos AGNE no se habrían transformado a BHB en el hígado, ya que los niveles de BHB fueron menores en las cabras en estrés por frío que en las cabras en termo-neutralidad. Esto parece indicar que los AGNE en sangre fueron utilizados directamente por la glándula mamaria para la síntesis de grasa, lo que explicaría el mayor porcentaje de grasa en la leche de las cabras en estrés por frío.

En resumen, el estrés por frío redujo la producción de leche, aunque ésta contenía mayores proporciones de grasa y proteína. Los cambios significativos en el metabolismo inducidos por las bajas temperaturas ambientales incluyeron el incremento de los niveles de AGNE y glucosa en la sangre, pese a que no hubo cambios en los valores de insulina. Sería necesario estudiar más a fondo los posibles cambios en el metabolismo debidos a una temperatura baja para poder entender mejor su relación con los rendimientos productivos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angrecka, S. & Herbut, P. 2015. J. Anim. Sci. 60:81-87
- Bøe, K., et al. 2007. J. Anim. Behav. Sci. 108:45-57
- Broucek, J., et al. 1991. J. Int. J. Biometeorol. 35:29-32
- Cannas, A. 2004. En: Dairy sheep nutrition. G. Pulina (Ed.). CABI Publishing, Wallingford, UK
- Cronjé, P. B. 1992. J. Animal Sci. 22:5
- INRA, 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Ed. Quae
- Kennedy, B. P. M. 1984. J. Brit. J. Nutr. 53:159-173
- NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants. 4:39-80
- Salama et al., 2016. Animal Welfare in Extensive Production Systems. 2:11-36
- Sejian, V., Srivastava, R.S. 2010. J. Vet. Med. Int. 10:1-5
- Simensen, E., et al. 2010. J. Acta Agr Scand A-AN. 60: 187-193
- Verbeek, E., et al. 2012. J. PloS ONE 7:e37315
- Wentzel D., et al. 1979. J. Agroanimalia 11:19-22
- Wentzel, D., et al. 1979. J. Agroanimalia 11:19-22
- Wolkers, H., et al. 1993. J. Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol. 105:539-542
- Young, B.A. 1981. J. Anim. Sci. 52:154-163.

**Agradecimientos:** Plan Nacional del Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2013-44061-R) y al equipo del SGCE de la UAB.

#### PHYSIOLOGICAL AND PRODUCTIVE RESPONSES OF MURCIANO-GRANADINA DAIRY GOATS TO COLD STRESS

**ABSTRACT:** Eight Murciano-Granadina dairy goats were maintained in metabolic cages and divided into 2 groups: thermo-neutral (TN; 15 to 20°C) and cold stress (CS; -3 to 6°C). The experimental design was a crossover with 2 treatments in 2 periods (21 d). Milk yield, feed intake, water consumption, rectal temperature and respiratory frequency were recorded daily. Milk samples for composition were collected weekly. Body weight was measured at the start and end of each period. Compared to TN, CS goats had similar feed intake but lower ( $P<0.05$ ) water intake (-23%), milk yield (-10%), respiratory rate (-6 breaths/min) and rectal temperature (-0.32°C). Furthermore, milk of CS goats had greater ( $P<0.05$ ) protein (10%), fat (12%) and lactose (4%) contents. The CS goats lost -0.45kg BW, whereas TN goats gained 2.2kg ( $P<0.05$ ). Insulin and cholesterol blood levels were not affected by CS. However, blood glucose and NEFA increased ( $P<0.05$ ) by CS, while BHBA and triglycerides decreased ( $P<0.05$ ). In conclusion, Murciano-Granadina goats during lactation were sensitive to cold and CS goats decreased milk production, but increased milk fat and protein contents. It seems that NEFA was directly used by the mammary gland (increased milk fat content) rather than metabolism in liver (lower BHBA and triglycerides).

**Keywords:** cold stress, lactation, metabolism, dairy goats

## UTILIZACIÓN DE ISÓTOPOS ESTABLES PARA CUANTIFICAR EN OVEJAS LA SÍNTESIS ENDÓGENA DEL ÁCIDO OLEICO DE LA LECHE

Toral, P. G., Frutos, P., Carreño, D. y Hervás, G.  
Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Univ. de León), Finca Marzanas s/n. 24346  
Grulleros, León, España. [pablo.toral@csic.es](mailto:pablo.toral@csic.es)

### INTRODUCCIÓN

Una proporción muy elevada de los ácidos oleico (c9-18:1) y ruménico (c9t11-CLA) de la leche, entre otros, se producen de forma endógena en la glándula mamaria de los rumiantes (Shingfield et al., 2008; Frutos et al., 2014). Esta acción está mediada por la enzima esteroil-CoA desaturasa o  $\Delta^9$ -desaturasa (SCD), que juega un papel fundamental en la regulación de la composición de la grasa láctea (Bernard et al., 2013). Al ser ambos ácidos grasos (AG) potencialmente beneficiosos para la salud de los consumidores, existe un elevado interés en la búsqueda de estrategias para aumentar su concentración en los productos lácteos, lo que explicaría también el interés por la SCD mamaria.

La cuantificación in vivo de los AG sintetizados mediante desaturación  $\Delta^9$  se ha realizado básicamente con trazadores radioactivos (Annison et al., 1967; Bickerstaffe & Annison, 1970) y con métodos indirectos como la inhibición de la SCD (Shingfield et al., 2008; Bichi et al., 2012). Desde hace algunos años, el empleo de isótopos estables constituye una alternativa para cuantificar de forma directa, fiable e inocua esta síntesis endógena, pero los estudios al respecto en los rumiantes lecheros son aún muy escasos (Mosley et al., 2006; Bernard et al., 2010; Toral et al., 2012). En relación con el ácido oleico, a pesar de su carácter saludable y de ser el principal producto de la SCD (Bernard et al., 2013), solo parece haberse publicado un trabajo preliminar en vacuno, utilizando ácido esteárico ( $^{13}18:0$ ) como precursor (Mosley & McGuire, 2007). Además, no nos consta ninguna publicación sobre el uso de isótopos estables del carbono en el ovino.

Por lo tanto, este ensayo en ovejas lecheras se llevó a cabo para cuantificar in vivo la síntesis endógena del c9-18:1 de la leche, mediante el empleo de 18:0 marcado con  $^{13}C$ .

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar esta prueba se utilizaron 6 ovejas de raza assaf homogéneas en cuanto a producción de leche, concentración de grasa láctea y días posparto, que fueron alimentadas ad libitum con una dieta mixta completa (relación F:C 30:70). Tras 21 días de adaptación, cada animal recibió por vía intravenosa una dosis única de 2 g del trazador isotópico ( $[1-^{13}C]18:0$ , 99% de pureza) emulsionados en 200 ml de suero fisiológico. La administración se realizó justo después del ordeño de la mañana, en infusión continua durante 30 minutos.

Para estudiar la cinética de aparición de 18:0 y c9-18:1 marcados con  $^{13}C$  en la leche, a las -24, -15, 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 y 72 h posinyección (p.i.), se midió la producción de leche y se tomaron muestras individuales para analizar su porcentaje de grasa y su perfil lipídico. Los ésteres metílicos de los AG se separaron y cuantificaron mediante cromatografía de gases (Shingfield et al., 2003) y su enriquecimiento con  $^{13}C$  por cromatografía de gases-combustión-espectrometría de masas de relaciones isotópicas (GC-C-IRMS). La proporción de 18:0 desaturado in vivo y la de c9-18:1 sintetizado endógenamente se calcularon siguiendo las ecuaciones descritas en la Tabla 1 (Mosley et al., 2006).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración de grasa de la leche se mantuvo estable a lo largo del periodo p.i. (de media, 6,69%), en el cual se registró una secreción de AG totales de aprox. 251 g/animal. El 18:0 representó el 7,77% del total de AG, con una proporción como  $^{13}18:0$  del 1,86%, mientras que el c9-18:1 fue más abundante (15,0% de los AG totales) y, por ello, su porcentaje de  $^{13}C$  fue relativamente menor (1,49%). A partir de estos datos, se calculó el enriquecimiento en  $^{13}C$  para ambos AG (Tabla 1), corrigiendo para la abundancia natural en las muestras de leche recogidas antes de la inyección del trazador isotópico ( $\approx 1,075\%$ ).

Los enriquecimientos medios con  $^{13}C$  del 18:0 y c9-18:1 fueron del 0,79 y 0,41%, respectivamente, con máximos del 1,90% en el primer caso y 0,69% en el segundo.

En cuanto a los niveles mínimos de  $^{13}C$  detectados, los valores de 0,41 y 0,29% para el 18:0 y el c9-18:1, respectivamente, confirmarían, en primer lugar, la idoneidad de la GC-C-IRMS

cuando la dosis del AG marcado es baja. Así pues, esta metodología sería la de elección por su elevada sensibilidad, comparada p. ej. con la de GC-MS (Mosley & McGuire, 2007), lo que resultaría especialmente ventajoso al disminuir la dosis de isótopo necesaria, reduciendo a la vez su coste y las posibles interferencias con el metabolismo del AG in vivo. En la Tabla 1 se presentan las ecuaciones necesarias para poder realizar todos los cálculos. Como puede observarse, aprox. el 52% del c9-18:1 secretado en la leche procedería de la síntesis endógena, lo que representa una cifra muy parecida a la estimada de forma indirecta, mediante el uso de cobalto para inhibir la SCD, en ovejas que recibían una dieta similar (51%; Frutos et al., 2014). Sin embargo, este valor fue menor cuando la dieta de los animales incluía aceite de lino (29%; Toral et al., 2015) y mayor cuando se estimó con ácido estercúlico en ovejas en pastoreo (62%; Bichi et al., 2012). Sin descartar la influencia de la metodología utilizada en cada caso, estas diferencias apuntarían más bien a un papel clave de la composición de la dieta, por su impacto sobre el perfil de los AG que pueden ser captados por la glándula mamaria (Shingfield et al., 2003; Glasser et al., 2008). De hecho, se ha sugerido que la cantidad de c9-18:1 sintetizado endógenamente sería proporcional a la de 18:0 disponible para la SCD (Glasser et al., 2008) y prácticamente independiente de su capacidad de desaturación. Esto se vería apoyado por la similitud del porcentaje de 18:0 desaturado a c9-18:1 en nuestro estudio (≈49%) y en algunas estimaciones previas (48-57%; Bichi et al. 2012; Frutos et al., 2014). Como el ensayo estándar para determinar la desaturación  $\Delta^9$  se basa en la conversión del 18:0 marcado en c9-18:1 (Bickerstaffe & Anison, 1970; Bernard et al., 2013), nuestros resultados también constituyen la primera cuantificación directa in vivo de la actividad enzimática de la SCD en el ovino. A modo de conclusión, el 52% del c9-18:1 que aparece en la leche de las ovejas procede de la síntesis endógena mediante la acción de la SCD, que desatura el 49% del 18:0 captado por la glándula mamaria. Sería necesario seguir avanzando en esta línea para estudiar la relevancia de la regulación nutricional de este proceso.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anison, E.F., et al. 1967. *Biochemical J.* 102: 637-647.
- Bernard, L., et al. 2010. *Br. J. Nutr.* 104: 346-354.
- Bernard, L., et al. 2013. Pp. 161-193 en "Stearoyl-CoA desaturase genes in lipid metabolism". Springer Science+Business (EE.UU.).
- Bichi, E., et al. 2012. *J. Dairy Sci.* 95: 5242-5252.
- Bickerstaffe, R., et al. 1970. *Comp. Biochem. Physiol.* 35: 653-665.
- Frutos, P., et al. 2014. *J. Dairy Sci.* 97: 1036-1046.
- Glasser, F., et al. 2008. *J. Dairy Sci.* 91: 2771-2785.
- Mosley, E.E., et al. 2007. *Lipids* 42: 939-945.
- Mosley, E.E., et al. 2006. *J. Nutr.* 136: 570-575.
- Shingfield, K.J., et al. 2003. *Anim. Sci.* 77: 165-179.
- Shingfield, K.J., et al. 2008. *J. Nutr.* 138: 710-717.
- Toral, P.G., et al. 2012. *J. Dairy Sci.* 95: 6755-6759.
- Toral, P.G., et al. 2015. *J. Dairy Sci.* 98: 1961-1971.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte del proyecto AGL2011-23700 (MINECO). P.G. Toral disfruta de un contrato Ramón y Cajal y D. Carreño de uno predoctoral FPI, ambos del MINECO y con cofinanciación del FSE.

#### USE OF STABLE ISOTOPOES TO QUANTIFY THE ENDOGENOUS SYNTHESIS OF MILK OLEIC ACID IN DAIRY EWES

**ABSTRACT:** Despite the convenience of using stable isotopes to examine fatty acid metabolism in lactating ruminants, very few studies have applied this technique in cows and goats, and no reports are available in ewes. Therefore, this assay was conducted to provide the first direct measurement of in vivo endogenous synthesis of milk oleic acid (c9-18:1) in dairy sheep, using  $^{13}\text{C}$ -labeled stearic acid (18:0) as a tracer. Six lactating Assaf ewes received an intravenous injection of 2 g of  $[1-^{13}\text{C}]18:0$ , and  $^{13}18:0$  and  $^{13}\text{c9-18:1}$  secretion in milk were examined over the following 72 h by compound-specific isotope analysis using a GC-C-IRMS system. Within this period, approx. 49% of the 18:0 taken up by the mammary gland was desaturated to c9-18:1. The proportion of oleic acid deriving from  $\Delta^9$ -desaturation represented on average 52% of the amount secreted in milk. Further research involving different feeding conditions would be now advisable.

**Keywords:**  $\Delta^9$ -desaturation, sheep, stable isotope, stearoyl-CoA desaturase.

**Tabla 1.** Cálculos para determinar la proporción del ácido oleico (c9-18:1) de la leche sintetizado de forma endógena en la glándula mamaria de ovejas lecheras.

Parámetro	Ecuación	Media ± eem
18:0 secretado en la leche p.i. (g)	secretación de AG totales en la leche × % de 18:0 en la leche / 100	19,4 ± 1,23
c9-18:1 secretado en la leche p.i. (g)	secretación de AG totales en la leche × % de c9-18:1 en la leche / 100	36,7 ± 1,77
Enriquecimiento en <sup>13</sup> 18:0 (% del 18:0)	(% de <sup>13</sup> 18:0 en el periodo p.i. – % de <sup>13</sup> 18:0 preinyección) × 100	0,79 ± 0,079
Enriquecimiento en <sup>13</sup> c9-18:1 (% del c9-18:1)	(% de <sup>13</sup> c9-18:1 en el periodo p.i. – % de <sup>13</sup> c9-18:1 preinyección) × 100	0,41 ± 0,055
<sup>13</sup> 18:0 secretado en la leche p.i. (g)	g de 18:0 secretado en la leche p.i. × % de enriquecimiento en <sup>13</sup> 18:0 / 100	0,15 ± 0,011
<sup>13</sup> c9-18:1 secretado en la leche p.i. (g)	g de c9-18:1 secretado en la leche p.i. × % de enriquecimiento en <sup>13</sup> c9-18:1 / 100	0,15 ± 0,020
Transferencia de <sup>13</sup> AG a la leche (% de la dosis inyectada)	(g de <sup>13</sup> 18:0 secretado en la leche p.i. + g de <sup>13</sup> c9-18:1 secretado en la leche p.i.) / 2 g de <sup>13</sup> 18:0 inyectado × 100	15,0 ± 1,55
18:0 desaturado a c9-18:1 in vivo (% del 18:0 captado por la gl. mamaria)	g de <sup>13</sup> c9-18:1 secretado en la leche p.i. / (g de <sup>13</sup> 18:0 secretado en la leche p.i. + g de <sup>13</sup> c9-18:1 secretado en la leche p.i.) × 100	49,2 ± 1,98
18:0 no convertido a c9-18:1 in vivo (% del 18:0 captado por la gl. mamaria)	100 – % de 18:0 desaturado a c9-18:1 in vivo	50,8 ± 1,98
Captación mamaria de 18:0 p.i. (g)	g de 18:0 secretado en la leche p.i. / % de 18:0 no convertido a c9-18:1 in vivo × 100	38,3 ± 2,15
18:0 desaturado a c9-18:1 p.i. (g)	g de 18:0 captado por la gl. mamaria p.i. × % 18:0 desaturado a c9-18:1 in vivo / 100	18,9 ± 1,42
c9-18:1 procedente de la síntesis endógena in vivo (% del c9-18:1)	g de 18:0 desaturado a c9-18:1 p.i. / g de c9-18:1 secretado en la leche p.i. × 100	51,7 ± 3,96

p.i. = posinyección de 2 g de [<sup>13</sup>C]18:0

eem = error estándar de la media

## **INHIBICIÓN DE LA SECRECIÓN DE PROLACTINA Y DE LECHE POR EFECTO DE LA CABERGOLINA EN OVEJAS LECHERAS A MITAD DE LACTACIÓN**

Caja, G., Salama, A.A.K., Elhadi, A. y Such, X.

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

### **INTRODUCCIÓN**

La lactación está bajo control endocrino de hormonas lactogénicas y galactopoiéticas, tal como la prolactina (PRL), producida por los lactotropos de la pituitaria anterior bajo el control negativo de la dopamina (Ingram et al., 1986). La PRL es esencial para conseguir un buen arranque y mantenimiento de la lactación (Salama et al., 2007) y su supresión, mediante el empleo de agonistas de la dopamina, tal como la bromocriptina (potente alcaloide con alta afinidad a los receptores D1 a D5 de la dopamina y  $\alpha$ -adrenérgicos), inhibe fuertemente la secreción de leche (Lacasse et al., 2016). Entre los agonistas de la PRL actualmente disponibles están la quinagolida (alcaloide no ergótico similar a la apomorfina) y la cabergolina (derivado de la ergolina) de alta afinidad por los receptores D2 y baja afinidad por los D1. El efecto de los agonistas de la PRL en vacas lecheras se produce tanto al inicio (Lacasse et al., 2011) como al final de la lactación (Ollier et al., 2013) y es, además, de corta duración y reversible, sin afectar a la oxitocina. Así, una inyección de PRL restaura la proliferación y supervivencia de las células epiteliales mamarias (Lollivier et al., 2015). Estas propiedades fisiológicas de los PRL-agonistas hacen su uso interesante para el secado en vacas de alta producción. La inyección de ergolida (Lacasse et al., 2011) o de cabergolina en vacas lecheras (Bach et al., 2015; Boutinaud et al., 2016) reduce la concentración de PRL en plasma y facilita el secado. La AEM (Agencia Europea del Medicamento) aprobó el uso de la cabergolina en vacuno en 2012 pero, recientemente se ha publicado una alerta rápida por algunos casos de accidentes en el secado en vacas lecheras en la UE (AEMS, 2016). Se desconocen los efectos y dosis de uso de los agonistas de la dopamina en la producción de leche de ovejas. El objetivo de este estudio fue determinar la dosis recomendable y los efectos fisiológicos producidos por la cabergolina en ovejas lecheras con la finalidad de facilitar el secado y reducir la inflamación producida durante el secado.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

*Animales y manejo:* Se utilizaron un total de 30 ovejas lecheras de raza Manchega (MN, n = 15) y Lacaune (LC, n = 15) del Servicio de Granjas y Campos Experimentales (SGCE) de la UAB. Las ovejas estaban en estabulación y se alimentaron con una ración total mezclada para lactación *ad libitum* y maíz entero (0,2 kg/d en dos porciones diarias), ofrecido en la sala de ordeño. La ración se calculó utilizando el programa INRAtion (v.4.06).

*Tratamientos experimentales:* El experimento duró 28 d (primavera de 2016), centrados en el tratamiento con cabergolina (1,12 mg/mL; Velactis, Ceva, Libourne, Francia), y consistió en un diseño 2x3 (raza x tratamiento) con 6 grupos equilibrados de ovejas (según raza, producción y días en leche, edad, peso y condición corporal) asignados al azar. Los tratamientos correspondieron a una dosis de cabergolina inyectada por vía intramuscular después del ordeño de la tarde del día -1, y fueron:

- Alto (1 mL)
- Bajo (0,5 mL)
- Control (0 mL) inyectando 1 mL de solución salina 0,9%.

*Reacción a la inyección:* Se evaluó (d 0, 1 y 7) usando una escala de puntuación de 0 a 3 según el diámetro de la reacción adversa a la inyección (0, ninguna; 1,  $\leq 2$  cm; 2,  $>2$  y  $\leq 8$  cm; 3,  $>8$  cm; precisión, 0,5 puntos), así como por la aparición de cualquier efecto adverso.

*Ordeño y control lechero:* El ordeño se realizó 2 veces al día (7 y 17 h) en una sala 2x12 con línea alta (Amarre Azul-1, DeLaval, Alcobendas) y 12 unidades de ordeño (DeLaval SG-TF100) con medidores automáticos (MM25SG). Los parámetros de funcionamiento fueron de 40 kPa, 120 p/min y 50% y desconexión de pezoneras por flujo ( $<0,1$  L/min) o tiempo ( $>3$  min). Los pezones se desinfectaron al acabar el ordeño con una solución yodada.

*Tomas de muestra y análisis:* La producción de leche se controló diariamente durante todo el experimento (d -14 a 14) y se analizó individualmente la composición de leche (d -2, -1, 1, 2, 5, 7 y 14) en el laboratorio Interprofesional Lechero de Cataluña (Allic, Cabriels,



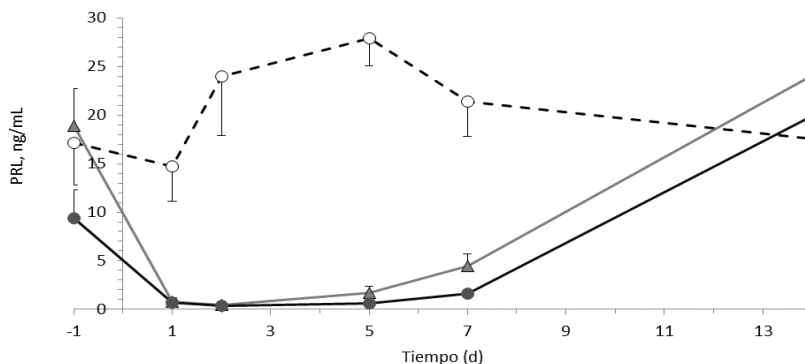
Barcelona). Se tomaron muestras de yugular (d -1, 1, 2, 5, 7 y 14), antes del ordeño de la tarde, para análisis de PRL en plasma por ELISA (DIAsource Immunoassays. Lovaina, BE).

**Medidas de ubre:** Se realizaron los d -2, -1, 1, 2, 5, 7 y 14 en el ordeño de la tarde. El volumen de ubre se calculó por desplazamiento en agua templada (5 L). La anchura máxima se midió con un compás de espesores. La distancia ubre-suelo, se midió con cinta métrica.

**Análisis estadístico:** Se utilizó el PROC MIXED para medidas repetidas de SAS (v. 9.4) considerando los tratamientos como efecto fijo y el animal y el error como aleatorios. Las medias se expresaron como LSM y se separaron mediante PDIFF a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

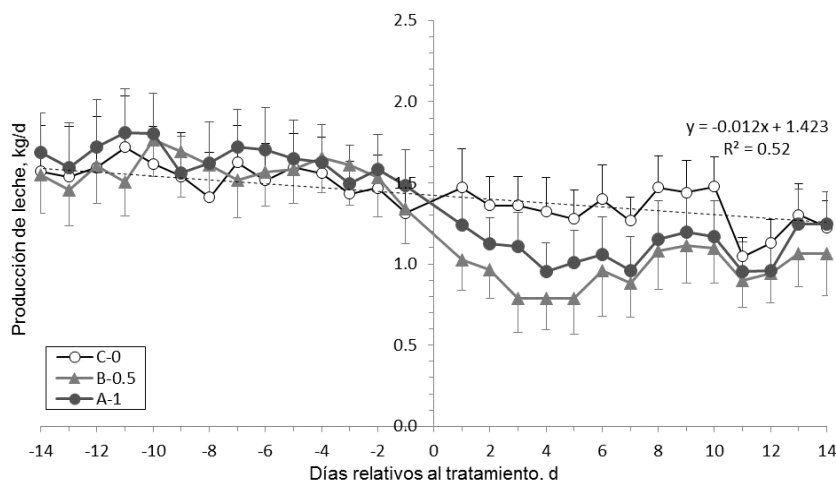
La inyección de cabergolina no produjo reacciones locales adversas en las ovejas ( $0,10 \pm 0,11$  puntos). Sólo 3 ovejas MN (1 de cada tratamiento), mostraron una ligera reacción (1 punto) a las inyecciones, pero no se observó ningún tipo de reacción en las LC. Los valores de PRL en plasma por efecto de la inyección de cabergolina cayeron drásticamente al día siguiente en las ovejas tratadas (Figura 1;  $P < 0,001$ ), sin diferencia entre dosis ( $P = 0,98$ ) ni razas ( $P = 0,99$ ), y se mantuvieron a niveles próximos a 0 hasta el d 7 ( $P = 0,32$  a  $0,98$ ). Los valores de PRL del control, durante todo el experimento, y de las dosis 0,5 y 1,0 de cabergolina al d 14 fueron similares ( $P = 0,28$  a  $0,60$ ; Figura 1).



**Figura 1.** Efecto de la dosis de cabergolina (●: Alta, 1 mL; ▲: Baja, 0,5 mL; ○: Control, 0 mL) en los niveles de prolactina (PRL) en ovejas lecheras a mitad de lactación.

La producción de leche, antes de los tratamientos con cabergolina, fue superior en las ovejas LC vs. MN ( $2,27 \pm 0,05$  vs.  $1,02 \pm 0,03$  kg/d;  $P < 0,001$ ) y la disminución natural de la producción al avanzar la lactación, calculada en las ovejas Control durante todo el experimento, fue mayor en las LC ( $-24$  g/d) que en las ovejas MN (1 g/d), de acuerdo con su nivel de producción. La persistencia media fue moderada (12 g/d; Figura 2). La producción de leche disminuyó de forma inmediata después de inyectar cabergolina (Figura 2). Comparando la producción de leche antes y después del tratamiento (d -7 a 7), la inyección de cabergolina produjo una disminución media del 38,2% ( $P < 0,01$ ). Los signos de recuperación de la producción se apreciaron en ambas dosis de cabergolina a partir de los 4-5 d del tratamiento, de forma que al d 7 ya no se observaron diferencias entre ellas.

La respuesta a la dosis fue similar en las ovejas de ambas razas y la pendiente de las líneas de regresión indicó una disminución media de 65 (25,4%), 64 (30,1%) y 12 (14,1%) g/d de leche para las dosis 1,0, 0,5 y control, respectivamente. El efecto neto medio de la inyección de la cabergolina se estimó en 27,7% cuando sólo el período efectivo (d 1 a 5) se tuvo en cuenta. Respecto a la composición de leche, se observaron aumentos en la grasa (24%) y la proteína (21%) durante los días efectivos del tratamiento (d 1 a 5;  $P < 0,05$ ), lo que coincidió con la disminución en la producción. Los efectos fueron similares para ambas razas y dosis de cabergolina. El contenido de lactosa disminuyó consecuentemente ( $-10\%$ ;  $P < 0,05$ ). El volumen de ubre varió según la raza (LC vs. MN,  $2,28 \pm 0,05$  vs.  $1,65 \pm 0,05$  L;  $P < 0,01$ ) y se correlacionó con la producción de la leche del ordeño de la tarde ( $R^2 = 0,51$ ;  $P < 0,01$ ), indicando su disminución por los tratamientos.



**Figura 2.** Efecto de la dosis de cabergolina (●: Alto, 1 mL; ▲: Bajo, 0,5 mL; ○: Control, 0 mL) en la producción de ovejas lecheras a mitad de lactación.

No se detectaron efectos en el ancho de la ubre, pero si en la distancia base-suelo, que aumentó al disminuir el tamaño de la ubre (datos no mostrados). En conclusión, el uso de la dosis de 0,5 mL/oveja de cabergolina no produjo reacciones adversas y redujo marcadamente la producción de leche a corto plazo a mitad de lactación, observándose su recuperación en la semana siguiente al tratamiento al continuar el ordeño.

**Agradecimientos:** Ceva Santé Animale (Libourne, FR), Laboratori de Bioquímica Clínica y personal del SGCE de la UAB.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEMS, 2016. [www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosVeterinarios/seguridad/2016/NI-MVET\\_05-2016-velactis.htm](http://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosVeterinarios/seguridad/2016/NI-MVET_05-2016-velactis.htm)
- Bach, A., De Prado, A. & Aris, A. 2015. J. Dairy Sci. 98:7097-7101
- Boutinaud, M., Isaka, N., Lollivier, V., Dessauge, F., Gandemer, E., Lambertson, P., De Prado, A.I., Deflandre, A. & Sordillo, L.M. 2016. J. Dairy Sci. 99:5707-5718
- Ingram, C.D., Bicknell, R.J. & Mason, W.T. 1986. Endocrinol. 119:2508-2518
- Lacasse, P., Lollivier, V., Bruckmaier, R.M., Boisclair, Y.R., Wagner, G.F. & Boutinaud, M. 2011. J. Dairy Sci. 94:1302-1309
- Lacasse, P., Ollier, S., Lollivier, V. & Boutinaud, M. 2016. J. Dairy Sci. 99:864-874
- Lollivier, V., Lacasse, P., Angulo, J., Lambertson, P., Wiert, S., Portanguen, J. & Boutinaud, M. 2015. J. Dairy Sci. 98:8775-8787
- Ollier, S., Zhao, X. & Lacasse, P. 2013. J. Dairy Sci. 96:335-343
- Salama, A.A.K., Caja, G., Albanell, E., Carné, S., Casals, R. & Such, X.J. 2007. Dairy Sci. 90:3751-3757.

### INHIBITION OF PROLACTIN AND MILK SECRETION BY EFFECT OF CABERGOLINE IN DAIRY EWES IN MID-LACTATION

**ABSTRACT:** The effects of cabergoline, a prolactin (PRL) agonist, were studied in 2 breeds of dairy ewes (Manchega, n = 15; Lacaune, n = 15). Ewes were penned indoors and fed ad libitum. Treatments were: A (1 mL), B (0.5 mL) and Control (0 mL). The values of PRL did no change in the Control treatment, whereas dramatically decreased in A and B after injection. Milk yield markedly decreased in both breeds immediately after the injection of cabergoline, but the net effect (28%) was not different by dose and breed. Milk fat and protein markedly increased by the treatments. Udder measurements varied by breed and cabergoline. In conclusion, the 0.5 mL dose of cabergoline inhibited PRL and milk secretion without side effects in dairy ewes.

**Keywords:** cabergoline, dairy sheep, prolactin, milk secretion.

## EFFECTO DEL NÚMERO DE BOCAS DE COMEDERO DE PIENSO DURANTE LAS DOS PRIMERAS SEMANAS TRAS LA LLEGADA A GRANJA SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO Y CRECIMIENTO EN TERNEROS MAMONES FRISONES

Verdú<sup>1</sup>, M., Solé<sup>2</sup>, A., Bach<sup>2,3</sup>, A. y Devant<sup>2</sup>, M.

<sup>1</sup>bonÀrea Agrupa, 25210 Guissona, Lleida, España. <sup>2</sup>Producció de Remugants, IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries), Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España. <sup>3</sup>ICREA (Institut Catalana de Recerca i Estudis Avançats), 08010 Barcelona, Barcelona, España. [marsal.verdu@bonarea.com](mailto:marsal.verdu@bonarea.com)

### INTRODUCCIÓN

Un análisis de los resultados productivos de los últimos 5 años en la cría de terneros (datos propios de Agropecuària de Guissona, S. Coop. Ltda.) reveló que la ganancia media diaria (GMD), el consumo de pienso y el peso vivo (PV) de salida habían empeorado un 5%, junto con un aumento del 2% de la mortalidad. Dichos datos evidenciaron un problema de vitalidad de los terneros lactantes recién llegados (Moore et al., 2002; Svensson et al., 2006). El sistema de cría de terneros (mamones) consiste en criar terneros de 55 a 150 kg de PV durante 90 días, alimentados con lactorreemplazante las primeras 4-5 semanas, pienso, paja y agua *ad libitum*. Estos animales llegan a la granja de destino tras haber estado en un centro de recogida, donde son rehidratados con agua y solución electrolítica, para su posterior transporte por carretera. Estas circunstancias los predisponen al padecimiento de una anorexia transitoria como factor de mayor impacto sobre la vitalidad de estos animales una vez llegan a granja. Una mala alimentación en un ternero lactante puede comprometer su salud intestinal y sistema inmunitario (Griebel et al., 1987), e incluso, su estado de salud general. Cole y Hutcheson (1985) describieron que animales alimentados adecuadamente tras la llegada a granja exhibieron mejores resultados productivos que animales con una alimentación deficiente. De entre las estrategias alimentarias posibles, el incremento temporal del número de bocas de comedero de pienso podría facilitar el acceso al pienso, estimular su consumo, y ayudar a paliar la anorexia del transporte a la llegada a granja. En producción porcina, una práctica habitual alrededor del destete es incrementar el número de bocas de comedero mediante comederos adicionales (*creep feeding*), la cual ha reportado mejoras en el consumo de pienso de lechones (Bruininx et al., 2002); también se ha observado en terneros recién llegados al cebo (Fluharty y Loerch, 1996). En las granjas de cría, aunque existe una gran variedad de tipos de comedero de pienso, es común tener una ratio de una boca de comedero por cada 2 terneros. Además, en porcino y bovino, se ha observado que los animales más jóvenes destinan más tiempo a comer (por unidad de alimento consumido) que los adultos (Gonyou, 1999; Verdú et al., 2015), denotando que el espacio de comedero puede llegar a ser crítico y comprometer el consumo de pienso. Así pues, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del número de bocas de comedero de pienso durante las dos primeras semanas tras la llegada a granja sobre el consumo de pienso y el crecimiento en terneros mamones criados en condiciones comerciales a lo largo del primer mes y medio de cría.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 350 terneros Frisones ( $59 \pm 0,6$  kg de PV y  $30 \pm 2,7$  d de edad), de dos crías consecutivas, fueron alojados en 16 corrales de 11 animales, y distribuidos en 2 naves idénticas. Los corrales (5,3 m x 3,5 m) disponían de comederos de pienso y paja con 5 bocas, bebedero, y paja como cama. A su llegada, los terneros fueron distribuidos en cada uno de los corrales según su PV inicial. Cada corral fue asignado aleatoriamente a uno de los dos tratamientos según la ratio del número de bocas de comedero de pienso por el número de terneros: una boca por cada 2 terneros (1:2), y una boca por ternero (1:1). En los corrales con una ratio 1:1 se instalaron comederos adicionales con 5 bocas (Tolva TR5, ROTECNA) durante las dos primeras semanas tras la llegada a granja. Todos animales recibieron lactorreemplazante tipo spray [1,37 unidad forrajera de carne (UFC), 22,0% proteína bruta (PB), 18,4% grasa bruta (GB) sobre materia fresca (MF)] a razón de 2 tomas de 360 g/d la semana 1, 330 g/d las semanas 2 y 3, 300 g/d la semana 4, y 1 toma de 210 g/d la semana 5. En función del consumo de pienso de la semana 2, el programa de leche se reajustaba: si el consumo de la semana 2 era  $\leq 800$  g/d, el destete se realizaba el día 35; en caso que el consumo fuera  $\geq 800$  g/d, el destete se realizaba el día 28 suprimiendo la

semana 3. Tras el destete, el estudio continuó 2 semanas más hasta el día 44. Los animales recibieron dos piensos comerciales de formulación distinta, un estándar los primeros 30 días de estudio (1,02 UFC, 15,0% PB sobre MF), y un post-estándar los días restantes (1,02 UFC, 14,5% PB sobre MF), además de paja y agua a libre disposición. En cada corral, se registró a diario el consumo de lactorreemplazante y el estado de salud de los animales (tratamientos veterinarios, animales retirados del estudio y muertos), y, semanalmente, el consumo de pienso, paja y el PV. La unidad experimental fue el corral. Los datos se analizaron usando un modelo de efectos mixtos con medidas repetidas (SAS, Versión 9.2). El modelo estadístico incluyó el PV inicial como covariable, el tratamiento, el tiempo y su interacción como efectos fijos, y, el corral, la nave y la cría como efectos aleatorios. El tiempo se consideró como factor de repetición y, para cada variable, el corral anidado en el tratamiento (término de error) se sometió a una estructura simétrica o auto-regresiva de primer orden de varianza-covarianza. Los datos relativos al estado de salud de los animales se analizaron con un test Chi-cuadrado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se produjo 1 baja por neumonía en 1:1, y se retiraron del estudio 6 animales en 1:1 (5 por neumonía y 1 por diarrea) y 3 en 2:1 (1 por neumonía y 2 por diarrea). No se hallaron diferencias significativas entre tratamientos en el consumo de pienso y los parámetros productivos (Tabla 1), ni en el estado sanitario de los animales ( $P > 0,10$ ).

**Tabla 1.** Consumo de pienso y datos productivos de los terneros según la ratio del número de bocas de comedero de pienso por el número de terneros.

	Ratio <sup>1</sup>			P-valor		
	2:1	1:1	EEM <sup>2</sup>	Ratio	Tiempo	Ratio x Tiempo
<b>Predestete (30 días)</b>						
PV inicial, kg	59,2	59,2	0,62	0,73		
Edad inicial, d	30,0	30,5	2,68	0,58		
PV final, kg	79,7	80,3	3,21	0,47		
Consumo de leche, kg/d	0,28	0,28	0,021	0,85	<0,01	0,98
Consumo de pienso, kg/d	1,17	1,19	0,123	0,68	<0,01	0,68
Consumo de paja, kg/d	0,11	0,12	0,016	0,08	<0,01	0,43
Consumo total, kg/d	1,56	1,59	0,120	0,54	<0,01	0,63
GMD, kg/d	0,69	0,71	0,045	0,55	<0,01	0,74
Índice de conversión, kg/kg	2,48	2,45	0,178	0,87	0,01	0,98
<b>Postdestete (14 días)</b>						
PV final, kg	94,0	94,9	3,95	0,37		
Edad final, d	74,1	74,9	2,79	0,48		
Consumo de pienso, kg/d	2,73	2,76	0,079	0,55	<0,01	0,77
Consumo de paja, kg/d	0,15	0,16	0,034	0,32	<0,01	0,85
Consumo total, kg/d	2,88	2,92	0,110	0,44	<0,01	0,62
GMD, kg/d	0,99	0,99	0,068	0,98	0,32	0,45
Índice de conversión, kg/kg	2,97	3,02	0,319	0,54	0,03	0,32

<sup>1</sup>Número de bocas de comedero de pienso por el número de terneros.

<sup>2</sup>Error estándar de la media.

El aumento temporal del número de bocas de comedero de pienso durante las dos primeras semanas tras la llegada a granja no tuvo ningún efecto sobre el consumo de pienso y el crecimiento de los animales. Así pues, como estrategia alimentaria para facilitar el acceso al pienso, estimular su consumo, y paliar las consecuencias negativas de la anorexia transitoria tras el transporte no resultó ser efectiva en terneros alojados en corrales de 11 animales, con un comedero de pienso de 5 bocas, y el alimento a libre disposición.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bruininx, E.M., Binnendijk, G.P., van der Peet-Schwering, C.M.C., Schrama, J.W., den Hartog, L.A., Everts, H., Beynen, A.C. 2002. Effect of creep feed consumption on individual feed intake characteristics and performance of group-housed weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 80:

1413-1418. • Cole, N.A., Hutcheson, D.P. 1985. Influence of realimentation diet on recovery of rumen activity and feed intake in beef steers. *J. Anim. Sci.* 61: 692-701. • Fluharty, F.L., Loerch, S.C. 1996. Effects of dietary energy source and level on performance of newly arrived feedlot calves. *J. Anim. Sci.* 74: 504-513. • Gonyou, W.H. 1999. Feeder and pen design to increase efficiency. *Adv. Pork Prod.* 10: 103-113. • Griebel, P.J., Schoonderwoerd, M., Babiuk, L.A. 1987. Ontogeny of the immune response: Effect of protein energy malnutrition in neonatal calves. *Can. J. Vet. Res.* 51: 428-435. • Moore, D.A., Sischo, W.M., Festa, D.M., Reynolds, J.P., Robert Atwill, E., Holmberg, C.A. 2002. Influence of arrival weight, season and calf supplier on survival in Holstein beef calves on a calf ranch in California, USA. *Prev. Vet. Med.* 53(1-2): 103-115. • Svensson, C., Linder, A., Olsson, S.O. 2006. Mortality in Swedish dairy calves and replacement heifers. *J. Dairy. Sci.* 89: 4769-4777. • Verdú, M., Bach, A., Devant, M. 2015. Effect of concentrate feeder design on performance, eating and animal behavior, welfare, ruminal health, and carcass quality in Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 93: 1-16.

**Agradecimientos:** Este estudio ha sido realizado junto con la Agropecuària de Guissona, S. Coop. Ltda., y mediante la financiación del MAGRAMA (Proyecto 20150020003026, "VITA50: Mejora de la vitalidad de los terneros mamonés").

### **EFFECT OF NUMBER OF CONCENTRATE FEEDING SPACES FOR FIRST TWO WEEKS AFTER FARM ARRIVAL ON CONCENTRATE CONSUMPTION AND PERFORMANCE IN MILK-FED HOLSTEIN CALVES**

**ABSTRACT:** The study aim was to evaluate the effect of number of concentrate feeding spaces during the first two weeks after farm arrival on intake and performance in calves. A total of 350 calves, from two consecutive batches, were allocated in 16 pens of 11 animals. Each pen was randomly assigned to one of the 2 treatments according to the ratio of number of concentrate feeding spaces per number of calves (1:2 vs. 1:1) for first two weeks after arrival. Milk replacer feeding program was as follows: 360 g/d week 1, 330 g/d weeks 2 and 3, 300 g/d week 4, twice daily, and 210 g/d week 5 once daily. Concentrate, straw and water were offered *ad libitum*. Pen health status and milk consumption were registered daily, concentrate intake and BW weekly. Data were analyzed using a mixed-effects model with repeated measures. Number of concentrate feeding spaces did not affect concentrate consumption and performance, and health status throughout the study. In conclusion, the increase of number of concentrate feeding spaces for first two weeks after farm arrival was not an effective strategy to facilitate the concentrate access and consumption in order to reduce the impact of anorexia due to the transport.

**Keywords:** concentrate consumption, milk-fed calves, number of concentrate feeding spaces, performance,

## RESPUESTA A ENSAYOS DE TOLERANCIA A GLUCOSA Y RETOS DE INSULINA EN DROMEDARIOS JÓVENES DURANTE EL PERIODO DE CRÍA

Díaz-Medina<sup>1,2</sup>, E., Caja<sup>1</sup>, G., Salama<sup>1</sup>, A.A.K., Cabrera<sup>2</sup>, S., Alshaikh<sup>3</sup>, M., Ayadi<sup>3</sup>, M., Aljumaah<sup>3</sup>, R. y Rovai<sup>4</sup>, M.

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departamento de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España. <sup>2</sup>Oasis Park, La Lajita, Fuerteventura, Las Palmas de Gran Canaria, España. <sup>3</sup>Department of Animal Production, College of Food and Agriculture Sciences, King Saud University, Riyadh, Arabia Saudi.

<sup>4</sup>Department of Dairy Science and Food Science, South Dakota State University, Brookings, South Dakota, EE. UU. [diazmedinaelena@gmail.com](mailto:diazmedinaelena@gmail.com)

### INTRODUCCIÓN

Los dromedarios (*Camelus dromedarius* L.) son pseudo-rumiantes que, a pesar de fermentar los carbohidratos en el estómago C1 como verdaderos rumiantes, mantienen en sangre niveles basales de glucosa que duplican los de éstos (Wernery et al., 1999; Cebra et al., 2014), mientras que los niveles de insulina son aproximadamente la mitad (Elmahdi et al., 1997; Kaske et al., 2001). Estas condiciones indican un estado natural de "pseudo-diabetes". Existe poca información que permita explicar el particular metabolismo de la glucosa en camélidos. Entre los posibles mecanismos (Cebra et al., 2001) están: el uso de vías alternativas de absorción de glucosa en el intestino, gluconeogénesis aumentada y/o una mala absorción de glucosa por los tejidos, entre otras. Hay que destacar además que, tanto en pseudo-rumiantes como en rumiantes, existen diferencias en el metabolismo de la glucosa entre lactantes y adultos. Esto se debe a que, en los lactantes, los carbohidratos de la leche (e.g., lactosa) escapan de la fermentación ruminal por la gotera esofágica y se absorben como glucosa en el intestino.

El estudio del metabolismo de la glucosa se realiza mediante ensayos de tolerancia a la glucosa y retos de insulina. Aunque esta metodología ha sido utilizada en rumiantes lactantes y adultos, en el caso de los camélidos sólo se dispone de datos en camélidos americanos jóvenes y adultos (Cebra et al., 2014) y en dromedarios adultos (Elmahdi et al., 1997). El objetivo del presente estudio es caracterizar la respuesta metabólica a ensayos de glucosa e insulina en dromedarios lactantes de distintas edades para averiguar si el estado de "pseudo-diabetes" es innato o adquirido.

### MATERIAL Y MÉTODOS

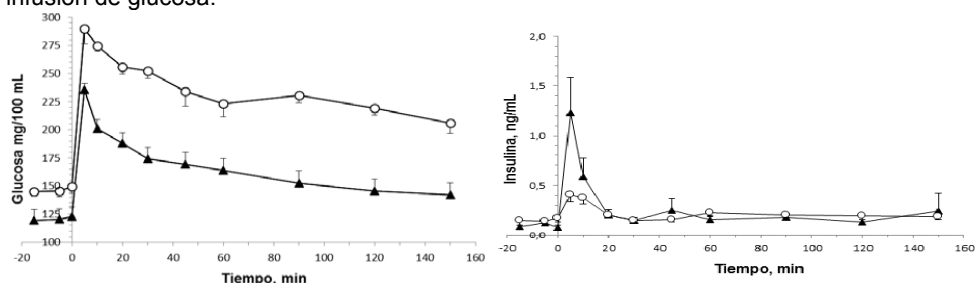
**Animales y manejo:** Se utilizaron 10 dromedarios lactantes (5 machos y 5 hembras) que se asignaron a 2 grupos experimentales (A y B) según edad (A, 15 ± 3 d; B, 132 ± 19 d) peso vivo (A, 39,7 ± 1,8 kg; B, 115,2 ± 5,8 kg) y sexo (A, 2 machos y 3 hembras; B, 3 machos y 2 hembras). A todos ellos se les implantó en yugular, el día anterior a iniciar el estudio y bajo sedación (0,1 mg/kg BW maleato de acepromacina; Calmo Neosan inyectable 0,5 g/100 mL, Labiana Life Sciences, Terrassa, España), un catéter de silicona (Nutricath S, 60 cm, 14-gauge, Vygon, Ecouen, Francia). Durante el experimento, las crías de dromedario se separaron de sus madres la noche anterior (12 h) y se alojaron por parejas en boxes (2 × 1,2 m), a fin de facilitar su manipulación y reducir su estrés.

**Ensayos GTT e IC:** El orden de realización de los ensayos se asignó al azar y se dejó 1 d como recuperación. Las dosis de glucosa e insulina administradas en yugular por el catéter fueron: 0,25 g/kg PV de D-(+)-glucosa (Sigma-Aldrich Life Science, St. Louis, MO, EE. UU.), en solución salina al 0,9% de 0,25 g/mL, y 4,6 µg insulina/kg PV (extracto de páncreas bovino y ovino; Sigma-Aldrich Life Science), en solución salina al 0,9% de 0,248 mg/ml. Las muestras de sangre se tomaron usando jeringas de plástico (5 ml) a 12 tiempos (-15, -5, 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 min) y se transfirieron a tubos de heparina de sodio (BD Vacutainer 10 ml, Belliver Industrial Estate, Plymouth, R.U.) mantenidas en hielo hasta su centrifugación (1500×g, 15 min; Microcen, Orto Alresa, Ajalvir) para obtener plasma. El plasma se almacenó (-20°C) por triplicado hasta su análisis de glucosa, ácidos grasos no esterificados y β-hidroxi-butilato (espectrofotometría) e insulina (inmunoensayo ELISA). A partir de los basales de glucosa, insulina y ácidos grasos no esterificados determinados se calcularon los índices de sensibilidad a la insulina: QUICKI (Katz et al., 2000), RQUICKI (Perseghin et al., 2001) y HOMA (Matthews et al., 1985).

**Análisis estadístico:** Los datos se analizaron mediante el procedimiento MIXED para medidas repetidas de SAS versión 9.1.3 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EE. UU.).

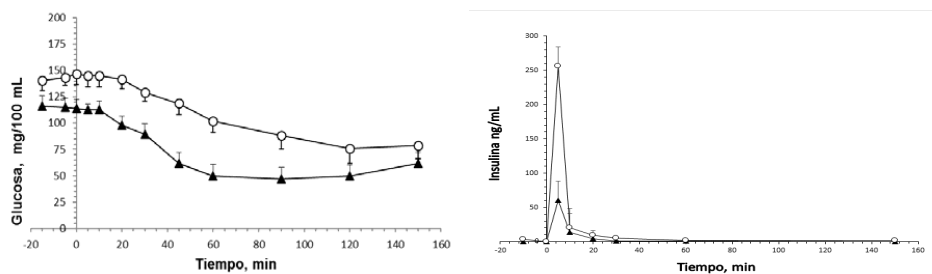
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ensayo de tolerancia a la lactosa, los valores basales de glucosa fueron elevados y aumentaron según la edad (A vs. B,  $121 \pm 7$  vs.  $147 \pm 7$  mg/100 ml;  $P = 0,02$ ). La infusión de glucosa, causó un aumento marcado de glucosa en plasma, que alcanzó su máximo a 5 min (A vs. B,  $241 \pm 9$  vs.  $284 \pm 9$  mg/100 ml;  $P = 0,002$ ) y no regresó a los valores basales a final del ensayo en ninguno de los grupos (Figura 1). Los niveles basales de insulina fueron bajos y similares entre edades ( $0,14 \pm 0,03$  ng/ml;  $P = 0,35$ ) y aumentaron también tras la infusión de glucosa, con un máximo al min 5 y una marcada diferencia (68%) entre grupos (A vs B,  $1,24 \pm 0,12$  vs.  $0,39 \pm 0,12$  ng/ml;  $P < 0,001$ ). Después del máximo, hubo una rápida disminución de insulina en ambos grupos, que se aproximó a los valores basales a partir del min 20. La media de insulina no varió entre edades. Los valores basales de ácidos grasos no esterificados fueron muy altos y similares entre edades ( $0,68 \pm 0,12$  mmol/l;  $P = 0,65$ ), posiblemente como consecuencia del ayuno de la noche anterior, pero disminuyeron tras la infusión de glucosa.



**Figura 1.** Concentraciones de glucosa e insulina en plasma durante el ensayo de tolerancia a la glucosa (0,25 g/kg PV) en dromedarios lactantes de diferentes edades ( $\blacktriangle$ , 15 d y 40 kg PV;  $\circ$ , 132 d y 115 kg PV). Las barras verticales indican el error estándar.

Con respecto a reto de insulina, la infusión de insulina produjo una disminución paralela de glucosa en ambos grupos hasta el min 90, indicando una similar sensibilidad a la insulina, sin retornar a los valores basales al final del reto (Figura 2). La concentración de insulina aumentó rápidamente tras la infusión, alcanzando en ambos grupos un máximo en el min 5, que fue superior (77%) en los dromedarios de mayor edad (A vs. B,  $60,0 \pm 28,0$  vs.  $256,0 \pm 61,7$  ng/ml;  $P < 0,001$ ). Tras el máximo, la insulina disminuyó rápidamente en ambos grupos de edad, alcanzando valores similares a los de la línea de base a partir del min 20.



**Figura 2.** Concentraciones de glucosa e insulina en plasma durante el reto de insulina (4,6  $\mu$ g insulina/kg PV) en dromedarios lactantes de diferentes edades ( $\blacktriangle$ , 15 d y 40 kg PV;  $\circ$ , 132 d y 115 kg PV). Las barras verticales indican el error estándar.

Tras la infusión de insulina, los niveles de ácidos grasos no esterificados disminuyeron de manera similar en ambos grupos de edad durante los primeros 20 min, para posteriormente producirse un aumento rápido en los dromedarios más jóvenes (A,  $0,950 \pm 0,091$  mmol/l;  $P = 0,56$  a  $0,96$ ), mientras que los mayores (B) retornaron a niveles basales. Los valores basales

de BHB fueron muy bajos y diferentes entre grupos (A vs. B,  $0,029 \pm 0,004$  vs.  $0,016 \pm 0,004$  mmol/l;  $P = 0,045$ ) y los niveles de  $\beta$ -hidroxi-butyrate disminuyeron en ambos grupos tras la infusión de insulina, retornando a sus valores basales a partir del día 30.

La edad de los dromedarios afectó a los índices QUICKI ( $P = 0,02$ ) y HOMA ( $P = 0,04$ ), pero no al RQUICKI ( $P = 0,16$ ). Los bajos valores de QUICKI y altos de HOMA en los dromedarios de mayor edad (B) fueron indicativos de su mayor resistencia a la insulina.

En conclusión, los resultados obtenidos indicaron que los dromedarios lactantes adquieren un estado natural de hiperglucemia e insulino-resistencia, similar a una “pseudo-diabetes” después del nacimiento y que aumenta con la edad. Así mismo se confirma la disminución de su tolerancia a la glucosa y de su capacidad de secreción de insulina con la edad, lo que evidencia el uso de transportadores de glucosa independientes de la insulina junto con una baja utilización de los ácidos grasos libres procedentes de la movilización de las reservas de grasa. Estos mecanismos parecen estar relacionados con la conservación de agua y energía en condiciones de subnutrición y estrés por calor. Los camellos son una especie de especial interés como modelo animal en el estudio experimental de la diabetes.

**Agradecimientos:** Éste experimento fue financiado parcialmente por el Strategic Technology Program of the National Science, Technology and Innovation Plan (NPST; project 13-AGR1159-02) de Arabia Saudí y realizado en el marco del convenio entre UAB-OP-KSU (Universitat Autònoma de Barcelona-Oasis Park-King Saud University).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cebra, C.K., et al. 2014. Chapter 41. Hepatic, pancreatic, and metabolic disorders in Llama and Alpaca Care. Elsevier
- Cebra, C.K., et al. 2001. J. Am. Vet. Res. 62: 682–686
- Elmahdi, B., et al. 1997. Comp. Biochem. Physiol. 118A: 147–151
- Kaske, M., et al. 2001. J. Comp. Physiol. B 171: 549–546
- Katz, A., et al. 2000. J. Clin. Endocrinol. Metab. 85: 2402–2410
- Matthews, D.R., et al. 1985. Diabetologia 28: 412–419
- Perseghin, G., et al. 2001. J. Clin. Endocrinol. Metab. 86: 4776–4781
- Wernery, U., et al. 1999. Color Atlas of Camelid Hematology. Blackwell Wissenschafts-Verlag.

#### RESPONSE TO GLUCOSE TOLERANCE TESTS AND INSULIN CHALLENGES OF YOUNG DROMEDARIES DURING THE SUCKLING PERIOD

**ABSTRACT:** Ten suckling dromedary camels were allocated into 2 experimental groups (A y B), according to age (A,  $15 \pm 3$  d; B,  $132 \pm 19$  d), weight (A,  $39.7 \pm 1.8$  kg BW; B,  $115.2 \pm 5.8$  kg BW) and gender (A, 2 males and 3 females; B, 3 males and 2 females). They were catheterized in the jugular vein and submitted to glucose tolerance test ( $0.25$  g/kg BW of glucose) and insulin challenges ( $4.6$   $\mu$ g insulin/kg BW). Blood samples were collected at 12 time-points (min  $-15$ ,  $-5$ ,  $0$ ,  $5$ ,  $10$ ,  $20$ ,  $30$ ,  $45$ ,  $60$ ,  $90$ ,  $120$  and  $150$ ) in regard to glucose and insulin administration. Plasma samples were analyzed for glucose, insulin, non-esterified fatty acids (NEFA) and  $\beta$ -hydroxy-butyrate (BHB). Surrogate insulin sensitivity indices QUICKI, RQUICKI and HOMA were determined from basal values of glucose, insulin and NEFA during the glucose tolerance test. The results indicated in suckling dromedaries, a natural state of hyperglycemia and an increase in insulin resistance with age, while decreasing their tolerance to glucose, insulin secretion and insulin sensitivity, with reduced signs of use of free fatty acids (NEFA) from fat mobilization.

**Keywords:** camel, glucose, insulin, hormonal challenge



## **EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE COBRE EN EL CONTENIDO MINERAL DEL SUERO DURANTE EL DESARROLLO DE LAS CUERNAS EN CIERVO ROJO.**

Gambín, P., Cappelli, J., Serrano, M.P., García, A., Gallego L. y Landete-Castillejos T. Sección de Recursos Cinegéticos y Ganaderos, Instituto de Desarrollo Regional de la Universidad de Castilla-La Mancha. Campus Universitario sn, 02071, Albacete, España. [Pablo.gambin@uclm.es](mailto:Pablo.gambin@uclm.es)

### **INTRODUCCIÓN**

En España, el ciervo es apreciado por su cuerna y supone la especie de caza mayor con mayores sueltas, las cuales provienen, en su mayoría, de granjas cinegéticas (MAGRAMA, 2013). Por tanto, la rotura de las cuernas antes de su comercialización podría causar importantes pérdidas económicas en este sector. Las cuernas se consideran como un tejido óseo que crece una media de 0,67cm durante 120-135 días (Gómez *et al.*, 2013) requiriendo, por tanto, minerales de la dieta (Landete-Castillejos *et al.*, 2010) y del esqueleto (Baxter *et al.*, 1999). A pesar de que las cuernas están compuestas principalmente por calcio (Ca) y fósforo (P) (Estévez *et al.*, 2009), se ha demostrado que los minerales traza tienen un papel clave en las características de la cuerna (Landete-Castillejos *et al.*, 2010). Entre los minerales traza, el cobre (Cu) puede ser muy importante puesto que desempeña un papel esencial en la maduración del colágeno (Hyun *et al.*, 2004), el cual está implicado en la condrogénesis de la cuerna del ciervo (Price *et al.*, 1996). En ciervos, la deficiencia de Cu es la deficiencia mineral más común y puede ser detectada a través del suero (Grace y Wilson, 2002). Entre otras patologías, la deficiencia de Cu puede causar rotura de cuernas (Johnson *et al.*, 2007) y trastornos óseos como osteocondrosis (Wilson y Grace, 2001). Además, un estudio previo demuestra que las cuernas de ciervos suplementados con Cu aumentan un 4.1 % el grosor del hueso cortical, un 9% el contenido de estroncio (Sr) y un 2% el contenido de zinc (Zn) (Gambín *et al.*, 2017). Por tanto, debido a la importancia del Cu para las cuernas, se pretende estudiar los efectos de la suplementación de Cu sobre los minerales del suero durante el desarrollo de las cuernas en ciervo rojo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Este estudio se realizó en la granja experimental de la UCLM de Albacete al sureste de España. Dieciocho ciervos fueron divididos en dos grupos homogéneos (n = 9) en cuanto al peso y edad. Como promedio, el grupo control tuvo 108,5 ± 44,4 kg y 2,8 ± 1,96 años mientras que el grupo experimental tuvo 105,4 ± 49,2 kg y 2,6 ± 1,42 años. El programa de alimentación fue común para todos los ciervos y se ofreció consumo *ad libitum* durante todo el ensayo. El programa de alimentación y la composición de los ingredientes fueron los mismos que los utilizados por Gambín *et al.* (2017) y cumplió o superó los requerimientos de nutrientes de ciervos establecidos por *National Research Council* (NRC) (2007). El Cu se suministró por inyección subcutánea usando 1 cm<sup>3</sup>/30 kg de peso vivo de una solución comercial (Glypondin®, König S.A., Buenos Aires, Argentina) que contenía 0,83 mg de Cu por kg de peso corporal en el grupo de tratamiento. Las inyecciones se administraron cada 42 días siguiendo las recomendaciones del fabricante desde la mitad de febrero hasta la mitad de julio. Los animales control recibieron una dosis de suero salino (1 cm<sup>3</sup>/30 kg de peso vivo) en las mismas fechas. Se tomaron muestras de sangre en 4 fechas diferentes. La primera muestra fue 36 días antes del crecimiento de la cuerna, a mediados de febrero y coincidiendo con el inicio del incremento de condición corporal de los machos con el fin de preparar la temporada de apareamiento (Gaspar-López *et al.*, 2010), otra, durante el crecimiento de la cuerna, es decir el día 54 después del inicio del crecimiento de la cuerna (DICC), otra en el día 130 DICC (cuando el hueso cortical de la cuerna terminó su crecimiento, Gómez *et al.*, 2013) y la última en el día 197 DICC, coincidiendo cuando la cuerna estuvo limpia de terciopelo y con la temporada de apareamiento (Gaspar-López *et al.*, 2010). Las muestras de sangre se extrajeron mediante venopunción yugular e inmediatamente después se coagularon en tubos Vacutest Clot® (Vacutest Kima sr.l., Arzergrande, Italia). El suero se separó utilizando una centrífuga a 2.848 g, 4°C durante 15 min y las muestras se mantuvieron en un congelador a -20°C hasta el análisis. El contenido de minerales del suero se analizó mediante espectrometría de emisión óptica acoplada inductivamente (ICAP 6500 DUO Spectrometer / IRIS INTREPID II XDL; Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EE.UU.). Los análisis estadísticos se realizaron usando el

programa SPSS version 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). Se utilizó en análisis ANOVA para comparar el promedio de peso y la edad con el fin de comprobar que no había diferencia entre el control y el grupo experimental. Se utilizó el modelo mixto de medidas repetidas para el estudio de los minerales del suero. Los factores fijos fueron el tratamiento de Cu, el desarrollo de cuerna y la interacción entre ambos. El factor aleatorio fue el animal.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La interacción de la suplementación de Cu y la fecha de extracción de suero fue no significativa ( $P > 0,10$ ) para todos los minerales estudiados. Por tanto, sólo los factores fijos son mencionados en este apartado. En este sentido, la suplementación con Cu aumentó el contenido de suero de Cu y P (Tabla 1). Concretamente, el contenido de Cu del suero durante el desarrollo de la cuerna fue un 24% mayor en el grupo suplementado con Cu que en el grupo de control ( $P = 0,028$ ). Este aumento está en consonancia con el estudio de Walker *et al.* (2002), los cuales encontraron que la suplementación de Cu administrado mediante bolos intrarumiales en machos de ciervo rojo de 2 años de edad, durante el período de crecimiento de la cuerna, producía un aumento de Cu en suero. Asimismo, la suplementación de Cu, incluso bajo una dieta equilibrada, aumentó en un 27% el contenido de Cu en suero (Gambín *et al.*, 2017). Además, el contenido de Cu en suero estuvo también en armonía con los niveles de referencia de suero de Cu propuestos por Wilson y Grace (2001) y siempre por debajo de los valores (1,3-1,7 mg/kg) propuestos por Laven y Wilson (2011) evitando efectos tóxicos como la hepatopatía subclínica. Este aumento de Cu podría servir para prevenir y/o contrarrestar las consecuencias de las deficiencias de Cu. A pesar de la importancia del Cu, no se han encontrado artículos para comparar los resultados obtenidos en relación a la influencia de las inyecciones subcutáneas de Cu sobre el contenido mineral del suero.

**Tabla 1.** Efecto de la suplementación de cobre (SCu) y el estado del desarrollo de la cuerna sobre los minerales del suero.

	SCu		Estado del desarrollo de la cuerna				DE <sup>3</sup> (n= 18)	P-valor	
	Control	Experimental	36 <sup>1</sup>	54 <sup>2</sup>	130 <sup>2</sup>	197 <sup>2</sup>		SCu	Fecha
Ca(g/100)	0,007	0,007	0,007 <sup>BC</sup>	0,008 <sup>A</sup>	0,007 <sup>C</sup>	0,007 <sup>B</sup>	0,001	NS	***
P(g/100)	0,008	0,009	0,008 <sup>B</sup>	0,010 <sup>A</sup>	0,009 <sup>AB</sup>	0,008 <sup>C</sup>	0,001	**	**
Mg(g/100)	0,002	0,002	0,002 <sup>B</sup>	0,002 <sup>A</sup>	0,002 <sup>A</sup>	0,002 <sup>A</sup>	0,001	NS	***
K(g/100)	0,026	0,026	0,041 <sup>A</sup>	0,019 <sup>C</sup>	0,023 <sup>B</sup>	0,020 <sup>BC</sup>	0,002	NS	***
Na(g/100)	0,293	0,294	0,265 <sup>C</sup>	0,295 <sup>B</sup>	0,303 <sup>B</sup>	0,313 <sup>A</sup>	0,009	Ns	***
S(g/100)	0,084	0,083	0,067 <sup>C</sup>	0,083 <sup>B</sup>	0,089 <sup>B</sup>	0,097 <sup>A</sup>	0,005	NS	***
Al(mg/kg)	0,201	0,256	0,293 <sup>AB</sup>	0,337 <sup>A</sup>	0,166 <sup>BC</sup>	0,122 <sup>C</sup>	0,072	NS	***
B(mg/kg)	0,169	0,186	0,177 <sup>B</sup>	0,125 <sup>C</sup>	0,177 <sup>B</sup>	0,231 <sup>A</sup>	0,025	NS	***
Cu(mg/kg)	0,662	0,852	0,634 <sup>BC</sup>	0,811 <sup>AB</sup>	0,593 <sup>C</sup>	0,987 <sup>A</sup>	0,154	*	***
Fe(mg/kg)	3,591	3,341	5,288 <sup>A</sup>	2,454 <sup>C</sup>	3,908 <sup>B</sup>	2,182 <sup>C</sup>	0,759	NS	***
Mn(mg/kg)	0,139	0,134	0,147 <sup>A</sup>	0,118 <sup>B</sup>	0,143 <sup>A</sup>	0,137 <sup>A</sup>	0,014	NS	***
Sr(mg/kg)	0,175	0,188	0,157 <sup>B</sup>	0,198 <sup>A</sup>	0,198 <sup>A</sup>	0,176 <sup>AB</sup>	0,027	NS	***
Zn(mg/kg)	0,660	0,658	0,661 <sup>AB</sup>	0,554 <sup>B</sup>	0,655 <sup>AB</sup>	0,767 <sup>A</sup>	0,091	NS	***

<sup>1</sup> Días antes del comienzo del crecimiento de la cuerna. <sup>2</sup> Días después del comienzo del crecimiento de la cuerna. <sup>3</sup> Desviación estándar. <sup>A,B,C</sup> Valores que en la misma fila difieren a  $P \leq 0,01$ . \* $P < 0,05$ . \*\* $P < 0,01$ . \*\*\* $P < 0,001$ .

La interacción de la suplementación de Cu y la fecha de extracción de suero fue no significativa ( $P > 0,10$ ) para todos los tratamientos estudiados. Por tanto sólo se muestran los factores fijos.

El contenido de P fue un 7% mayor en el suero de ciervos suplementados con Cu que en el suero de ciervos del grupo de control ( $P = 0,002$ ). Dicho aumento fue un resultado muy sorprendente. El P es un mineral extremadamente importante para el crecimiento de cuerna, debido a que participa en su principal componente óseo, llamado hidroxapatita (Estévez *et*

*al.*, 2009) y su deficiencia está asociada a la rotura de las cuernas (Johnson *et al.*, 2007). De manera similar, se encontró un incremento en el porcentaje de P en huesos de cerdos suplementados con Cu (Davin *et al.*, 2016). El aumento del contenido de suero de P producido por la suplementación de Cu podría tener consecuencias beneficiosas para el tejido óseo de la cuerna. Es más, en cerdos existe una relación positiva entre el contenido de P en suero y la densidad ósea (Oster *et al.*, 2016). Sin embargo, habría que confirmar que el aumento del P en suero podría aumentar la densidad de las cuernas. Además, los resultados también mostraron que el contenido mineral del suero estuvo influenciado por el estado de desarrollo de la cuerna. Los contenidos en suero de Ca, P y Mg fueron más altos en el día 54 DICC coincidiendo con la mineralización del hueso lamelar en las cuernas (Gómez *et al.*, 2013). Esto está en consonancia con Kuba *et al.* (2015) que sugiere que los minerales en suero se rigen por cambios en el desarrollo de la cuerna. El Cu tuvo un aumento el día 54 DICC y puede ser debido a la formación del colágeno (Hyun *et al.*, 2004) durante la condrogénesis (Price *et al.*, 1996). En conclusión, el contenido en suero varía con el estado del desarrollo de la cuerna y la suplementación de Cu aumenta los contenidos de Cu y P en suero, incluso bajo una dieta equilibrada. Por lo tanto la inyección de Cu podría servir para aumentar el P y Cu en suero y prevenir la rotura asociada a las deficiencias.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baxter, B.J. *et al.*, 1999. *Anat. Rec.* 256:14-19.
- Davin, R. *et al.*, 2016. *J. Anim. Sci.* 94: 74-75.
- Estévez, J.A. *et al.*, 2009. *Acta Theriol.* 54: 235-242.
- Gambín, P. *et al.*, 2017. *Animal* doi:10.1017/S1751731116002767
- Gaspar-López, E. *et al.*, 2010. *Reprod. Domest. Anim.* 45: 243-249.
- Gómez, S. *et al.*, 2013. *Bone* 52: 506-515.
- Grace, N.D. y Wilson, P.R. 2002. *New Zeal. Vet. J.* 50: 252-259
- Hyun, T.H. *et al.*, 2004. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 715-721.
- Johnson, H.E. *et al.*, 2007. *J. Wildlife Dis.* 43: 61-74.
- Kuba, J. 2015. *Biol. Trace Elem. Res.* 168: 356-361.
- Landete-Castillejos, T. *et al.*, 2010. *Bone* 47: 815-825
- Laven, R.A. y Wilson, P. R. 2011. *New Zeal. Vet. J.* 59, 197-200.
- MAGRAMA, 2013, *Inventario Español del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad*
- NRC. 2007. *Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids.*
- Oster, M. *et al.*, 2016. *Am. J. Physiol.-Reg. I.* 310: 917-925.
- Price, J.S. *et al.*, 1996. *Dev. Dynam.* 205: 332-347.
- Walker I.H. *et al.*, 2002. *New Zeal. Vet. J.* 50: 177-181.
- Wilson, P.R. y Grace, N.D. 2001. *New Zeal. Vet. J.* 49: 126-132.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Educación y Deportes de Castilla-La Mancha (PEII-2014-004-P) y por el Ministerio de Economía y Competitividad (RTC-2016-5327-2).

### EFFECT OF COPPER SUPPLEMENTATION IN MINERAL SERUM CONTENT DURING ANTLER GROWTH ON RED DEER

**ABSTRACT:** In Spain, the deer is appreciated for its antlers, so the breakage could cause important economic losses. Despite antlers are composed mainly of Ca and P, trace minerals as Cu could have a key role. In fact, Cu deficiency is associated with antler breakage. Our objective was to verify that serum Cu increases throughout Cu supplementation previous and during the antlers growth. Seventeen deer were divided in 2 homogeneous groups (n = 9). Experimental group, was Cu-injected every 42 days, from February to July (0.83 mg Cu/kg body weight) while in control group was saline serum injected. Mineral content of the serum was analysed by ICP spectrometry. It was used a GLMM analysis to compare, treatment and serum minerals content of 4 different dates: at day 36 before beginning antler growth and at days 54 after beginning antler growth (ABAG), 130 ABAG and 197 ABAG. The results showed that Cu supplementation increased the serum content of Cu (+24%) and P (+7%) in the supplemented group and serum contents of Ca, P, Mg and Cu were highest at day 54 ABAG. In conclusion, even under a balanced diet, therefore Cu injection could serve to increase serum P and Cu values, whose deficiencies are associated with the rupture of antlers. Besides, mineral serum content varies depending on antler development stage.

**Keywords:** *Cervus elaphus*; Cu; plasma minerals; stags

## PERFIL LIPÍDICO Y ESTRÉS OXIDATIVO DE CONEJAS Y GAZAPOS ALIMENTADOS CON PIENSOS ENRIQUECIDOS EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS n-3

Rodríguez<sup>1</sup>, M., García-García<sup>2</sup>, R.M., Millán<sup>2</sup>, P., Arias-Álvarez<sup>2</sup>, M., Formoso-Rafferty<sup>2</sup>, N., Lorenzo<sup>2</sup>, P.L., Gonzáles-Bulnes<sup>3</sup>, A. y Rebollar<sup>1</sup>, P.G. pilar.grebollar@upm.es

<sup>1</sup>E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. UPM.

<sup>2</sup>Facultad de Veterinaria. UCM.

<sup>3</sup>INIA. Ciudad Universitaria s/n, 28040, Madrid.

### INTRODUCCIÓN

En las hembras gestantes, la mayoría de los ácidos grasos (AG) del alimento o de sus depósitos grasos al final de la gestación pasan a los fetos a través de la placenta mediante lipólisis (Herrera *et al.*, 2014). Estos lípidos constituyen los depósitos de grasa de los que depende la supervivencia del gazapo recién nacido, en el que el estrés térmico puede ser muy importante, debido a que nacen sin pelo y a la alta proporción de superficie de piel con respecto a su masa corporal. Trabajos previos han demostrado que los ácidos grasos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3) mejoran significativamente el perfil lipídico en humanos (Harris, 1997) y conejos (Rebollar *et al.*, 2014). Sin embargo es sabido que provocan un mayor estrés oxidativo tisular. Por tanto, el objetivo de este trabajo ha sido profundizar en la relación beneficio-riesgo que conlleva aumentar la ingesta de AGPI n-3 en el perfil lipídico y en el estrés oxidativo de las conejas gestantes y en la supervivencia de sus gazapos.

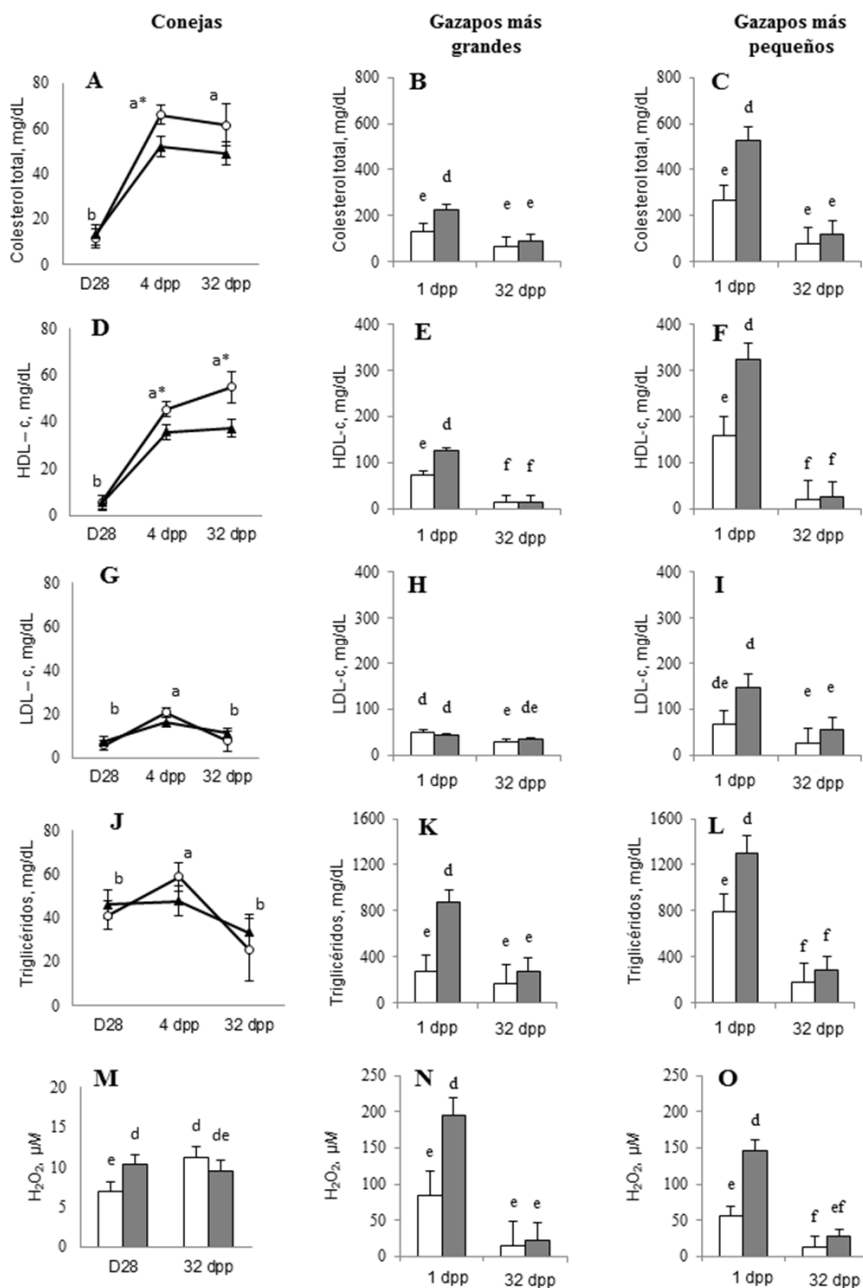
### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 30 conejas gestantes (Neozelandés blanco × Californiano) se distribuyeron al azar en dos grupos experimentales que desde la recría hasta el primer destete consumieron dos piensos *ad libitum* con igual valor nutritivo (2400 kcal energía digestible/kg, 35% fibra neutro-detergente y 16% proteína bruta) pero diferentes fuentes de grasa. En el pienso rico en AGPI (n=15) se incluyó un suplemento a partir de aceite refinado de salmón con 149,2 g/kg de n-3 del total de AG (Optomega 50, Optivite, International Ltd., España). En el pienso control (n=15) se utilizó grasa mezcla de origen animal con 45,9 g/kg de n-3 del total de AG. Al final de la gestación se determinó la prolificidad (nº de gazapos nacidos vivos y muertos), peso y longitud de los gazapos, así como la mortalidad en lactación. Se tomaron muestras de sangre de las madres el día 28 de gestación (D28), 4 días postparto (dpp) y 32 dpp, y del gazapo más grande y más pequeño con 1 y 32 días de edad de 8 camadas de cada grupo. En el plasma sanguíneo se determinó el perfil lipídico (colesterol total, triglicéridos, lipoproteína de baja densidad (LDL-c) y lipoproteína de alta densidad (HDL-c)) mediante un analizador automático (Saturno 300 Plus; Crony Instruments s.r.l., Italia) y el estrés oxidativo, usando peróxido de hidrógeno como marcador, mediante enzimoanálisis (Abcam, RU) con una sensibilidad de 0,04 µM. Para estudiar el efecto de la suplementación sobre el perfil lipídico y el estrés oxidativo de las hembras se realizó un análisis de medidas repetidas con el pienso, el tiempo y la interacción entre ambos como efectos principales. En el caso de la prolificidad, peso y medidas al nacimiento (con el tamaño de camada como covariable), perfil lipídico y estrés oxidativo de los gazapos, se realizó un análisis de varianza con la dieta como efecto principal. Para analizar el efecto del pienso sobre la mortalidad de los gazapos en lactación se aplicó una chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). Se consideraron diferencias significativas cuando  $P < 0,05$  y tendencia cuando  $P < 0,1$  (SAS, Institute, 2001).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las conejas control y AGPI parieron un número similar de gazapos vivos (media±eem; 10,3±0,38) y muertos (0,07±0,11), pero los gazapos AGPI tendieron a pesar más (42,5±0,47 y 50,8±0,47g;  $P=0,074$ ) y tuvieron más longitud (71,6±0,42 y 79,5±0,42 mm;  $P=0,031$ ) que los controles. Las hembras AGPI tuvieron menos colesterol (4 dpp) y HDL-c (4 y 32 dpp) que las controles a lo largo de la lactación, mientras que no hubo diferencias en LDL-c y triglicéridos entre grupos (Figura 1) y siempre se mantuvieron en niveles fisiológicos (Palinski *et al.*, 2001). El efecto reductor de los AGPI sobre la colesterolemia observado en las madres lactantes, ya se había determinado en conejos a los que se administró la suplementación con AGPI tras una dieta hiperlipidémica (Cayli *et al.*, 2010). No obstante, los

gazapos recién nacidos suplementados tuvieron más colesterol, HDL-c y triglicéridos que los controles independientemente de su tamaño, aunque no hubo diferencias en LDL-c.



**Figura 1:** Perfil lipídico y estrés oxidativo de conejas alimentadas con un pienso control (○: n=15) o uno suplementado con ácidos grasos poliinsaturados n-3 (▲: AGPI; n=15) (medidos a día 28 de gestación (D28), 4 y 32 días post-parto (dpp)) y del gazapo más grande y más pequeño de su camada (□: control n=8; ■: AGPI n=8; medidos a 1 y 32 dpp). Diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) debidas al tratamiento (\*), al tiempo (a, b, c) y a la interacción (d, e, f).

La mayoría del colesterol de los recién nacidos es sintetizado *de novo* por el feto (Palinski *et al.*, 2009), por lo que en el caso de los gazapos AGPI, sintetizaron casi el doble que los controles. Aunque en este trabajo no se han detectado diferencias significativas en la mortalidad en lactación ( $5,1\pm 1,43$  y  $2,2\pm 1,39\%$  en control y AGPI, respectivamente;  $P>0,05$ ), esta situación en el metabolismo lipídico de los recién nacidos suplementados puede tener implicaciones importantes para su supervivencia en las primeras horas de vida, ya que usan los lípidos como sustrato para la termogénesis a través del tejido adiposo marrón. Al destete, todos los parámetros lipídicos mostraron valores menores que al principio de la lactación y se igualaron entre grupos. Tanto las madres a D28 como los neonatos suplementados de los dos tamaños mostraron un mayor estrés oxidativo, aunque en ambos descendió y se igualó al grupo control a los 32 dpp. Estos resultados podrían deberse a que la incorporación de AGPI n-3 a los tejidos duplica su peroxidación lipídica (Gladine *et al.* (2012), siendo evidente en el hígado de conejos tras recibir suplementos de aceite de atún y de manera dependiente de la dosis (Van Kuijk *et al.*, 1990). Como conclusión, los datos actuales sugieren que la suplementación con AGPI n-3 favorece el tamaño, el peso y el estado hiperlipidémico de los neonatos y reduce la concentración de colesterol de sus madres durante la lactación. Sin embargo, en periodos próximos al nacimiento aumenta el estrés oxidativo en ambos, aunque no se han observado consecuencias negativas en la supervivencia de la camada.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Cayli, S., *et al.* 2010. *Histol. Histopathol.* 25:141-151. • Gladine, C., *et al.* 2012. *Br. J. Nutr.* 107:1254–1273. • Harris, W.S. 1997. *Am. J. Clin. Nutr.* 65:1645–1654. • Herrera, *et al.* 2014. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 15:24-31. • Palinski, W., *et al.* 2001. *Circ. Res.* 89:991-996. • Palinski, W. 2009. *Circ. Res.* 104:569-571. • Rebollar *et al.* 2014. *Anim. Reprod. Sci.* 146: 202–209. • SAS Institute, 1990. SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA. • Van Kuijk, F., *et al.* 1990. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism* 1043, 116–118.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822 y la Comunidad de Madrid (S2013/ABI-2913).

#### INFLUENCE OF DIETARY ENRICHMENT WITH POLYUNSATURATED FATTY ACID N-3 ON LIPID PROFILE AND OXIDATIVE STRESS OF RABBIT DOES AND THEIR OFFSPRING

**ABSTRACT:** The aim of the present study was to evaluate the lipid profile and oxidative stress of rabbit does and their offspring when were fed with a diet enriched with n-3 PUFA during their first productive cycle. A total of 30 pregnant rabbit ate *ad libitum*, from rearing to weaning, two diets differing in the fat acid (FA) composition. The control diet (n=15 rabbit does) contained 45.9 g/kg of n-3 of the total FA and the PUFA diet (n=15 rabbit does) contained 149.2 g/kg of n-3 of the total FA. Although there were no major effects ( $P>0.05$ ) on number of born alive and stillborn, live kits from PUFA does were longer (+11.03%;  $P<0.05$ ) and tended to be heavier (+19.53%;  $P=0.07$ ) than those from control ones ( $P<0.05$ ). Mortality during lactation was similar between groups. PUFA females had lower total and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c)) than control ones during lactation ( $P<0.05$ ). Regarding offspring, the enrichment of diet with PUFA caused a hyperlipidemic status (greater values of plasma triglycerides, total, and HDL-c;  $P<0.05$ ) at 1 day post-partum (dpp), compared to control group and it disappeared at 32 dpp. Supplemented does before parturition and their offspring at 1 dpp had greater oxidative stress than control ones. In conclusion, n-3 PUFA enrichment enhances the size, weight and hyperlipidemic status of neonates and reduces the cholesterol of their mothers during lactation. However, in periods close to parturition increases the oxidative stress in both, although no negative consequences have been observed in the litter survival.

**Keywords:** lipid profile, oxidative stress, polyunsaturated fatty acid, rabbit.

## EFFECTO DEL NIVEL DE FIBRA SOLUBLE Y DE LA RELACIÓN n-6/n-3 SOBRE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL Y FECAL DE GAZAPOS

Delgado<sup>1</sup>, R., Abad-Guamán<sup>2</sup>, R., Nicodemus<sup>1</sup>, N., Sastre<sup>1</sup>, J., Carabaño<sup>1</sup>, R., Menoyo<sup>1</sup>, D. y García<sup>1</sup>, J.

<sup>1</sup> Departamento de Producción Agraria, ETSI Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid. javier.garcia@upm.es

<sup>2</sup> Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Loja. Ecuador.

### INTRODUCCIÓN

La inclusión de fibra soluble en el pienso de conejos mejora la digestibilidad ileal y fecal de la fibra soluble e insoluble a nivel ileal y fecal en animales adultos y aumenta el flujo de mucinas a nivel ileal (Abad *et al.*, 2015). Estos efectos podrían estar relacionados con el efecto positivo que ejerce la fibra soluble sobre la mucosa intestinal y la salud de los gazapos recién destetados (Gómez-Conde *et al.*, 2007; Trocino *et al.*, 2013). Por otra parte, se ha visto que la reducción de la relación de ácidos grasos n-6/n-3 (4,8 vs. 1,0) en el pienso de conejos reduce la mortalidad de gazapos en cebo (Maertens *et al.*, 2005) lo que podría estar relacionado con los cambios en la composición de ácidos grasos en la mucosa del intestino delgado (Boudry *et al.*, 2009). El posible efecto sinérgico de estos dos factores no ha sido evaluado previamente, por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la combinación de dos niveles de fibra soluble y dos relaciones de ácidos grasos n-6/n-3 sobre la digestibilidad ileal y fecal de gazapos tras el destete.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñaron 4 tratamientos organizados factorialmente (2×2), con dos niveles de fibra soluble (FS) (7,8 vs. 13,0% de materia seca (MS)), que se obtuvieron reemplazando paja y salvado por pulpa de remolacha, y dos relaciones de ácidos grasos n-6/n-3 (13,4 (Bn-3) vs. 3,5 (An-3)), que se obtuvieron fundamentalmente por la sustitución de aceite de girasol alto en oleico por aceite de linaza (Tabla 1). Se asignaron al azar 52 gazapos a cada tratamiento al destete (26 d edad y 422±27 g de peso vivo), se sacrificaron entre las 19 y las 21 h a los 39 d de edad, y se recolectó la digesta presente en los últimos 20 cm del íleon y una muestra de yeyuno para determinar la actividad sacarásica en la mucosa. La digesta de varios gazapos (4-5) se mezcló con el fin de disponer de suficiente cantidad para los análisis, obteniéndose 9-12 mezclas de cada tratamiento. Para cuantificar la fibra dietética total y las mucinas en la digesta ileal se preparó una única mezcla por tratamiento a partir de las mezclas disponibles. Se asignaron al azar otros 14 gazapos a cada tratamiento al destete (26 d edad y 449±54 g de peso vivo) y se determinó la digestibilidad fecal entre los 39 y 42 d de edad. Se determinaron las mucinas a nivel ileal y fecal con el fin de corregir los valores de fibra dietética total y el iterbio para determinar la digestibilidad ileal (Abad *et al.*, 2013; Abad-Guamán *et al.*, 2015). Se utilizaron los procedimientos de la AOAC (2000) para el análisis de la materia seca (934.01), proteína (968.06), almidón (996.11), grasa (920.39), fibra dietética total (985.29), y Fibra ácido-detergente (973.187). La fibra neutro-detergente (FND) se analizó según Mertens *et al.* (2002). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza que incluyó como efectos fijos el nivel de FS, el ratio n-6/n-3 y su interacción.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El consumo de pienso se redujo un 8% en los animales alimentados con el nivel mayor de FS entre los 25 y 39 d de edad, si bien esto no se observó entre los 39 y los 42 d (Tabla 2). Los tratamientos no modificaron la digestibilidad de la materia seca a nivel ileal o fecal (48,7 y 64,2% de media, respectivamente). Este trabajo confirma la solubilización/fermentación de una parte de la fibra a nivel ileal en animales jóvenes, mostrando valores similares a los obtenidos en conejos adultos (Abad-Guamán *et al.*, 2015). El aumento de la fibra soluble en el pienso mejoró la digestibilidad de la fibra dietética total a nivel ileal y fecal (un 97 y un 40%, respectivamente.  $P \leq 0,029$ ). Esto es debido a la mejora de la digestibilidad de la fracción soluble e insoluble (FND) como se puede observar a nivel fecal ( $P < 0,001$ ). También se observa que la reducción del ratio n-6/n-3 empeora la digestibilidad de la fibra total y soluble cuando el nivel de fibra soluble en el pienso es bajo ( $P \leq 0,028$ ). En general,

la mayor cantidad de fibra fermentada a nivel ileal y fecal podría modificar el tipo de microbiota intestinal (El Abed *et al.*, 2013) y explicar la reducción de la mortalidad observada con estos piensos al aumentar el nivel de fibra soluble (Delgado *et al.* datos no publicados). Al aumentar el nivel de fibra soluble aumentó el flujo de mucinas a nivel ileal (expresado por kg de MS ingerida), lo que ya observó Abad-Guamán *et al.* (2015), y que podría estar relacionado con el efecto positivo de la fibra soluble sobre la mucosa intestinal. Además el aumento de FS tendió a mejorar la digestibilidad ileal del almidón y a reducir la cantidad del mismo que llegó al ciego lo que anteriormente se ha relacionado con un mejor estado de la mucosa intestinal (Gómez-Conde *et al.*, 2007). Sin embargo, en este trabajo sólo se ha observado una tendencia ( $P = 0,068$ ) a mejorar la actividad específica sacarásica en el yeyuno en los gazapos alimentados con el pienso AF\_Bn-3 (datos no mostrados) a diferencia de lo observado por Gómez-Conde *et al.* (2007). Curiosamente, la digestibilidad fecal del almidón se redujo ligeramente al aumentar el nivel de FS ( $P < 0,001$ ). Esto podría deberse a la mayor presencia de microorganismos en las heces, que contienen una cantidad pequeña pero apreciable de almidón. La proteína microbiana supone un 40% de la proteína total en las heces duras (Carabaño *et al.*, 2000), y el contenido bacteriano de glucosa ligada a almidón es aproximadamente un 2,4% (sobre MS. Merry y McAllan, 1983). La digestibilidad fecal de la grasa también tendió a disminuir con el mayor nivel de FS ( $P = 0,089$ ) sin mostrar efecto alguno la relación n-6/n-3, lo que también podría deberse a la mayor presencia de grasa microbiana (que supone alrededor de un 18% de las bacterias).

**Tabla 1. Ingredientes y composición química de los piensos experimentales**

Ingredientes, %	Baja fibra soluble		Alta fibra soluble	
	BF Bn-3	BF An-3	AF Bn-3	AF An-3
Trigo blando 10,7% PB	22,7	22,7	21,7	21,7
Salvado y tercerillas	28,0	28,0	13,0	13,0
Paja tratada con sosa	10,0	10,0	5,0	5,0
Pulpa remolacha	0	0	18,0	18,0
Harina de girasol 29	9,97	9,97	12,97	12,97
Aceite de girasol alto oleico	0,85	0	0,85	0
Aceite de girasol	2,15	2,0	2,15	2,0
Aceite de linaza	0	1,0	0	1,0
Otros <sup>1</sup>	26,3	26,3	26,3	26,3
Composición química analizada, % MS				
Fibra dietética total <sup>2</sup>	39,1	38,0	44,2	43,8
aFND <sup>2</sup>	30,7	30,9	31,2	30,8
Fibra soluble	8,4	7,19	13,0	13,0
Grasa	5,38	4,91	4,87	5,00
Proteína bruta	16,5	16,3	16,2	16,4
Almidón	22,6	22,2	18,2	18,4
Ácidos grasos, g/100 g ácidos grasos				
C16:0	11,0	11,6	10,7	11,4
C18:0	3,0	3,2	3,2	3,3
C18:1n9	30,3	20,1	31,4	20,1
C18:2n6	48,9	48,0	47,2	46,8
C18:3n3	2,9	12,4	2,7	13,3
n-6/n-3	14,4	3,7	12,5	3,4

<sup>1</sup> en %: Alfalfa 14,5; 0,5 alfalfa marcada con Yb; H. soja 8,0; Carbonato cálcico 1,2; Cloruro sódico 0,3; Fosfato bicálcico 0,5; Met 0,08; Lys 0,44; Thr 0,31; Corrector vitamínico-mineral (L511. Trouw España) 0,5. Todos los piensos llevaron 66 ppm de robenidina y 50 ppm de etoiquin. <sup>2</sup> expresada libre de cenizas y proteína.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, R. *et al.* 2013. Anim. Feed Sci.182: 61- 70
- Abad-Guamán, R., *et al.* 2015. J. Anim. Sci. 93: 2860–2871.
- Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis 17th ed. AOAC. Washinton, DC.
- Boudry, G. *et al.* J. Nutr. 139:1110-1117.
- Carabaño, R. *et al.* 2000. World Rabbit Sci. 8:15-28.
- El Abed *et al.*, 2013. 21:207-208.
- Gómez-Conde M.S. *et al.*, 2007. J. Anim. Sci. 85:3313-3321.
- Maertens, L. *et al.* 2005. Proc. 11èmes Journées Recherche Cunicole. pp. 205-208.
- Merry, R.J. & McAllan, A.B.



1983. Br. J. Nutr. 50, 701-709. • Mertens, D.R. 2002. J. Assoc. Off. Assoc. Chem. Int. 85:1217-1240. • Trocino, A. *et al.* 2013. World Rabbit Sci. 21:1-15.

**Agradecimientos:** Proyecto AGL2011-23885 y Proyecto MEDGAN ABI-2913. Agradecemos a Enrique Blas (UPV) la fabricación de los piensos experimentales.

**Tabla 2.** Efecto del nivel de fibra soluble y de la relación n-6/n-3 sobre la digestibilidad ileal y fecal en gazapos tras el destete ( $n_{\text{digestibilidad ileal}} = 9-12$ ;  $n_{\text{digestibilidad fecal}} = 12-14$ ).

Piensos	BF_Bn-3	BF_An-3	AF_Bn-3	AF_An-3	rsd	P <sub>SF</sub>	P <sub>SF×n-6/n-3</sub>
Consumo MS 25-39 d, g/d	53,9	57,3	52,4	49,6	7,31	0,015	0,099
Digestibilidad ileal, %							
MS	49,6	44,5	49,5	51,4	17,0	0,52	0,52
Almidón	97,8	97,5	98,3	98,7	1,19	0,064	0,44
Fibra dietética total	13,3	12,3	25,0	25,5	14,6	0,029	0,88
Flujo ileal, g/d							
MS	26,3	28,9	26,7	21,9	6,86	0,13	0,096
Almidón	0,41	0,34	0,20	0,13	0,30	0,059	0,99
Fibra dietética total	17,7	19,1	18,8	16,2	4,77	0,56	0,20
Mucinas, g/kg MS ingerida	33,3	31,4	38,5	37,0	8,15	0,043	0,94
Consumo MS 39-42 d, g/d	104	98,6	91,0	101	16,2	0,36	0,21
Digestibilidad fecal, %							
MS	64,1	63,7	64,6	65,1	2,86	0,27	0,57
Almidón	99,1	99,1	98,6	98,7	0,44	<0,001	0,95
Grasa	81,2	81,6	77,7	81,0	4,36	0,089	0,27
Fibra dietética total	32,5 <sup>b</sup>	28,3 <sup>a</sup>	41,6 <sup>c</sup>	43,5 <sup>c</sup>	4,61	<0,001	0,028
FND	26,1	23,6	30,6	31,1	5,81	<0,001	0,37
Fibra soluble	56,1 <sup>b</sup>	48,7 <sup>a</sup>	68,1 <sup>c</sup>	72,8 <sup>c</sup>	7,44	<0,001	0,008

$P_{n-6/n-3} \geq 0,39$  para todas las variables

## EFFECT OF LEVEL OF SOLUBLE FIBRE AND n-6/n-3 RATIO ON ILEAL AND FAECAL DIGESTIBILITY IN GROWING RABBITS

**ABSTRACT:** The aim of this work was to study whether the dietary increase of soluble fibre (SF, substituting sugar beet pulp for straw and wheat bran; 7.8 (LF) vs. 13.0% DM soluble fiber (HF)) and the reduction of n-6/n-3 fatty acid ratio (substituting sunflower oil for linseed oil; 13.4 (Ln-3) vs. 3.5 (Hn-3)) and the eventual relationship between them influence ileal and faecal digestibility. It resulted in four diets (LF\_Ln-3, LF\_Hn-3, HF\_Ln-3, HF\_Hn-3). Fifty two 26 d old rabbits (422±27 g BW) per treatment were slaughtered at 39 d of age and digesta of distal ileum collected and mixed to obtain 9-12 pools of ileal digesta per treatment to determine ileal digestibility (DM, starch, total dietary fibre –TDF). Another 14 rabbits (26 d old and 449±54 g BW) per treatment were used to determine faecal digestibility from 39 to 42 d of age (DM, fat, TDF, NDF and SF). Ileal and faecal mucin was determined to correct total dietary fiber values. Dietary treatments did not modify ileal and faecal DM digestibility (48.7 and 64.2% on average, respectively). The increase of SF improved TDF digestibility ( $P \leq 0.029$ ) at ileal (12.8 vs. 25.3%) and faecal level (29.9 vs. 42.0%), and the faecal NDF and SF digestibility (26.6 vs. 32.9% and 44.2 vs. 63.5%, respectively.  $P < 0.001$ ). The reduction of the n-6/n-3 ratio decreased faecal TDF digestibility in LSF group ( $P \leq 0.028$ ). The ileal flow of crude mucin increased in rabbits fed the high FS diets (32.3 vs. 37.7 g/kg DM intake.  $P = 0.043$ ). The increase of the level of SF tended to improve the ileal digestibility of starch ( $P = 0.064$ ), but saccharidase specific activity only tended to increase in rabbits fed HF\_Ln-3 diet ( $P = \leq 0.068$ ). Faecal digestibility of starch decreased ( $P < 0.001$ ) and that of fat tended also to impair with the increase of SF ( $P = 0.089$ ).

**Keywords:** Soluble fibre, n-6/n-3 ratio, digestibility, rabbits.

## EFECTO DE LA PRE-DIGESTIÓN DEL SUSTRATO SOBRE LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* EN CONEJOS

Ocasio-Vega, C., Abad-Guamán, R., Delgado, R., Carabaño, R., Carro, M.D. y García, J. Dpto. Producción Agraria. ETSI Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid. 28040 Madrid. javier.garcia@upm.es

### INTRODUCCIÓN

Los trabajos de fermentación realizados en conejos empleando la técnica de producción de gas *in vitro* desarrollada por Menke *et al.* (1979) presentan grandes variaciones en lo que se refiere a los inóculos utilizados, el procesado de los sustratos, la relación inóculo/sustrato y los modelos matemáticos de ajuste. En muchos trabajos, los sustratos solo son molidos (Calabrò *et al.*, 1999; Bovera *et al.*, 2006), mientras que en otros se utiliza el residuo insoluble procedente de una pre-digestión *in vitro* donde se simula la digestión del estómago e intestino delgado (Bindelle *et al.*, 2007; Rodríguez-Romero *et al.*, 2011). Sin embargo, al estudiar la fermentación de alimentos fibrosos sería interesante conservar en la muestra la fracción de la fibra que se solubiliza en el intestino delgado (Abad-Guamán *et al.*, 2015). Por otra parte, en conejos se ha observado que el nivel y tipo de fibra de la dieta de los donantes influye sobre la fermentación *in vitro* (Rodríguez-Romero *et al.*, 2011). El presente trabajo compara la fermentación *in vitro* de diferentes sustratos cuando se realiza una pre-digestión o se incuba directamente el sustrato utilizando cecótrofos procedentes de gazapos alimentados con dos niveles de fibra soluble (FS).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 gazapos (neozelandés × californiano), destetados a los 34 días de edad y asignados al azar a dos piensos experimentales que difirieron en el nivel de FS (84,0 vs. 130,0 g/kg de materia seca, obtenidos remplazando paja y salvado por pulpa de remolacha), ambos con un contenido en proteína bruta, fibra neutro detergente y grasa de 16,9, 31,0 y 5,1%, respectivamente. Los gazapos tuvieron acceso *ad libitum* al agua y al pienso y no fueron medicados. A los 41 d de edad (1,13 ± 0,005 kg de peso vivo), a los conejos se les colocó un collar de plástico desde las 9:00 h hasta las 10:00 h (como máximo) para recoger los cecótrofos excretados. Para la realización de la fermentación *in-vitro* se usaron cuatro sustratos fibrosos de características diferentes: celobiosa, pectinas de remolacha, pulpa de remolacha y paja (Tabla 1). De cada sustrato se pesaron 0,250 g, por duplicado, en botellas de vidrio de 115 ml. Antes de la fermentación, los sustratos de la mitad de las botellas se sometieron a una pre-digestión *in-vitro* de dos pasos que simula la digestión en el estómago y en el intestino delgado, según el método propuesto por Abad *et al.* (2013), pero con la variación de que no se realizó una filtración y todo el contenido de las botellas se utilizó como sustrato para la incubación *in vitro*. A los sustratos no pre-digeridos se les añadieron 13.5 ml de solución tampón para igualar el volumen en todas las botellas. Una vez realizada la pre-digestión del sustrato, se guardaron todas las botellas (con si y sin pre-digestión) a una temperatura de 4°C, para detener la degradación de los sustratos. Los cecótrofos se mezclaron con el medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970; sin tripticasa), en proporción de 720 mg de cecótrofos por 100 ml de medio, y se homogeneizó (2 min; Larrea, 2013). Los viales se dosificaron con 25 ml de la mezcla mediante una bomba peristáltica, se cerraron con tapones de goma y se incubaron a 40°C durante 144 h. La producción de gas (PG) se midió a las 2, 3, 4, 6, 8, 11, 15, 20, 25, 30, 35, 47, 59, 71, 95, 120 y 144 h de incubación mediante un transductor de presión y una jeringa graduada, permitiendo la salida del gas tras cada medida. Estos valores se corrigieron con el valor de gas producido en sus respectivos blancos (blancos pre-digeridos y blancos sin pre-digestión). Los datos de producción de gas fueron ajustados a un modelo logístico descrito por Schofield *et al.* (1994):  $PG = Vf / [1 + e^{[2 - 4k(t-L)]}]$ , donde Vf es la producción potencial de gas, k es la tasa fraccional media de producción de gas, L es el retraso inicial en el inicio de la producción de gas y t es el tiempo de medida. Estos parámetros se estimaron utilizando el procedimiento NLIN de SAS. La tasa fraccional máxima de producción de gas ( $\mu_m$ ) y el tiempo en el que  $\mu_m$  es alcanzada ( $t_i$ ) se calcularon como:  $\mu_m = k \times Vf$  y  $t_i = L + (Vf / (2 \times \mu_m))$ , respectivamente (Schofield *et al.*, 1994). Los datos de producción de gas se analizaron utilizando un modelo mixto que incluyó como efectos fijos el efecto pre-digestión (sí o no), el

tipo de pienso (baja o alta FS), el tipo de sustrato y sus interacciones, mientras que el conejo donante (inóculo) se incluyó como un efecto aleatorio. Cuando se detectaron efectos significativos ( $P < 0,05$ ), las medias se compararon mediante un test de Tukey.

**Tabla 1.** Composición química (g/kg de materia seca) de los sustratos utilizados (valores corregidos por sus contenidos en cenizas y proteína)

	Pectinas	Pulpa de remolacha	Paja
Fibra dietética total	934	646	785
Fibra neutro detergente	6,4	369	748
Fibra ácido detergente	1.5	244	425
Lignina ácido detergente	0	9,14	46,5
Fibra soluble	928	278	37,2
Proteína bruta	53,1	86,3	28,0

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La pre-digestión de los sustratos aumentó ( $P \leq 0,029$ ) el volumen de gas producido y la tasa fraccional de producción de gas media y máxima ( $k$  y  $\mu_m$ ) en comparación con la no realización de la digestión previa (Vf: 198 vs. 170 ml/g MS,  $k$ : 0,042 vs. 0,032 %/h y  $\mu_m$ : 9,79 vs. 5,96 ml/h), redujo los valores de  $t_i$  (30,4 vs. 37,2 h), y tendió a reducir el L (13,1 vs. 15,8 h;  $P=0,065$ ). Por otro lado, el nivel de FS del pienso no modificó la producción de gas, y únicamente al utilizar cecótrofos de gazapos que consumieron la dieta baja en FS, aumentaron ( $P \leq 0,003$ ) los valores de  $k$  y  $\mu_m$ , y tendió a disminuir el valor de  $t_i$  ( $P=0,056$ ), lo que difiere de lo observado por Rodríguez-Romero *et al.* (2011). La combinación de predigestión e inóculo procedente de gazapos alimentados con el nivel bajo de FS aumentó  $\mu_m$  ( $P < 0,05$ ), no observándose efectos para el nivel alto de FS ni para el resto de parámetros medidos. El tipo de sustrato afectó a todos los parámetros de la fermentación ( $P < 0,001$ ), si bien las diferencias dependieron de la realización de la predigestión y/o del nivel de FS.

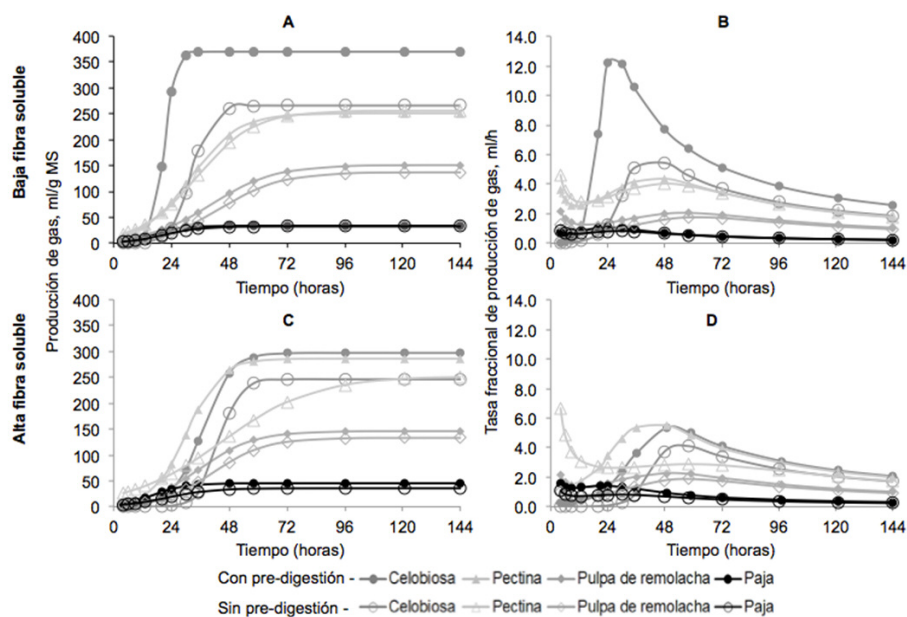
En las Figuras 1A y 1C se muestran las curvas de producción de gas para cada el tipo de inóculo. La celobiosa pre-digerida al fermentarse con el inóculo obtenido de los gazapos alimentados con el pienso bajo en FS presentó la mayor producción de gas en comparación con los demás sustratos (Figuras 1A y 1B). Sin embargo, con el inóculo de los conejos que recibían el pienso alto en FS, la producción de gas tendió a ser más baja y similar a la de las pectinas pre-digeridas. Este efecto podría estar relacionado con algún cambio en la estructura química de la celobiosa tras la digestión *in vitro* que pudiera modificar su utilización por parte de la microbiota. En este sentido, Bobleter *et al.* (1986) observaron que la celobiosa puede hidrolizarse en un ambiente ácido, a un pH entre 2 y 3, que es similar al alcanzado en la primera parte de la pre-digestión realizada en este estudio. Por otra parte, trabajos realizados en ratas, han observado que la celobiosa es digerida a nivel de intestino delgado mediante la acción de la  $\beta$ -galactosidasa (Morita *et al.*, 2008) y la celobiosidasa presente en el intestino de herbívoros (Nakaruma, 2005). Si bien no sería esperable que la pancreatina utilizada en la digestión *in vitro* contuviera estas enzimas, habría que confirmar su ausencia. Por el contrario, las pectinas predigeridas y fermentadas con el inóculo de los gazapos alimentados con el pienso alto en FS presentaron mayores valores de  $k$  y  $\mu_m$  ( $P < 0,05$ ), pero este efecto no se observó con el inóculo obtenido con el pienso bajo en FS. Los efectos observados en la celobiosa y las pectinas indican que llevar a cabo un proceso de pre-digestión modifica la cinética de fermentación de la materia orgánica y que este proceso depende del tipo de microbiota presente en el inóculo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, R., *et al.* 2013. Anim. Feed Sci. 182: 61- 70
- Abad-Guamán, R., *et al.* 2015. J. Anim. Sci. 93: 2860–2871
- Bindelle, J., *et al.* 2007. Anim. Feed Sci. Technol. 132: 111–122
- Bobleter, O., *et al.* 1986. J. Carboh. Chem. 5: 387-399
- Bovera, F., *et al.* 2006. Asian Australas. J. Anim. Sci. 19: 1649–1657
- Calabrò, S., *et al.* 1999. World Rabbit Sci. 7, 197-201
- Goering, H.K. & P.J. Van Soest. 1970. USDA Agricultural Research Service. Agric. Handbook No. 379
- Larrea, J.A. 2013. Trabajo Fin de Máster, UPM
- Menke, K.H., *et al.* 1979. J. Agric. Sci. 93: 217- 222;
- Morita, T., *et al.* 2008. Nutr. 24: 1199–1204
- Nakamura,

S., *et al.* 2005. *Nutr.* 21: 1158–1159 • Rodríguez-Romero, N., *et al.* 2011. *World Rabbit Sci.* 19: 85–94 • Schofield, P., *et al.* 1994. *J. Anim. Sci.* 72: 2980-2991.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2015-66485-R y AGL2011-22628, financiados por el MINECO.



**Figura 1.** Efecto del procesado del sustrato (con o sin pre-digestión) sobre la cinética de producción de gas (figuras A y B) y la tasa fraccional de producción de gas (B y D) de cuatro sustratos incubados con cecótrofos de conejos alimentados con piensos con dos niveles de fibra soluble (baja o alta).

### EFFECT OF SUBSTRATE PRE-DIGESTION ON THE *IN VITRO* FERMENTATION USING SOFT FAECES OF RABBITS AS INOCULUM

**ABSTRACT:** This study evaluated the influence of an *in vitro* pre-digestion of substrate on *in vitro* gas production using soft faeces from rabbits fed two diets as inoculum. Eight hybrid rabbits were fed two diets containing either low (LSF) or high soluble fibre (HSF) level (84.0 vs. 130 g/kg DM). Cellobiose, sugar beet pectin, sugar beet pulp, and wheat straw were used as substrates. Substrates in half of the batch cultures were subjected to an enzymatic pre-digestion procedure before incubation at 40°C, and gas production was measured at different time points from 2 to 144 h. Substrate pre-digestion resulted in greater ( $P \leq 0.029$ ) values of potential gas production ( $V_f$ ) and mean ( $k$ ) and maximum ( $\mu_m$ ) fractional rates of gas production compared with the undigested substrates, but pre-digestion x substrate interactions ( $P < 0.05$ ) were observed for  $V_f$ ,  $L$  (initial delay in the onset of gas production) and  $\mu_m$ . Cellobiose and pectins were the substrates more affected by the pre-digestion and no influence of pre-digestion on gas production was observed for wheat straw. The LSF-inoculum resulted in greater values of  $k$  and  $\mu_m$  compared with the HSF-inoculum, but there were no differences between inocula in  $V_f$  and  $L$  values. The results indicate that a pre-digestion of substrate can modify the kinetics of gas production, but the changes depend on both the incubated substrate and the type of microbiota in the inoculum.

**Keywords:** *in vitro* digestion, *in vitro* gas production, soluble fibre, rabbit.

## EFECTO DE LA PRE-DIGESTIÓN DEL SUSTRATO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES *IN VITRO* UTILIZANDO CECÓTROFOS DE CONEJOS

Ocasio-Vega, C., Abad-Guamán, R., Delgado, R., Carabaño, R., García, J. y Carro, M.D.  
Dpto. Producción Agraria. ETSI Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad  
Politécnica de Madrid. 28040 Madrid  
mariadolores.carro@upm.es

### INTRODUCCIÓN

En la técnica de producción de gas *in vitro*, la cantidad de gas producida está muy relacionada con la producción de ácidos grasos volátiles (AGV; Beuvink y Spoelstra, 1992). La aplicación de esta técnica *in vitro* al estudio de la fermentación cecal en el conejo aún no está estandarizada y no se ha establecido claramente el tipo de inóculo que se debe utilizar, el procesado de los sustratos o el ratio inóculo/sustrato. En el ciego del conejo, el nivel y el tipo de fibra influyen sobre la cantidad de AGV producidos y sus proporciones molares (García *et al.*, 2002). Sin embargo, es necesario realizar modificaciones importantes en el nivel y tipo de fibra para observar cambios relevantes en la concentración cecal de AGV *in vivo* (García *et al.*, 2000), debido a que ésta es un reflejo del balance existente entre la producción y la absorción (Vernay, 1975). Por este motivo, la técnica de fermentación *in vitro* podría ser útil para el estudio de los cambios cualitativos que produce el tipo de alimento sobre la cantidad y perfil de AGV producidos. Para evaluar *in vitro* la fermentación cecal, es importante considerar que hay una parte de la fibra que se solubiliza a nivel ileal. Este trabajo evalúa cómo se ve afectada la producción de AGV *in vitro* al realizar una pre-digestión de los sustratos, usando como inóculo cecótrofos de gazapos alimentados con dos niveles de fibra soluble (FS).

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 gazapos (neozelandés × californiano) destetados a los 34 días de edad, que fueron asignados al azar a dos piensos experimentales que diferían en el nivel de fibra soluble (84,0 vs. 130,0 g/kg de materia seca, obtenidos reemplazando paja y salvado por pulpa de remolacha) y contenían 16,9% proteína bruta, 31,0% fibra neutro detergente y 5,1% grasa. A los 41 días de edad ( $1,13 \pm 0,005$  kg de peso vivo) a los conejos se les colocó un collar de plástico desde las 9:00 h hasta las 10:00 h (como máximo) para recoger los cecótrofos excretados. Para las incubaciones *in vitro* se usaron cuatro sustratos fibrosos de características diferentes: celobiosa, pectinas de remolacha, pulpa de remolacha y paja. La composición de los sustratos y la metodología de las incubaciones se describe en detalle en Ocasio-Vega *et al.* (2017). Brevemente, se usaron viales de vidrio de 115 ml en los que se pesaron 0,250 g de cada sustrato por duplicado. La mitad de los viales se sometieron a una pre-digestión *in vitro* que simula la digestión en el estómago y el intestino delgado (Abad *et al.*, 2013) y se incluyeron viales sin sustrato (blancos), la mitad de los cuales fueron procesados de la misma forma. Los cecótrofos se mezclaron con un medio de cultivo (Goering y Van Soest, 1970; sin tripticasa), en proporción 720 mg de cecótrofos por 100 ml de medio, y se homogeneizó la mezcla antes de dosificar 25 ml en cada vial. Los viales se cerraron y se incubaron a 40°C durante 144 h para determinar la cinética de producción de gas, cuyos resultados han sido descritos por Ocasio-Vega *et al.* (2017). A las 25 h, se tomó 1 ml de muestra del contenido de cada vial utilizando una jeringa de insulina, se acidificó (20  $\mu$ l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10%; vol/vol) y se congeló a -20°C hasta el análisis de su concentración en AGV por cromatografía de gases según Carro *et al.* (1992).

Las concentraciones de AGV se analizaron utilizando un modelo mixto que incluyó como efectos fijos la pre-digestión, el tipo de pienso, el sustrato y sus posibles interacciones, mientras que el conejo donante (inóculo) se incluyó como efecto aleatorio. Cuando se detectaron efectos significativos ( $P < 0,05$ ), las medias se compararon mediante un test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción total de AGV en los blancos pre-digeridos fue mayor ( $P < 0,001$ ) que en los blancos no pre-digeridos (6,53 vs. 5,31 mM). Los blancos pre-digeridos mostraron menores ( $P = 0,004$ ) proporciones de acetato (91,1 vs. 97,5%) y mayores ( $P \leq 0,02$ ) de butirato e isovalerato (3,39 vs. 0,99% y 3,82 vs. 0,86, respectivamente). Sin embargo, la dieta de los conejos donantes no afectó ( $P > 0,05$ ) a la producción de AGV en los blancos ni a las proporciones molares de los principales AGV. Las diferencias observadas entre los blancos pre-digeridos y sin pre-digerir se atribuyeron a la fermentación de las enzimas añadidas en la pre-digestión, por lo que las concentraciones de AGV en los viales con muestra se corrigieron con el valor de los respectivos blancos (pre-digeridos y sin pre-digerir).

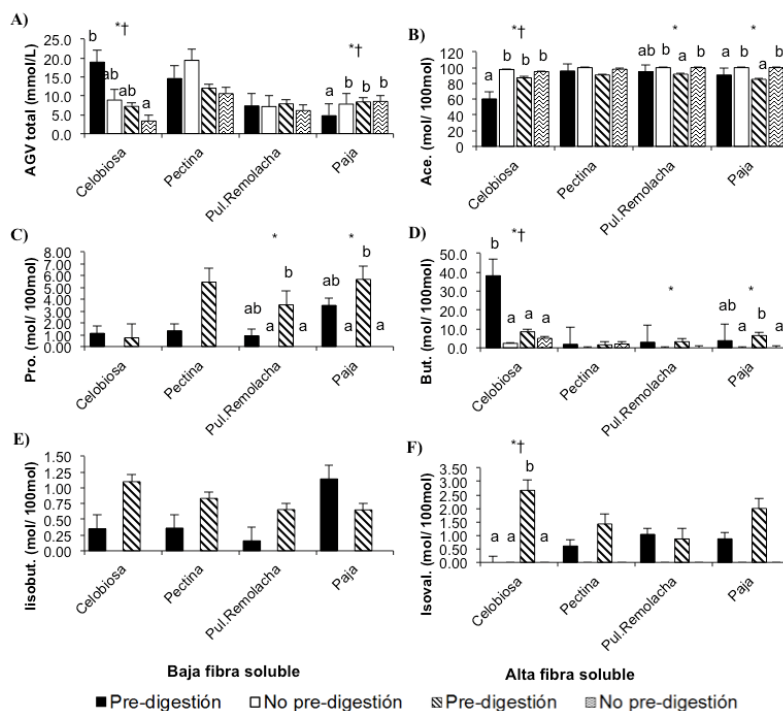
La pre-digestión no afectó a la producción total de AGV (10,2 vs. 8,99 mM en los viales pre-digeridos y no pre-digeridos, respectivamente), pero modificó el perfil de AGV. Cuando se realizó la pre-digestión la proporción molar de acetato disminuyó ( $P < 0,001$ ; 98,8 vs. 87,1%), mientras que las proporciones de propionato, butirato, isobutirato e isovalerato aumentaron ( $P \leq 0,006$ ) respecto a los viales no pre-digeridos. Los resultados indican que el tratamiento enzimático (pepsina-pancreatina) usado en la pre-digestión podría modificar la estructura química de los sustratos y cambiar su aprovechamiento por la microbiota intestinal. Curiosamente, el inóculo procedente de conejos alimentados con el pienso bajo en FS, y por ello con menor contenido en fibra fermentable (Delgado *et al.*, 2015), produjo mayor cantidad de AGV (11,1 vs. 8,0 mM;  $P = 0,013$ ), aumentó la proporción de butirato ( $P = 0,046$ ) y tendió a bajar la proporción de propionato e isovalerato ( $P \leq 0,073$ ), en comparación con el inóculo de los conejos que consumieron el pienso alto en FS. Sin embargo, la interpretación de estos resultados es compleja, ya que existieron interacciones ( $P < 0,05$ ) pre-digestión x sustrato y tipo de dieta x sustrato para la producción de AGV y las proporciones molares de acetato y butirato, debidas principalmente al comportamiento de la celobiosa. En la Figura 1 se observa que parte de los efectos anteriormente comentados se deben a la tendencia a producir más AGV cuando se fermentó la celobiosa con el inóculo de gazapos alimentados con el pienso bajo en FS ( $P = 0,13$ ). Esta misma tendencia también se observó con el inóculo obtenido con el pienso alto en FS, si bien la cantidad de AGV producida se redujo a la mitad con respecto al inóculo con alto nivel de FS. Esto sugiere la existencia de perfiles microbianos distintos en función del tipo de pienso suministrado, como ha sido previamente observado por Delgado *et al.* (2015) utilizando los mismos piensos. Por el contrario, la paja predigerida con el inóculo obtenido con baja FS produjo menos cantidad de AGV ( $P < 0,05$ ), no observándose efecto con las pectinas, ni con la pulpa de remolacha. Además, la combinación de la predigestión de la celobiosa con el inóculo procedente del pienso con baja FS, produjo un cambio drástico en el perfil de AGV, ya que aumentó la proporción de butirato a costa de la de acetato ( $P < 0,05$ ). El perfil de AGV obtenido a partir de pulpa de remolacha y de la paja también fue modificado por la pre-digestión, si bien en menor medida que con la celobiosa. En ambos casos, también se redujo el acetato producido, observándose un incremento en el butirato.

Estos resultados indican que el tratamiento de los sustratos con pepsina-pancreatina previo a su fermentación *in vitro* con cecótrofos altera la cantidad y/o tipo de sustratos fermentables por los microorganismos cecales, afectando al perfil de AGV producidos. Sin embargo, el nivel de fibra soluble en el pienso únicamente afectó a la producción de AGV cuando se incubó celobiosa.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, R., *et al.* 2013. Anim. Feed Sci. 182: 61- 70
- Beuvink, J.M.W. & Spoelstra, S.F. 1992. Appl Microbiol Biotechnol 37: 505.
- Carro, M.D., *et al.* 1992. Anim. Feed Sci. Technol. 37: 209-220.
- Delgado, R., *et al.* 2015. World Rabbit Sci. 23:131.
- García, J., *et al.* 2000. J. Anim. Sci. 78, 638-646.
- García, J., *et al.* 2002. Anim. Res. 51: 165–173.
- Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. USDA Agricultural Research Service. Agric. Handbook No. 379
- Ocasio-Vega, C., *et al.* 2017. AIDA XVII Jornadas sobre producción animal.
- Vernay, M., *et al.* 1975. Ann Rech Vet. 6: 369-77.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2015-66485-R y AGL2011-22628, financiados por el MINECO.



**Figura 1.** Influencia de la pre-digestión y la dieta de los conejos donantes (Baja o Alta fibra soluble) en la producción total de ácidos grasos volátiles (AGV) y sus proporciones molares en la fermentación cecal *in vitro* de celobiososa, pectina, pulpa de remolacha y paja ( $n = 4$ )

a, b: dentro de cada sustrato, indica diferencias entre columnas ( $P < 0,05$ ).

En cada sustrato, \* indica efecto de la pre-digestión y † indica efecto del inoculo ( $P < 0,05$ ).

### EFFECT OF SUBSTRATE PRE-DIGESTION ON THE *IN VITRO* VOLATILE FATTY ACIDS PRODUCTION USING SOFT FAECES OF RABBITS

**ABSTRACT.** The influence of substrate pre-digestion and donors' diet on *in vitro* volatile fatty acid (VFA) production by rabbits' soft faeces was investigated. Eight hybrids rabbits were assigned to two diets containing low (LSF) or high soluble fibre (HSF) levels (84.0 vs. 130 g/kg DM). Cellobiose, sugar beet pulp, sugar beet pectin and wheat straw were used as substrates. Substrates in half of the cultures were subjected to an *in vitro* enzymatic pre-digestion procedure before incubation at 40°C. VFA production was determined at 25 h incubation in all cultures and values were corrected with their corresponding blanks (with or without pre-digestion). Pre-digested cultures showed greater ( $P < 0.05$ ) proportions of butyrate and lower ( $P < 0.001$ ) acetate proportions, but total VFA production was unaffected ( $P = 0.34$ ). The LSF-inoculum increased ( $P < 0.05$ ) VFA production and butyrate proportions. Pre-digestion  $\times$  substrate and donors' diet  $\times$  substrate interactions ( $P < 0.05$ ) were observed for VFA production and the proportions of acetate and butyrate, being the cellobiose the most affected substrate by the pre-digestion and donors' diet. The results indicate that both the pre-digestion process and donor' diet can influence *in vitro* VFA production in rabbits, but the effects varied with the incubated substrate.

**Keywords:** *in vitro* digestion, *in vitro* caecal fermentation, volatile fatty acids, rabbit.

## EFFECTO DEL TRATAMIENTO TECNOLÓGICO SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DEL SALVADO DE ARROZ EN POLLOS DE ENGORDE

Contreras-Jodar<sup>1,2</sup>, A., Francesch<sup>3</sup>, M. y Álvarez<sup>1</sup>, L.

<sup>1</sup> Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, Castelldefels, España. chamarita1@yahoo.es

<sup>2</sup> Grup de Recerca en Remugants (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España.

<sup>3</sup> Nutrició de Monogàstrics, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Constantí, España

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se está realizando un gran esfuerzo en encontrar posibilidades en el uso de deshechos agrícolas, de origen animal e industrial, en la nutrición de pollos. Encontrar subproductos aptos para alimentación podría reducir el uso de ingredientes convencionales como el maíz y la soja ayudando a reducir problemas ambientales y disminuir los costes de alimentación. El arroz es el segundo cereal más producido en el mundo. La estructura del grano está recubierta por distintas capas envolventes y juntas forman lo que se denomina salvado de arroz. En el proceso industrial, durante el proceso de molinería, el salvado se separa y suele ser desechado. En el presente estudio se propone el uso de salvado de arroz para alimentación animal por su alto contenido en grasa poliinsaturada (4% de ácido linoleico) y por su cantidad de proteína y perfil de aminoácidos, superior al de otros granos de cereales (Warren y Farrell, 1990). La problemática de su uso en alimentación animal son la presencia de lipasas, que provocan el enranciamiento de los ácidos grasos, fitatos e inhibidores enzimáticos (Orthofer, 2005), así como la inestabilidad durante el almacenado debido a su alto contenido lipídico y oxidación. Por ello, el objetivo del presente estudio es evaluar el valor nutritivo del salvado de arroz bajo diferentes tipos de tratamientos tecnológicos que inactiven las lipasas y los factores antinutritivos para darle uso en alimentación en pollos de engorde.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente estudio se utilizaron 600 broilers macho de 1 día de edad y estirpe comercial Ross 308 y se alojaron en las instalaciones de IRTA Mas de Bover (Constantí, Tarragona) en junio de 2009. El diseño experimental fue de bloques al azar y los animales fueron distribuidos en 4 tratamientos experimentales que diferían en el tratamiento tecnológico del salvado de arroz, más un tratamiento control con salvado de arroz fresco, recién obtenido. Se realizaron 6 réplicas por tratamiento y 25 animales en cada réplica.

Los tratamientos experimentales fueron: **T1:** Control / Salvado de arroz comercial fresco, **T2:** Salvado de arroz sin tratar (no fresco y con al menos un mes de almacenamiento), **T3:** Salvado de arroz extrusionado y **T4:** Salvado de arroz cocido. El pienso de crecimiento (1-21 días de edad) tuvo una inclusión del 15% de salvado de arroz y el pienso de acabado (22-38 días de edad) un 20%. La composición de las raciones experimentales y la composición nutricional se resumen en la Tabla 1. Se anotó el peso vivo (PV), el consumo de pienso y el índice de mortalidad a los 21 y 38 días de cada lote. Además, se calculó la ganancia media diaria (GMD) y el índice de conversión (IC).

Los resultados de las variables PV, consumo medio diario de pienso (CMD), GMD e IC se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) usando el programa R versión 3.2.3 para cada dieta e intervalo de tiempo (1-21 días y 21-38 días de edad) utilizando cada lote como unidad experimental. Se aplicó el test de Tukey para comparar medias entre tratamientos con un intervalo de confianza del 95%.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis de varianza entre las variables analizadas se muestran en la Tabla 2. En el primer período experimental (1 a 21 días de edad), las medias de PV y de la GMD mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), sugiriendo una superioridad del PV en los animales alimentados con el T3 respecto al resto de los tratamientos. Por otro lado, los animales del T3 ofrecieron un mayor consumo que los del T1



( $p < 0,05$ ) y similar a los del T2 y T3, dando como resultado un índice de conversión similar a T2 y T4 pero peor que T1 ( $p < 0,05$ ).

En el segundo período no se observaron diferencias significativas en el PV a los 38 días, ni en la GMD entre tratamientos. Sólo una tendencia ( $p < 0,10$ ) a un mayor crecimiento de los pollos alimentados con el T3. Por el contrario, se observó un mayor consumo diario de pienso en el T4 ( $p < 0,05$ ), sin representar por ello mejores IC. La ausencia de cambios relevantes entre tratamientos en este período podría explicarse debido a que a partir de los 18 días de vida del animal, existe una mayor capacidad de sobrellevar los inhibidores de crecimiento del salvado de arroz en crudo (Sayre et al., 1987), ofreciendo resultados similares entre tratamientos.

Los resultados parecen indicar que el extrusionado es la mejor opción para estabilizar el salvado de arroz y ofrece mejores rendimientos productivos que el salvado cocido o el crudo en pollos de engorde. Se presume que sería causado por la inactivación de los factores antinutritivos, especialmente los fitatos, así como por la disminución o destrucción de la carga por micotoxinas del salvado de arroz. Los fitatos conducen a una baja digestibilidad aparente de los aminoácidos del salvado en aves jóvenes (Warren y Farrell, 1991) por lo que, al estabilizar el salvado de arroz, se aumenta la digestibilidad de la proteína. Además, el tratamiento tecnológico del salvado inactiva las enzimas lipasas y lipoxigenasas del salvado de arroz. De este modo, las cadenas de ácidos grasos que contiene el salvado no se rompen, y pueden ser absorbidas por el aparato digestivo del animal aportando mayor energía metabolizable.

**Tabla 1.** Composición de la dieta basal (en % de producto fresco).

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>Inicio (0-21 días)</b>	<b>Crecimiento (21-38 días)</b>
Maíz	40,2	36,0
Salvado de arroz	15,0	20,0
Soja 48% PB	23,9	20,8
Soja extrusionada	14,2	15,0
Grasa 3/5	2,5	4,8
Carbonato de calcio	1,08	0,98
Fosfato bicálcico	1,70	1,28
Cloruro de sodio	0,37	0,31
DL-metionina	0,29	0,26
L-lisina HCl	0,25	0,19
L-treonina	0,08	0,07
Cloruro de Colina 50%	0,04	-
Corrector vitamínico-mineral <sup>(1)</sup>	0,40	0,40
<b>Nutrientes</b>		
EMA (kcal/kg)	3000	3150
Proteína bruta (%)	22,0	21,1
Fibra bruta (%)	3,7	3,9
Grasa bruta (%)	9,7	12,6
Lisina total (%)	1,25	1,15

(1) Corrector vitamínico-mineral por kg de pienso: Vitamina A: 12000 UI; Vitamina D<sub>3</sub>: 2400 UI; Vitamina E: 30 mg; Vitamina K<sub>3</sub>: 3mg; Vitamina B<sub>1</sub>: 2,2 mg; Vitamina B<sub>2</sub>: 8 mg; Vitamina B<sub>6</sub>: 5 mg; Vitamina B<sub>12</sub>: 11 mg; Ácido fólico: 1,5 mg; Biotina: 150 µg; Pantotenato cálcico: 25 mg; Ácido nicotínico: 65 mg; Manganeso: 60 mg; Zinc: 40 mg; Yodo: 0,33 mg; Hierro: 80 mg; Cobre: 8 mg; Selenio: 0,15 mg; Etoxiquin: 150 mg.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Mujahid, A., Haq, I., Asif, M. & Gilani, A.H. 2004. J. Poult. Sci. 41:38-49.
- Orthofer, F.T. 2005. Rice Bran Oil. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 465-487.
- Sayre, R.N., Earl, L., Kratzer, F.H. & Saunders, R.M. 1987. Poultry. Sci., 66: 493-499.
- Warren, B.E. & Farrell, D.J. 1990. Anim. Feed Sci. Technol. 27:219-228.
- Warren, B.E. & Farrell, D.J. 1991. Anim. Feed Sci. Technol. 34: 323-342.

**Agradecimientos:** A la Càmera Arrossera del Montsià, SCCL (Amposta, Tarragona) por crear en el proyecto, financiar el estudio y proporcionar el salvado de arroz.

**Tabla 2.** *Peso vivo (PV), ganancia media diaria (GMD), consumo medio diario (CMD) e índice de conversión (IC) de broilers alimentados con un 15% de salvado de arroz hasta 21 días de edad y un 20% de 22 a 28 días de edad.*

1-21 días	Tratamiento					p-valor
	T1	T2	T3	T4	ES	
PV (kg)	950 <sup>a</sup>	948 <sup>a</sup>	976 <sup>b</sup>	958 <sup>ab</sup>	9	0,042
GMD (g)	43,3 <sup>a</sup>	43,2 <sup>a</sup>	44,5 <sup>b</sup>	43,7 <sup>ab</sup>	0,4	0,041
CMD (g)	53,4 <sup>a</sup>	54,9 <sup>b</sup>	56,0 <sup>b</sup>	54,5 <sup>ab</sup>	0,4	0,0001
IC	1,24 <sup>a</sup>	1,27 <sup>b</sup>	1,26 <sup>ab</sup>	1,25 <sup>ab</sup>	0,01	0,003
22-28 días						
PV (kg)	2,286	2,300	2,397	2,378	31	0,075
GMD (g)	78,6	79,5	83,6	83,5	2	0,124
CMD (g)	155 <sup>a</sup>	154 <sup>a</sup>	161 <sup>ab</sup>	164 <sup>b</sup>	3	0,008
IC	1,97	1,93	1,93	1,96	0,05	0,825

Siendo T1: Control / Salvado de arroz comercial fresco. T2: Salvado de arroz sin tratar (no fresco y con al menos un mes de almacenamiento). T3: Salvado de arroz extrusionado. T4: Salvado de arroz cocido.

NOTA: Superíndices diferentes por variables entre tratamientos representan una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

## EFFECT OF THE TECHNOLOGICAL TREATMENT ON THE NUTRITIVE VALUE OF RICE BRAN IN BROILER CHICKENS

**ABSTRACT:** Rice bran is a by-product of the rice industry often discarded for its scarce known commercial value. Although rice bran has a high protein and fat content, it is not commonly used as a feed ingredient due to several antinutritive factors, the presence of lipases that leads to a hydrolytic and oxidative rancidity development, phytates and enzymatic inhibitors. Our objective was to evaluate two technological treatments to inactivate the antinutritive factors of the rice bran and their related broiler performance. A total of 600 Ross 308 male chicks were randomly distributed to 4 experimental diets for 38 days. Diets were: T1) raw rice bran; T2) 1 month stored raw rice bran; T3) extruded rice bran; T4) boiled rice bran. Results revealed that broilers fed T3 had greater body weight and feed consumption under 15% of rice bran inclusion until 21d old suggesting that extrusion gives greater stabilization to the bran. From 21 to 38 d old no relevant differences were observed among dietary treatments.

**Keywords:** rice bran, broiler, extrusion, boiling.

## LECITINA DE SOJA COMO FUENTE DE ENERGÍA EN LA ALIMENTACIÓN DE POLLOS DE CARNE

Vinado, A., Castillejos, L. y Barroeta, A.C.  
Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, UAB, 08193 Bellaterra, España.  
Alberto.Vinado@uab.cat

### INTRODUCCIÓN

Existe un gran interés por parte del sector avícola en disponer de nuevas fuentes de grasa que les permitan reducir los costes de alimentación, siempre y cuando se mantenga la eficiencia productiva.

La lecitina de soja cruda es un subproducto de la refinación del aceite de soja que se obtiene durante el proceso de desgomado. Se trata de una mezcla formada, mayoritariamente por aceite de soja crudo y diversas clases de fosfolípidos (van Nieuwenhuyzen y Tomás, 2008). Por lo tanto, las lecitinas son una fuente de ácidos grasos (AG) con un comportamiento anfipático, ya que presentan compuestos formados por una cola hidrófoba de dos ácidos grasos y una cabeza hidrófila formada por un grupo fosfato, lo que les confiere la capacidad de emulsionar (Liu y Ma, 2011). Por ello, pueden jugar un papel importante en el tracto gastrointestinal de las aves, ayudando en la formación y estabilización de las micelas, facilitando la acción de la enzima lipasa pancreática y, por lo tanto, mejorando la eficiencia de hidrólisis y absorción de los lípidos ingeridos (Ravindran, 2016). El objetivo de este estudio fue evaluar la incorporación de una fuente de lecitina de soja cruda, en sustitución del aceite de soja, como fuente de energía en la fase de crecimiento de los pollos de carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se prepararon 4 dietas experimentales, isoenergéticas e isoproteicas, para cada una de las dos fases del estudio: 1ª edad (0-21 d) y 2ª edad (21-38 d). En la Tabla 1 se presenta el nivel de inclusión de las fuentes de grasa, así como el análisis proximal de los piensos experimentales de segunda edad. Todos los piensos se presentaron en forma de harina. Las 4 dietas experimentales se diseñaron en base a la sustitución progresiva del aceite de soja (L0: 3% aceite de soja) por una fuente de lecitina de soja cruda (L1, L2 ó L3; 1, 2 ó 3 %, respectivamente, de *Nobacithin-50*: combinación de lecitina de soja cruda con aceites ácidos vegetales).

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del *Servei de Granges i Camps Experimentals* de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) y fue aprobado por el Comité de Ética de la misma institución. Se utilizaron 120 pollos hembra Ross 308 de 1 día de edad que se distribuyeron al azar en 30 jaulas metabólicas (0,36 m<sup>2</sup>) y se asignaron a uno de los 4 tratamientos, a razón de 6 réplicas por tratamiento, a excepción del grupo control (L0), con 12 réplicas.

Durante todo el ensayo (0 a 38 días de edad) se registró el peso vivo (PV) y el consumo de alimento de los animales para calcular los parámetros productivos (GMD: ganancia media diaria; CMD: consumo medio diario; I/T: índice de transformación). Durante los días 36 y 37 de edad, se realizó un balance de digestibilidad utilizando dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) como marcador inerte al 0,5%. Diariamente, se procedió a la recolección de las excretas que se conservaron a -20C° hasta su liofilización; posteriormente, fueron molidas y almacenadas a 5°C hasta su posterior análisis. Se determinó la materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB) y extracto etéreo (EE) de los piensos mediante el método Weende (AOAC, 2005). Tanto en pienso como en excretas se analizó la energía bruta (EB) mediante bomba adiabática y el contenido de TiO<sub>2</sub> mediante espectrometría ICP-OES en el *Servei d'Anàlisi Química* de la UAB. El perfil de AG de los distintos piensos experimentales y de las excretas se determinó mediante el método modificado de Surkhija & Palmquist (1988). La digestibilidad aparente de los AG se calculó mediante la siguiente fórmula:

Digestibilidad de los AG =  $1 - \left\{ \frac{(Ti/AG)_{dieta}}{(Ti/AG)_{heces}} \right\}$

La jaula se consideró como unidad experimental tanto para los rendimientos productivos como para los coeficientes de utilización de los AG y la energía metabolizable aparente (EMA) de las dietas. Los datos numéricos obtenidos han sido sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía mediante el programa Estadístico R Versión 3.2.3. En caso de existir diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0,05$ ) se realizaron comparaciones múltiples de las medias utilizando la corrección de Tukey del mismo paquete estadístico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2, se presentan los resultados de los parámetros productivos globales (0-38 días) y del balance de digestibilidad (36-37 días de edad). En la misma tabla se encuentran los valores de EMA y los coeficientes de utilización de los AG totales (AGT), AG saturados (AGS), AG mono-insaturados (MUFA) y AG poli-insaturados (PUFA) obtenidos para cada pienso experimental.

En relación a los resultados productivos, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa, entre los distintos tratamientos experimentales para ninguno de los parámetros productivos estudiados.

En cuanto a los resultados del balance de digestibilidad, el pienso experimental L3 presentó el valor EMA más bajo, en comparación a los demás piensos experimentales ( $P=0,03$ ). Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios, donde la sustitución del aceite de soja por lecitina de soja en hasta un 2% de la fórmula, no produjo diferencias significativas en los valores de EMA del pienso (Huang *et al.*, 2007). En el caso del grado de utilización de AG, no se observaron diferencias significativas en el % de digestibilidad de los AGS entre el grupo control y ninguno de los tratamientos con incorporación de una fuente de lecitina de soja cruda en el pienso como sustitutivo del aceite de soja. En cuanto a la digestibilidad de los AGT, MUFA y PUFA, no se observaron diferencias significativas entre el tratamiento control y los tratamientos que incorporaban un 1 o 2 % de aceite de soja, sin embargo, se observaron peores niveles de absorción aparente, de forma estadísticamente significativa, para el tratamiento L3, es decir con la sustitución total del aceite de soja por la fuente de lecitina de soja.

En conclusión, esta fuente de lecitina de soja cruda puede sustituir parcialmente al aceite de soja (1-2%) como fuente de energía en los piensos de crecimiento-acabado de pollos de carne.

**Tabla 1.** Porcentajes de inclusión de las grasas añadidas y composición de las dietas experimentales.

Tratamientos <sup>1</sup>	L0	L1	L2	L3
<b>Grasa añadida (%):</b>				
Aceite de soja	3,00	2,00	1,00	0,00
Aceite de palma	1,50	1,50	1,50	1,50
Fuente de lecitina de soja cruda	0,00	1,00	2,00	3,00
<b>Composición (analizada) (%):</b>				
Materia seca	90,74	90,24	90,68	90,25
Materia orgánica	91,20	91,47	91,78	91,13
Proteína bruta	21,65	20,76	21,42	20,73
Extracto etéreo	6,28	6,03	5,82	5,75
Fibra bruta	4,89	3,75	4,86	3,80
Energía bruta (Kcal/Kg)	4169	4160	4162	4117

<sup>1</sup>L0: Tratamiento control: 3% de aceite de soja; L1: 2% de aceite de soja y 1% de Nobacithin-50; L2: 1% de aceite de soja y 2% de Nobacithin-50; L3: 3% de Nobacithin-50.

**Tabla 2.** Parámetros productivos globales (0-38 d), energía metabolizable aparente (EMA) y % de digestibilidad de ácidos grasos (AG) de los piensos experimentales (36-37 días).

Variable <sup>1</sup>	Tratamientos <sup>2</sup>				RSE <sup>3</sup>	P-valor
	L0	L1	L2	L3		
Peso vivo (g)	2.422	2.461	2.500	2.428	182,5	0,50
CMD (g/ave/d)	104,4	107,8	105,3	105,9	5,62	0,72
GMD (g/ave/d)	62,3	61,8	63,9	62,2	3,48	0,71
I/T (g/g)	1,67	1,71	1,68	1,70	0,05	0,35
EMA (Kcal/Kg)	3.310	3.356 <sup>a</sup>	3.402 <sup>a</sup>	3.124 <sup>b</sup>	120,70	0,03
AG totales (%)	84,0 <sup>a</sup>	83,0 <sup>ab</sup>	83,0 <sup>ab</sup>	79,0 <sup>b</sup>	2,79	0,01
AG saturados (%)	79,7	80,9	81,4	79,0	3,08	0,50
AG monoinsaturados (%)	86,2 <sup>a</sup>	85,3 <sup>ab</sup>	85,4 <sup>a</sup>	81,7 <sup>b</sup>	2,21	0,004
AG poliinsaturados (%)	85,0 <sup>a</sup>	82,8 <sup>ab</sup>	82,7 <sup>ab</sup>	77,7 <sup>b</sup>	3,24	0,001

<sup>1</sup> GMD: ganancia media diaria; CMD: consumo medio diario; I/T: índice de transformación.

<sup>2</sup> L0: Tratamiento control: 3% de aceite de soja; L1: 2% de aceite de soja y 1% Nobacithin-50; L2: 1% de aceite de soja y 2% de Nobacithin-50; L3: 3% de Nobacithin-50.

<sup>3</sup> Error residual estándar.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD
- Huang, J., Yang, D., Wang, T., 2007. Effects of replacing soy-oil with soy-lecithin on growth performance, nutrient utilization and serum parameters of broilers fed corn-based diets. Asian Aust. J. Anim. 20, 1880–1886
- Liu, D., and F. Ma. 2011. Soybean phospholipids. Pages 483– 500 in Recent Trends for Enhancing the Diversity and Quality of Soybean Products. D. Krezhova, ed. Intech, Rijeka, Croatia.
- Ravindran, V. *et al.* 2016. Fats in poultry nutrition: Digestive physiology and factors influencing their utilisation. J ani feed sci, Volume 213, 1 - 21
- Surkhija PS., Palmquist DL. 1988. Rapid method of determination of total fatty acids content and composition of feedstuff and faeces. J Agri Food Chem. 36:1202-1206
- Van Nieuwenhuyzen, W., and M. C. Tomás. 2008. Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 110: 472–486.

## CRUDE SOYBEAN LECITHIN AS A SOYBEAN OIL REPLACER IN BROILER CHICKENS

**ABSTRACT:** The aim of this experiment was to study the use of crude soybean lecithin (SBL), in replacement of soybean oil (SBO), as energy source in dietary broiler chickens. A total of 120 Ross-308 one-day-old female broilers were randomly distributed in 30 digestibility cages and assigned to four experimental treatments. A basal diet was supplemented with SBO at 3% (L0, 12 replicates) and increasing amounts of a source of SBL (*Nobacithin-50*) were added in replacement of SBO: 1% (L1), 2% (L2) and 3% (L3) with 6 replicates per treatment. A 38-day growing period was conducted and a nutritional balance was performed between 36-37 d of age (growing-finishing period). Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) was used as an indigestible marker, at 0.5%. The inclusion of three levels of a source of crude SBL in replacement of soybean oil did not modify performance results. AME of L3 diet was significantly lower compared to the rest of treatments (P=0.03). Animals fed lecithin low (1%) and medium (2%) supplemented diets showed similar percentage of digestibility of Total FA, saturated FA, MUFA and PUFA than those fed L0 diet. In conclusion, this source of SBL can partially replace SBO (1-2%) as an energy source in growing-finishing broiler diets.

**Keywords:** soybean oil, lecithin, fatty acids, EMA.

## **SUPLEMENTACIÓN CON LACTOSUERO EN POLVO Y CONCENTRADO PROTÉICO DE LACTOSUERO EN DIETAS DE POLLOS DE ENGORDE: EFECTO SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA CECAL**

Pineda-Quiroga<sup>1</sup>, C., Camarinha-Silva<sup>2</sup>, A., Borda-Molina<sup>2</sup>, D., Atxaerandio<sup>1</sup>, R., García-Rodríguez<sup>1</sup>, A. y Ruiz<sup>1</sup>, R.

<sup>1</sup>Neiker-Tecnalia, Departamento de Producción Animal, Granja Modelo de Arkaute, 46, 01080 Vitoria-Gasteiz, España. cpineda@neiker.eus

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Animales, Universidad de Hohenheim, Stuttgart, Alemania.

### **INTRODUCCIÓN**

El lactosuero es un subproducto de la industria quesera que generalmente se gestiona como un producto de desecho. Su valorización como materia prima en nutrición animal podría ser una alternativa factible que contribuyera a optimizar la gestión. El lactosuero posee un alto contenido de lactosa (aprox 70% de la materia seca) que resulta indigestible en aves debido a su carencia de secretar lactasa (Alloui *et al.*, 2013), pudiendo emplearse como prebiótico. Por su parte, el concentrado proteico procedente del lactosuero es otro subproducto compuesto por proteínas biológicamente activas con alto valor nutricional, y que además es considerado como una excelente fuente de aminoácidos para la nutrición de aves jóvenes (Szczyrek *et al.*, 2013). Teniendo en cuenta que el uso de azúcares fermentables no digestibles en nutrición animal es considerado como una alternativa prometedora para mejorar la productividad y la salud animal (Huyghebaert *et al.*, 2011), y que el concentrado proteico de lactosuero puede suplementarse como ingrediente biológicamente activo que favorece el rendimiento productivo, el objetivo de este estudio fue evaluar el uso de estos dos subproductos en la alimentación de broilers y determinar su efecto en el rendimiento productivo y la composición de la microbiota cecal.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

En el presente ensayo se utilizaron un total de 810 pollos machos de la línea Ross 308 de un día de vida. Se evaluaron 3 tratamientos, cada uno con 9 réplicas de 30 pollos, durante 42 días. A cada grupo experimental se le asignó una de las siguientes dietas experimentales: dieta control; dieta con una inclusión de 6% de lactosuero en polvo (6-L); y dieta con una inclusión de 8% de concentrado proteico de lactosuero (8-P). El lactosuero empleado estuvo compuesto por una mezcla de suero dulce con un contenido medio de lactosa de 70,3% sobre materia seca. El concentrado proteico de lactosuero presentó un contenido medio de proteína bruta del 35%. Las dietas experimentales tuvieron como base maíz y torta de soja, y fueron formuladas para reunir los requerimientos nutricionales establecidos para pollos de engorde por FEDNA (2008). De igual manera, las dietas con lactosuero en polvo y concentrado proteico de lactosuero aportaron la misma cantidad de lactosa (4,2% sobre materia seca). El alimento se ofreció *ad libitum*. Los pollos y los comederos se pesaron semanalmente por recinto con el fin de calcular el peso vivo final (PF), la ganancia media diaria (GMD), la ingestión de alimento (IA) y el índice de conversión (IC). El día 42 de vida, se tomaron de forma aleatoria 5 pollos por tratamiento y se sacrificaron con el fin de recolectar el contenido cecal. Del contenido cecal se aisló el ADN y se secuenció el gen bacteriano 16S rRNA en la plataforma Illumina MiSeq con el fin de realizar la identificación taxonómica de las comunidades bacterianas. El análisis filogenético del gen 16S rRNA fue llevado a cabo empleando el pipeline del software Mothur. El análisis estadístico de los datos productivos se realizó para el periodo de arranque (días 1 a 21), crecimiento-finalización (días 21 a 42) y para todo el periodo de alimentación (días 1 a 42) mediante un ANOVA de una vía utilizando el procedimiento GLIMMIX del programa SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, EEUU). Los resultados de las secuencias bacterianas, obtenidos como abundancias de OTUs (Operational Taxonomical Units), fueron analizados mediante estadística no paramétrica multivariante usando el software PRIMER-E (PRIMER-E v7, Plymouth, GB). Se empleó el coeficiente de Bray-Curtis, como medida de distancia, para determinar la disimilitud entre las poblaciones. La comparación estadística entre los tratamientos se realizó mediante un análisis de similaridad de una vía (ANOSIM, 999 permutaciones). Los OTUs individuales que contribuyeron a la disimilitud observada fueron identificados mediante un análisis de porcentajes de similitud (SIMPER).

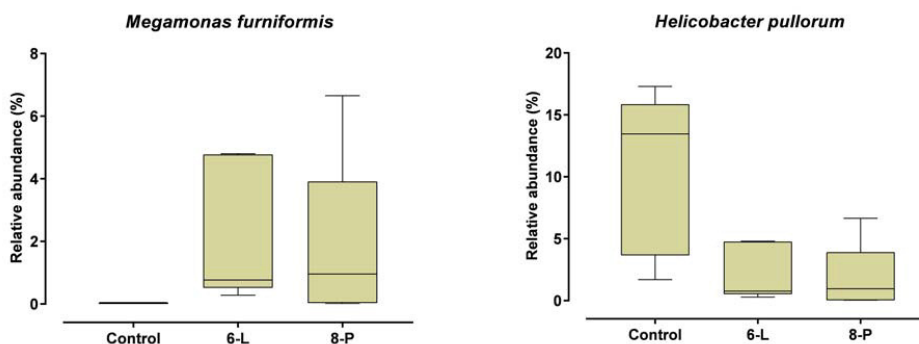
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la Tabla 1, durante el periodo de arranque y crecimiento-finalización, la dieta 8-P incrementó el PF, la GMD y el IA en comparación con la dieta control y 6-L ( $P<0.001$ , para ambas comparaciones), mientras que 6-L promovió mayores resultados para los mismos indicadores que la dieta control ( $P<0.001$ , para todas las comparaciones). Para todo el periodo de alimentación, las dietas 6-L y 8-P presentaron mayor GMD ( $P=0.006$  y  $P<0.001$ , respectivamente) e IA ( $P<0.001$  y  $P=0.001$ , respectivamente) en comparación con la dieta control. La dieta 6-L promovió un menor IC en comparación con la dieta control ( $P=0.048$ ). Asociado a un mejor rendimiento productivo, las dietas suplementadas con 6-L y 8-P ocasionaron diferencias en la composición de las comunidades bacterianas cecales ( $R=0.476$ ;  $P=0.001$ ). En comparación con la dieta control, 6-L y 8-P promovieron una mayor abundancia de *Bacteroides fragilis* (OTU 5), *Bacteroides* spp. (OTU 2), *Escherichia coli/Shigella flexneri* (OTU 9) y *Megamonas furniformis* (OTU 12) en el ciego, mientras que redujeron la abundancia de *Helicobacter pullorum* (OTU 7) (Figura 1). La abundancia de *Lactobacillus salivarius* (OTU 33) aumentó consistentemente en animales con mejor IC, que fueron alimentados con 6-L. Las poblaciones que se vieron aumentadas tienen la capacidad de fermentar lactosa, entre otros carbohidratos, y producir ácidos grasos volátiles (AGV) como producto de fermentación. Los ácidos AGV representan una fuente energía extra para el metabolismo en pollos, lo cual pudo haber promovido un mayor rendimiento productivo (Józefiak *et al.*, 2004). Del mismo modo, los AGV tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de algunas bacterias potencialmente patógenas (van der Wielen *et al.*, 2000), lo que puede explicar la reducción de *Helicobacter pullorum*. En conclusión, los resultados evidencian que tanto el lactosuero como el concentrado protéico de lactosuero son ingredientes que pueden ser usados en alimentación de pollos ya que mejoran el crecimiento y ejercen una modulación favorable sobre las poblaciones microbianas cecales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alloui, M. 2013. Ann. Anim. Scie. 1, 17-32.
- FEDNA 2008. 1-79.
- Huyghebaert, G. 2011. Vet. J. 187, 182-188.
- Józefiak, D. 2004. Anim. Feed. Sci. Tech. 133, 1-15.
- Szczurek, W. 2013. J. Anim. Feed. Sci. 22, 342-353.
- van der Wielen P.W.J.J. 2000. Appl. Environ. Microbiol. 66, 2536-2540.

**Agradecimientos:** La investigación fue financiada por el programa LIFE+ de la UE (LIFE11/ENV/ES/000639) y el Departamento de Desarrollo Económico y Competitividad del Gobierno Vasco. Los autores quieren agradecer al Departamento de Educación, Política Lingüística y Cultura por la beca predoctoral del primer autor (Pineda-Quiroga, C). Los autores expresan su apoyo al personal del departamento de producción animal y sanidad animal de Neiker-Tecnalia por su asistencia técnica.



**Figura 1.** Abundancia relativa de algunos de los OTUs que contribuyen a las diferencias entre las comunidades microbianas cecales de los pollos alimentados con las dietas experimentales.

**Tabla 1.** Efecto de las dietas experimentales en el desempeño productivo de pollos de engorde

	Tratamiento <sup>1</sup>			P	EEM <sup>2</sup>
	Control	6L	8P		
<i>Periodo de arranque (1-21 días)</i>					
Peso final (g)	463,6 <sup>c</sup>	582,2 <sup>b</sup>	677,2 <sup>a</sup>	<0,001	5,446
Ganancia media diaria (g/día)	20,9 <sup>c</sup>	26,6 <sup>b</sup>	31,1 <sup>a</sup>	<0,001	0,269
Ingestión de alimento (g/día)	40,7 <sup>b</sup>	43,0 <sup>b</sup>	53,9 <sup>a</sup>	<0,001	1,369
Índice de conversión	1,94 <sup>a</sup>	1,62 <sup>b</sup>	1,73 <sup>b</sup>	<0,001	0,045
<i>Periodo de crecimiento-finalización (22-42 días)</i>					
Peso final (g)	1881,9 <sup>b</sup>	2089,7 <sup>a</sup>	2230,7 <sup>a</sup>	<0,001	44,244
Ganancia media diaria (g/día)	61,8 <sup>b</sup>	69,7 <sup>ab</sup>	72,3 <sup>a</sup>	0,008	2,232
Ingestión de alimento (g/día)	116,5 <sup>b</sup>	129,4 <sup>a</sup>	128,6 <sup>a</sup>	<0,001	1,944
Índice de conversión	2,08	1,97	2,03	0,794	0,117
<i>Periodo completo de alimentación (1-42 días)</i>					
Peso final (g)	1881,9 <sup>b</sup>	2089,7 <sup>a</sup>	2230,7 <sup>a</sup>	<0,001	44,244
Ganancia media diaria (g/día)	41,41 <sup>b</sup>	47,55 <sup>a</sup>	51,74 <sup>a</sup>	<0,001	1,223
Ingestión de alimento (g/día)	78,3 <sup>c</sup>	85,2 <sup>b</sup>	91,0 <sup>a</sup>	<0,001	1,166
Índice de conversión	2,04 <sup>a</sup>	1,83 <sup>b</sup>	1,85 <sup>ab</sup>	0,039	0,058

<sup>1</sup> Dieta control; dieta con una inclusión de 6% de lactosuero en polvo (6-L) y dieta con una inclusión de 8% de concentrado proteico de lactosuero (8-P).

<sup>2</sup> EEM: error estándar de la media.

### DRY WHEY POWDER AND WHEY PROTEIN CONCENTRATE SUPPLEMENTATION TO BROILER DIETS: EFFECTS ON PRODUCTIVE PERFORMANCE AND CECAL MICROBIOTA COMPOSITION

**ABSTRACT:** The supplementation of dry whey powder (6-DWP), whey protein concentrate (8-WPC) and control diet in corn-soybean broiler diets were evaluated. 810 one-day-old chicks were used. Body weight (BW), daily weight gain (DWG), feed intake (FI), and feed conversion ratio (FCR) were calculated weekly. Ceca microbiota was studied at day 42 of age. Animals fed with 60-DWP and 80-WPC revealed higher DWG, BW and FI when compared to the control diet ( $P < 0.001$ ), whereas lower FCR was only promoted by 60-DWP. Statistical differences on the composition of the cecal bacterial community were observed between experimental diets ( $R = 0.476$ ;  $P = 0.001$ ). In comparison to the control diet, ceca from birds fed with 60-DWP and 80-WPC were colonized in higher abundance with *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides* spp., *Escherichia coli/Shigella flexneri* and *Megamonas furniformis*, while *Helicobacter pullorum* was present in lower abundance. *Lactobacillus salivarius* consistently increased in chickens with better FCR that were fed with 60-DWP. These results indicate that growth of chickens is improved by DWP and WPC supplementation because, in part, of a modulation of cecal microbiota communities.

**Keywords:** Lactose, microbiota, protein, poultry.



## EFFECTO DEL PERFIL NUTRICIONAL DE LA DIETA DE PRE-PUESTA EN GALLINAS REPRODUCTORAS PESADAS SOBRE LOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS Y REPRODUCTIVOS

Martín<sup>1</sup>, D., Novoa<sup>2</sup>, S., Guerra<sup>2</sup>, C. y Abad<sup>2</sup>, J.C.

<sup>1</sup>Imasde Agroalimentaria, S.L., C/ Nápoles, 3, 28224 Madrid. dmartin@e-imasde.com

<sup>2</sup>Cobb Española, S.A., C/ Toledo, 3, 28223 Madrid

### INTRODUCCIÓN

El “*flushing*” es una técnica aplicada al inicio de puesta que consiste en aumentar el aporte energético, y cuyo objetivo es aumentar el desarrollo folicular de las gallinas, gracias a una mayor deposición de tejido adiposo y la generación de adipoquinas con efecto positivo sobre el desarrollo ovárico (Richards *et al.*, 2010). Sin embargo, el avance genético, orientado principalmente hacia el aumento del consumo, el crecimiento y la generación de masa muscular en la pechuga, puede haber interferido en el proceso de maduración folicular de la gallina reproductora pesada. Mientras que los objetivos fundamentales a alcanzar a nivel de pollo de engorde son un bajo índice de conversión y un alto ritmo de crecimiento, el objetivo de las reproductoras se centra en parámetros relacionados con la función de reproducción (Abad *et al.*, 2003), cuyos objetivos son antagonicos. El apetito observado en estas líneas, puede producir un sobre-engorde y afectar a las aptitudes reproductivas de las gallinas reproductoras (Eitan *et al.*, 2014), por lo que es necesario la restricción. Se desconoce si esta evolución genética tiene interferencias con la práctica habitual de “*flushing*”. Por lo tanto, el objetivo del presente ensayo se centra en determinar si sigue siendo adecuada la aplicación del “*flushing*”, durante periodos previos a la puesta, en estirpes pesadas modernas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó un diseño experimental al azar con 2 tratamientos (*Flushing vs No Flushing*) en función del tipo de dieta de inicio de puesta. De 18 a 20 sem ambos tratamientos recibieron el mismo pienso de recría (2.600 kcal EM/kg y 14,2% de PB), y entre 20 y 23 sem (10 % de puesta), el tratamiento *No Flushing* recibió pienso de recría y el tratamiento *Flushing* recibió pienso de prepuesta (2.730 kcal EM/kg y 15,0% de PB) ajustando en ambos casos el consumo según el peso vivo estándar de las gallinas. A partir de la sem 23 y hasta la 60, ambos tratamientos recibieron la misma dieta de puesta (A: 2.760 kcal EM/kg hasta las 40 sem y 15,0% PB y B: 2.700 kcal EM/kg y 14,5% PB hasta las 60 sem). Todos los piensos fueron presentados en forma de harina. La unidad experimental fue la gallina, empleándose 20 gallinas/tratamiento y semana de control.

Se utilizaron un total de 320 gallinas reproductoras pesadas de la estirpe Cobb 500 de 18 a 60 semanas de edad. Cada tratamiento se ubicó en una nave gemela de suelo de 6.500 plazas/nave propiedad de Cobb Española, S.A., situada en Cevico de la Torre, Palencia (España). Las condiciones ambientales durante el experimento (temperatura y humedad relativa) se controlaron automáticamente asegurándose una temperatura de  $22 \pm 2$  °C. Se utilizó un programa de luz creciente a partir de 8 h en la sem 20 con un aumento de 1 h/sem hasta llegar a las 15 h. Se midió el peso vivo y anchura pélvica, y tras el sacrificio se pesó la canal, el hígado, la molleja vacía, la pechuga, la grasa abdominal y el ovario (los resultados se expresaron como porcentaje de peso de la canal), y se realizó el recuento del número de folículos entre 1-2 cm y mayores a 2 cm .

Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM de SPSS v22 para diseños al azar y el modelo incluyó el tratamiento como efecto principal. Los resultados se expresaron como medias. Para las variables discretas (nº de folículos) se utilizó el test  $\chi^2$ . El nivel de significación estadístico se estableció para una probabilidad (P) menor o igual al 5 % ( $P \leq 0,05$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos se presentan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Efecto del perfil nutricional de la dieta de pre-puesta en gallinas reproductoras pesadas sobre el peso vivo (PV), peso de la canal (PC), peso relativo con respecto al peso de la canal de ovarios (Ov) y grasa abdominal (G.Ab); y n° de foliculos totales y porcentaje de foliculos mayores a 2 cm.

Semana/Tratamiento	PV, g	PC, g	G.Ab, %	Ov., %	N° Fol.	Fol. >2cm, %	
20	Flushing	2.504	2.297	1,08	0,04	-	-
	No Flushing	2.233	2.022	0,80	0,03	-	-
	EEM <sup>1</sup> (n=20)	77,44	71,63	0,132	0,005	-	-
	P <sup>2</sup>	<b>0,024</b>	<b>0,014</b>	0,152	0,595	-	-
23	Flushing	2.724	2.459	1,53	0,06	-	-
	No Flushing	2.753	2.464	1,26	0,05	-	-
	EEM (n=20)	56,55	53,37	0,119	0,005	-	-
	P	0,719	0,948	0,116	0,205	-	-
26	Flushing	3.348	2.979	2,02	0,67	2,45	16,79
	No Flushing	3.139	2.833	1,58	0,60	2,80	12,57
	EEM (n=20)	42,94	49,36	0,128	0,158	0,605	4,997
	P	<b>0,001</b>	<b>0,043</b>	<b>0,019</b>	<b>0,770</b>	<b>0,685</b>	<b>0,553</b>
29	Flushing	3.543	3.090	2,31	1,75	6,40	57,21
	No Flushing	3.482	3.036	2,29	1,58	5,55	46,45
	EEM (n=20)	39,04	41,56	0,182	0,170	0,571	5,156
	P	0,276	0,364	0,951	0,478	0,299	0,148
33	Flushing	3.659	3.129	2,75	2,13	6,40	59,21
	No Flushing	3.786	3.312	1,99	1,75	5,90	59,07
	EEM (n=20)	41,77	36,50	0,180	0,100	0,296	2,653
	P	<b>0,038</b>	<b>0,001</b>	<b>0,005</b>	<b>0,010</b>	0,240	0,970
40	Flushing	4.104	3.479	2,67	1,86	5,65	63,29
	No Flushing	4.096	3.544	2,45	1,88	6,30	63,80
	EEM (n=20)	40,55	37,54	0,226	0,095	0,226	1,940
	P	0,890	0,228	0,498	0,849	<b>0,049</b>	0,855
50	Flushing	4.125	3.541	2,86	1,65	4,75	56,43
	No Flushing	4.184	3.586	2,85	1,59	4,53	59,10
	EEM (n=20)	45,39	37,34	0,258	0,147	0,463	5,505
	P	0,368	0,402	0,958	0,785	0,735	0,734
60	Flushing	4.594	3.967	3,36	1,61	4,90	64,60
	No Flushing	4.334	3.775	2,67	1,48	4,60	59,98
	EEM (n=20)	52,99	51,30	0,350	0,165	0,519	6,446
	P	<b>0,001</b>	<b>0,012</b>	0,168	0,574	0,685	0,615

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

<sup>2</sup>Probabilidad: P<0,05 diferencias significativas; 0,05≤P<0,10 tendencia; y P>0,10 diferencias no significativas.

Las gallinas que recibieron *flushing* mostraron un mayor peso de la canal en las sem 20, 26 y 60 (2.297 vs 2.022; 2.979 vs 2.833 y 3.967 vs 3.775 g para *flushing* y *sin flushing*, respectivamente; P<0,05) aunque, en general, las diferencias tuvieron alternancia y pueden estar motivadas en los muestreos aleatorios en cada control. El porcentaje de pechuga sobre el peso de la canal en las sem 50 y 60 fue mayor en las gallinas *sin flushing* (29,07 vs 30,78 y 28,33 vs 29,66 % para *flushing* y *sin flushing*, respectivamente; P<0,05 y P<0,10), y el porcentaje de grasa abdominal fue significativamente mayor en las gallinas *con flushing* durante las sem 26 y 33 (2,02 y 2,75 vs 1,58 y 1,99 % para *flushing* y *sin flushing*, respectivamente; P<0,05), siendo numéricamente superior durante todo el periodo de ensayo.

Estos resultados podrían indicar que las gallinas *con flushing* aumentaron la tendencia a almacenar una mayor deposición de grasa abdominal. Asimismo, durante todo el ensayo, el porcentaje de peso de los ovarios fue numéricamente mayor en las gallinas *con flushing* que en las gallinas *sin flushing*, siendo esta diferencia estadísticamente significativa únicamente en la sem 33 (2,13 vs 1,75 %;  $P < 0,05$ ), lo que podría traducirse en un mayor desarrollo folicular en las gallinas *con flushing*. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos sobre el número total de folículos, a excepción de la sem 40, en la que el número de folículos de las gallinas *sin flushing* fue significativamente mayor que en las gallinas *con flushing* (5,65 vs 6,30;  $P < 0,05$ ). Asimismo, las gallinas *con flushing* mostraron numéricamente un mayor porcentaje de folículos mayores a 2 cm en las sem 26 y 29, valores que posteriormente tendieron a igualarse. Por otro lado, en las sem 50 y 60 del estudio, las gallinas *con flushing* mostraron una anchura pélvica mayor que las gallinas *sin flushing* (7,69 vs 8,27 y 7,11 vs 7,34 cm;  $P < 0,05$  y  $P < 0,10$ , respectivamente), no observándose diferencias estadísticamente significativas durante el resto de semanas. Por último, cabe señalar, que no se observaron diferencias estadísticamente significativas sobre el porcentaje de hígado o molleja vacía.

Bajo las condiciones específicas del estudio se puede concluir que en las gallinas reproductoras pesadas actuales el “*flushing*” aumentó ligeramente el peso relativo de los ovarios y la grasa abdominal, por lo que podría ser un estímulo para el inicio de puesta, aunque en este estudio no se tradujo en más folículos ni de mayor tamaño (a excepción del inicio de puesta), por lo que es una técnica que posiblemente sea revisable.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, J. C., Castelló, J.A., Carbajo, E., Casanovas, P., Dalmau, A., García, E., Lera, R., y Martínez-Alesón, R. 2003. Reproducción e incubación en avicultura. Real Escuela de Avicultura, Barcelona.
- Richards, M.P., Rosebrough, R.W., Coon, C.N., y McMurtry, J.P. 2010. Feed intake regulation for the female broiler breeder: in theory and in practice. J. Appl. Poult. Res. 19: 182-193.
- Eitan, Y., Ehud Lipkin, y Soller, M. 2014. Body composition and reproductive performance at entry into lay of anno 1980 versus anno 2000 broiler breeder females under fast and slow release from feed restriction. Poult. Sci. 93: 1227-1235.

**Agradecimientos:** Estudio perteneciente al Proyecto de Investigación y Desarrollo financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (IDI-20160233).

#### EFFECT OF PRE-LAYING DIET CONCENTRATION IN BROILER BREEDER ON PHYSIOLOGICAL AND REPRODUCTIVE PARAMETERS

**ABSTRACT:** A total of 320 laying hens were used to compare two methods of feeding between weeks 20 to 23: *flushing* (2.730 kcal EM/kg and 15.0% de PB) vs *no flushing* (2.600 kcal EM/kg and 14.2% de PB). The experimental unit was the hen, using 20 hens/treatment at random and control week (20, 23, 26, 29, 33, 40, 50 and 60). Body weight (BW), pelvic width and weight of carcass (CW), liver, gizzard, breast, abdominal fat and ovary were measured. The total number of follicles and the number of those larger than 2 cm were also determined. Compared with *no flushing* hens, *flushing* hens increased the trend toward greater abdominal fat deposition. Likewise, the percentage of ovary was numerically higher in *flushing* hens throughout the study. This difference was statistically significant at week 33 (2.13 vs 1.75 %;  $P < 0.05$ ). However, no significant differences were found in the number of total follicles or follicles larger than 2 cm (except of a numeral improvement in the first weeks after flushing). Under these specific experimental conditions it can be concluded that in the Cobb current female broiler breeders, *flushing* application increases ovary weight and slightly fat deposition. However, this does not result in a higher number or bigger follicles.

**Keywords:** flushing, broiler breeder, ovary weight, follicles.

## EFFECTOS A CORTO PLAZO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON BETA-GLUCANOS DE CEBADA A OVEJAS LECHERAS: 1. RESULTADOS PRODUCTIVOS Y METABÓLICOS

Torrent, N., Mehaba, N., Love, S., Salama, A.A.K., Albanell, E. y Caja, G.  
Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments,  
Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España. [torrent.ample@gmail.com](mailto:torrent.ample@gmail.com)

### INTRODUCCIÓN

Existe un permanente interés por identificar principios activos vegetales y entender la respuesta lactogénica de algunas plantas o de sus extractos en animales y humanos. En este sentido, Sawadogo y Houdebine (1988) comprobaron que la administración endovenosa de pectinas (de manzana, cítricos y remolacha) a ovejas, estimuló sus niveles de prolactina (PRL), hormona de crecimiento y cortisol; por vía oral a ratas vírgenes indujo la producción de  $\beta$ -caseína en su glándula mamaria. Los mismos efectos se observaron al inyectar por vía endovenosa una solución de  $\beta$ -glucanos de cebada (100 mg) en ovejas (Sawadogo y Houdebine, 1988). El componente activo y la relación con la secreción de PRL se desconocen, pero se han identificado como polisacáridos ricos en pectinas o  $\beta$ -glucanos (Eslimi et al., 2008). Como posible hipótesis se ha sugerido que las pectinas,  $\beta$ -glucanos y sus derivados tienen homologías con la matriz extracelular de las células hipofisarias de los mamíferos y que los compuestos activos de las plantas podrían afectar a la secreción de PRL debido a que se unen a sus receptores (Eslimi et al., 2008).

La cebada contiene cerca de un 60% de polisacáridos amiláceos, tales como amilosa (almidón lineal) y la amilopectina (almidón cristalizado), y un 40% de no-amiláceos como las pectinas (heteropolisacárido de ácido galacturónico) y los  $\beta$ -glucanos (polisacáridos con enlaces  $\beta$ -1,3 ó -1,4). Estos polisacáridos no-amiláceos son indigestibles para los mamíferos, aunque sí para muchas de las bacterias ruminales, tienen efectos viscosantes y constituyen una parte importante de la llamada fibra dietética. En la actualidad se han desarrollado variedades de cebada de alto contenido en  $\beta$ -glucanos (7-10%; Newman y Newman, 2008), lo que puede tener interesantes aplicaciones en las raciones de especies lecheras. Este trabajo explora la respuesta metabólica y productiva, a corto plazo, de la administración de un extracto de  $\beta$ -glucanos a ovejas lecheras en lactación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y manejo:** Se utilizaron 5 ovejas de raza Lacaune al final de lactación ( $66,7 \pm 2,6$  kg PV;  $1,58 \pm 0,12$  kg/d leche y  $202 \pm 22$  d en ordeño), alimentadas con alfalfa *ad libitum* y 0,8 kg/d de concentrado según sus necesidades (INRA, 2007). Las ovejas se adaptaron a cajas metabólicas y a una ración Control durante 20 d (P1, d 1-20). Una vez adaptadas, se suplementaron con  $\beta$ -glucanos de cebada (1,26 g  $\beta$ -glucanos/kg PV<sup>0,75</sup>) durante 5 d (P2, d 21-25). El producto utilizado (Glucagel, Zeus Ibérica, Barcelona) contenía un 77,5% de  $\beta$ -glucanos de cebada que se añadió en forma de polvo, mezclado con cebada molida, al concentrado suministrado 2 veces al día en el momento del ordeño. El aporte diario medio de  $\beta$ -glucanos fue de 29,4 g/oveja. El contenido en  $\beta$ -glucanos del concentrado Control fue reducido (0,77% sobre MS). El ordeño se realizó 2 veces al día (9 y 17 h) mediante un equipo portátil (GEA Ibérica, Granollers) a 38 kPa, 180 ppm y 50% pulsación.

**Mediciones, toma de muestras y análisis:** Durante los últimos 10 d del periodo experimental (d 15-25) se pesó diariamente la ingestión individual de forraje, concentrado y agua, así como la producción de leche (MobbaXie, Mobba, Barcelona). Se tomaron muestras diarias de alimento (oferta y rechazo) y leche (a.m., 60 mL; p.m., 40 mL) para el análisis de su composición. Las muestras de leche se conservaron a 4°C, previa adición de pastillas de Bronopol (Broad Spectrum Microtabs II, D&F Control System, San Ramon, CA, EEUU), y se analizaron mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (Foss NIRSystem 5000, Foss, Hillerød, Dinamarca). Las muestras de alimento se molieron a través de una malla de 1 mm y se analizaron según el método de Weende. Durante los d 20 y 25, se tomaron muestras de sangre de la vena yugular a 4 tiempos (h 0, 2, 4 y 6), respecto al momento de ordeño de la mañana y de distribución de alimento, utilizando vacutainers con EDTA (Venoject, Leuven, Bélgica). Las muestras de sangre se centrifugaron (15 min a 2000  $\times$ g; AlresaDidacen II, Ajalvir) para obtener plasma y se conservaron a -20 °C hasta su análisis en el Laboratorio

de Bioquímica Clínica de la UAB. El contenido de  $\beta$ -glucanos, se determinó en plasma como (1 $\rightarrow$ 3)  $\beta$ -D-glucano, mediante el método de cinética cromogénica (Fungitell, Associates of Cape Cod, East Falmouth, MA, EEUU) en el Laboratorio Fontlab2000 (Santa Eulalia de Ronçana, Barcelona).

**Análisis estadísticos:** Los datos obtenidos se analizaron mediante el procedimiento MIXED para medidas repetidas de SAS (v.9.4), considerando el tratamiento (Control vs.  $\beta$ -glucanos), el día (1 a 5) y su interacción, como factores fijos y el animal y el error como aleatorios. Las medias se expresaron como LSM y separaron mediante PDIFF a  $P < 0,05$ . Se consideraron tendencias a  $P < 0,10$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

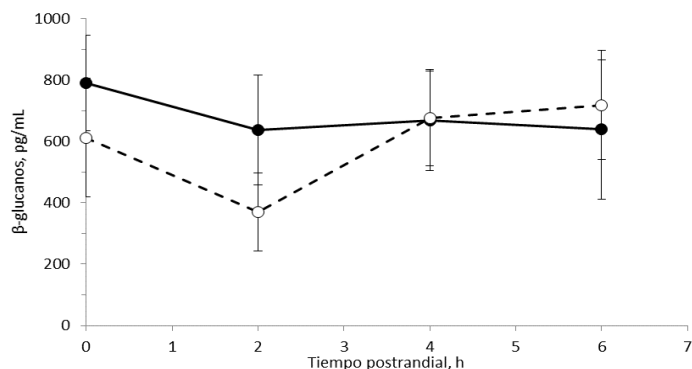
La ingestión voluntaria de materia seca disminuyó un 6% en el grupo  $\beta$ -glucanos ( $P < 0,001$ ). Este hecho pudo ser debido al incremento de la viscosidad de la ración en la boca de las ovejas causada por el nivel de  $\beta$ -glucanos añadido (Cloetens et al., 2012), lo que dificultó la deglución, pero el efecto desapareció después de 2 d. La interacción ración $\times$ día (R $\times$ D) fue resultado de la recuperación de la ingestión a partir del d 3 después de haber iniciado la suplementación. Pese a ello, no se observaron diferencias en la producción de leche bruta (1,80  $\pm$  0,12 kg/d) y corregida en energía (1,59  $\pm$  0,14 kg/d) debidas a la suplementación de  $\beta$ -glucanos (Tabla 1). No obstante, la interacción R $\times$ D indicó que la producción de leche aumentó ligeramente en el periodo de suplementación con  $\beta$ -glucanos. No se observaron diferencias en la composición de leche (Tabla 1), pero sí una tendencia a la disminución del contenido de sólidos totales con la suplementación de  $\beta$ -glucanos ( $P < 0,10$ ), compatible con el aumento de producción. Por otro lado, se observaron tendencias ( $P < 0,10$ ) a la disminución de los valores de albúmina (-4%) y colesterol (-7%) en el plasma de las ovejas suplementadas con  $\beta$ -glucanos.

**Tabla 1.** Respuestas productiva y metabólica, a corto plazo, de ovejas lecheras suplementadas con  $\beta$ -glucanos de cebada.

Item	Ración (R)			P-valor	
	Control	$\beta$ -glucanos	ESM	R	R $\times$ D <sup>1</sup>
Ingestión, kg MS/d	2,82	2,64	0,18	0,001	0,001
Leche, kg/d	1,80	1,81	0,12	0,89	0,043
Grasa, %	6,25	6,05	0,22	0,25	0,60
Proteína, %	5,60	5,44	0,11	0,16	0,13
Sólidos totales	17,47	17,08	0,22	0,06	0,70
Lactosa	4,65	4,69	0,16	0,64	0,83
Caseína	4,02	3,95	0,08	0,35	0,26
Leche corregida en energía <sup>2</sup> , kg/d	1,58	1,59	0,14	0,90	0,032
Glucosa, mg/100 mL	62,8	60,8	1,6	0,21	0,001
Albúmina, g/100 mL	3,15	3,02	0,10	0,07	0,57
Colesterol, mg/100 mL	101,2	94,6	9,5	0,05	0,65
AGNE, mmol/L	0,129	0,135	0,040	0,70	0,21
$\beta$ -glucanos, pg/mL	588	648	92	0,43	0,67

<sup>1</sup>Interacción ración $\times$ día; <sup>2</sup>Según INRA (2007).

El contenido medio de  $\beta$ -glucanos en plasma de las ovejas lecheras no fue diferente entre tratamientos, siendo su valor medio 618  $\pm$  43 pg/mL ( $P = 0,43$ ), a lo largo del día, aunque fue numéricamente mayor en el grupo  $\beta$ -glucanos que en el Control a las 0 y 2 h (Figura 1). Estos resultados parecen indicar que los  $\beta$ -glucanos no serían degradados en su totalidad en el rumen sino que podrían ser absorbidos y detectados en sangre.



**Figura 1.** Evolución del contenido de  $\beta$ -glucanos en plasma de ovejas lecheras suplementadas o no con  $\beta$ -glucanos ( $\circ$ , control;  $\bullet$ , suplementadas con  $\beta$ -glucanos) en el ordeño de la mañana.

Los resultados obtenidos no revelaron efectos de los  $\beta$ -glucanos en la síntesis de leche o caseína en la glándula mamaria de ovejas lecheras a corto plazo, aunque pudieron verse afectados por la forma en que se administraron. Se necesitan realizar más estudios, a medio y largo plazo, para aclarar sus efectos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cloetens, L., Ulmius, M., Johansson-Persson, A., Akesson, B. & Onning, G. 2012. *Nutri. Rev.* 70:444-458
- Eslimi, D., Sepehri, H., Rassouli, Y., Khoei, S. & Goliaei, B. 2008. *Iranian Biomed. J.* 12:167-172
- INRA. 2007. *Alimentation des Bovins, Ovins et Caprins*. Quae, Paris, France
- Newman, R.K. & Newman, C.W. 2008. *Barley for food and health*. J. Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA
- Sawadogo, L. & Houdebine, L.M. 1988. *Ann. Biol. Clin.* 46:129-134
- Sawadogo, L., Houdebine, L.M., Thibault, J.F., Rouau, X. & Ollivier-Bousquet, M. 1988. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 28:293-301.

**Agradecimientos:** Proyecto AGL2015-69435-C3-3-R (Programa Estatal I+D+i, MINECO), al Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ) por una beca parcial de M.Sci. a N. Torrent y a Zeus Ibérica (Barcelona).

#### SHORT-TERM EFFECTS OF BARLEY BETA-GLUCANS SUPPLEMENTATION TO DAIRY EWES: 1. PRODUCTIVE AND METABOLIC RESULTS

**ABSTRACT:** This short-term study investigated the lactogenic effects of the supplementation with a commercial source of barley  $\beta$ -glucans (Glucagel) in dairy ewes. Five Lacaune lactating dairy ewes ( $66.7 \pm 2.6$  kg BW;  $1.58 \pm 0.12$  kg/d milk) were allocated in metabolic cages and submitted to 2 dietary treatments consecutively (P1-CO, control, d 1-20; P2-BG,  $\beta$ -glucans supplementation at a rate of  $1.62$  g/kg BW<sup>0.75</sup>, d 21-25). No changes in milk yield, energy corrected milk and milk composition were detected for  $\beta$ -glucans supplementation. A small decrease of feed intake was observed during the first 2 d of the supplementation, most likely because of the increase of viscosity in the mouth due to  $\beta$ -glucans supplementation, but it did not affect milk yield or composition. Despite the short term supplementation, plasmatic values of albumin and cholesterol tended to decrease in the to  $\beta$ -glucans supplemented ewes. Plasma  $\beta$ -glucans numerically increased in the to  $\beta$ -glucans supplemented ewes, suggesting that  $\beta$ -glucans left the rumen not fully degraded and that were absorbed. Further research is needed at mid and long-terms.

**Keywords:** dairy ewe,  $\beta$ -glucan, barley, milk

## EFFECTOS A CORTO PLAZO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON BETA-GLUCANOS DE CEBADA A OVEJAS LECHERAS: 2. METABOLOMA

Contreras-Jodar, A., Torrent, N., Mehaba, N., Salama, A.A.K., Albanell, E. y Caja, G. Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España. [alexandra.contreras@uab.cat](mailto:alexandra.contreras@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

Como continuación del trabajo previo (Torrent et al., 2017) en el que se evaluaron los efectos productivos y metabólicos a corto plazo de la suplementación con  $\beta$ -glucanos de cebada en ovejas lecheras al final de lactación, se estudiaron los efectos producidos en su metaboloma. Los efectos lactogénicos de extractos de cebada o de algunas fracciones de cerveza en animales y humanos son conocidos desde antiguo. Sawadogo y Houdebine (1988) indicaron que la inyección endovenosa de una solución de  $\beta$ -glucanos de cebada (100 mg) en ovejas, elevó sus niveles de prolactina y hormona de crecimiento en sangre. El componente activo y la relación con la secreción de prolactina se desconocen, pero entre ellos se han identificado los  $\beta$ -glucanos (Eslimi et al., 2008). Como posible hipótesis se ha sugerido que los  $\beta$ -glucanos, pectinas y sus derivados tienen homologías con la matriz extracelular de las células de la adenohipófisis (anterior) de los mamíferos y que, los compuestos activos de las plantas, podrían afectar a la secreción de prolactina debido a la afinidad con sus receptores (Eslimi et al., 2008).

Los  $\beta$ -glucanos son polisacáridos con enlaces  $\beta$ -1,3 ó  $\beta$ -1,4 de la glucosa, que constituyen una parte de la llamada fibra dietética, y son indigestibles para los mamíferos (aunque sí para muchas de las bacterias ruminales). En la actualidad se han desarrollado variedades de cebada de alto contenido en  $\beta$ -glucanos (7-10%; Newman y Newman, 2008), lo que puede tener interesantes aplicaciones en las raciones de especies lecheras.

Este trabajo explora la respuesta metabólica a corto plazo, en sangre, leche y orina, de la administración de un extracto de  $\beta$ -glucanos a ovejas lecheras y completa las tendencias detectadas previamente a nivel de producción y metabolismo (Torrent et al., 2017).

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Animales y diseño experimental:* Se utilizaron 5 ovejas de raza Lacaune en lactación ( $66,7 \pm 2,6$  kg PV;  $202 \pm 22$  d y  $1,58 \pm 0,12$  kg/d leche), alimentadas con alfalfa ad libitum y concentrado, que se adaptaron a cajas metabólicas y se sometieron a raciones de distinto contenido en  $\beta$ -glucanos consecutivamente: Control durante 20 d (P1, d 1-20) y suplementadas con  $\beta$ -glucanos de cebada ( $1,26$  g BG/kg PV<sup>0,75</sup>) durante 5 d (P2, d 21-25). El producto utilizado fue Glucagel (Zeus Ibérica, Barcelona) con un contenido de 77,5% de  $\beta$ -glucanos de cebada que se añadieron al concentrado suministrado 2 veces al día.

*Toma de muestras:* Se recogieron muestras de sangre, leche y orina para estudios de metabólica (Control, d 20;  $\beta$ -glucanos, d 25). La sangre fue centrifugada ( $2000 \times g$  durante 15 min) para separar el plasma y todas las muestras se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

*Análisis de espectroscopía por Resonancia Magnética Nuclear (RMN):* Para realizar el análisis de metabolitos con la técnica de RMN, todas las muestras de plasma, leche y orina se transfirieron a tubos de RMN de 5 mm (VWR International, Eurolab, Barcelona) y se procesaron de acuerdo con la metodología de Beckonert et al. (2007) con modificaciones.

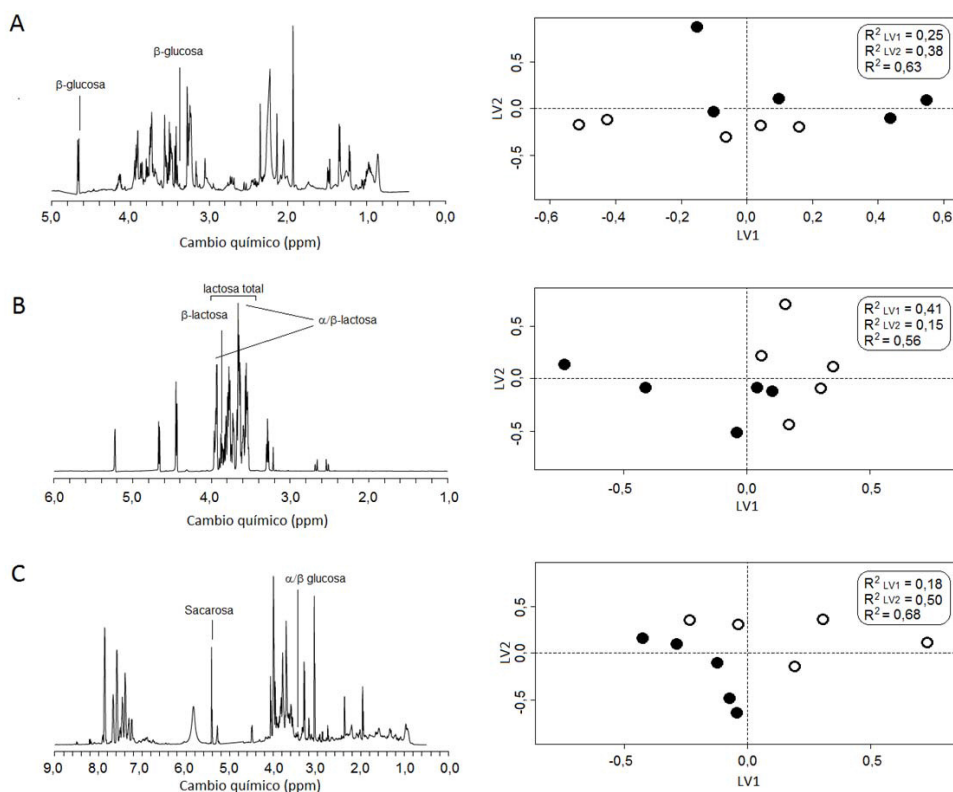
Los espectros de RMN se obtuvieron utilizando un espectrómetro Bruker Avance-III operando a una frecuencia de protón a 600,13 MHz con temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ . La detección de los espectros se controló con el software TopSpin 2.1 (Bruker, Alemania).

*Análisis bioinformático y bioestadístico de los datos:* Se llevó a cabo utilizando R software v. 3.2.3. En primer lugar, se corrigió la línea base de los espectros y se excluyó del análisis la región  $\delta$  5,0 a 4,6 ppm correspondiente al agua. Los espectros de orina fueron estandarizados a creatinina (3,04 ppm) y también se excluyó la región  $\delta$  6,05-5,52 ppm correspondiente al pico de urea, tal y como recomiendan Pechlivanis et al. (2010). Los espectros de leche y plasma se estandarizaron en base a 100. Posteriormente, los datos fueron analizados por estadística multivariante. Inicialmente, por análisis de componentes principales (PCA), para obtener una visión general de los datos y observar posibles

muestras atípicas y luego un análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA). Finalmente, se seleccionaron los cambios químicos que contribuyeron a una mayor separación entre grupos experimentales, se comprobó su influencia calculando el *fold change* y el *P*-valor por comparación de medias en datos pareados. Los metabolitos se identificaron según posición en el espectro de acuerdo con la bibliografía disponible para plasma (Nicholson et al., 1995), leche (Sundekilde et al., 2013) y orina (Bouatra et al., 2013).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó ninguna muestra atípica de plasma, leche ni orina al realizar el análisis de componentes principales, por lo que no se descartó ninguna de ellas en los análisis estadísticos posteriores. La suplementación con  $\beta$ -glucanos durante 5 d produjo como resultado pequeñas diferencias en el metaboloma de las ovejas (Figura 1).



**Figura 1.** Espectros de  $^1\text{H}$  RMN a 600 MHz y gráfico de análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales de A) plasma, B) leche y C) orina de oveja ( $\circ$ , Control;  $\bullet$ ,  $\beta$ -glucanos).

Los metabolitos que contribuyeron a la diferenciación fueron los debidos a mayores contenidos de  $\beta$ -glucosa en plasma,  $\alpha/\beta$ -lactosa y lactosa total en leche, así como a mayores excreciones de sacarosa y  $\alpha/\beta$ -glucosa en orina en las ovejas suplementadas con  $\beta$ -glucanos (Tabla 1). Estos resultados podrían sugerir que los  $\beta$ -glucanos no se degradaron en su totalidad en el rumen, sino que fueron también absorbidos y transportados por el torrente sanguíneo. Aunque analíticamente no se hayan observado diferencias significativas en la cantidad de lactosa en leche entre tratamientos, sí se observó una mayor concentración de lactosa en el perfil metabólico de las ovejas suplementadas con  $\beta$ -glucanos por  $^1\text{H}$ -RMN espectroscópica. Cabe destacar, que los efectos analizados en el



presente estudio son a corto plazo (5 d), por lo que no se puede descartar el efecto lactogénico de los  $\beta$ -glucanos o de sus derivados sobre los receptores de hormonas lactotrópicas (e.g., prolactina, hormona de crecimiento).

**Tabla 1.** Metabolitos que contribuyeron a la separación de metabolomas mediante PLS-DA.

Muestra	Metabolito	Cambio químico (ppm <sup>1</sup> )	Fold Change	P-valor
Plasma	$\beta$ -glucosa	3,40 (H4t) <sup>2</sup>	0,80	0,01
	$\beta$ -glucosa	4,68 (H1d)	2,32	0,02
Leche	$\alpha/\beta$ -lactosa	3,65 (CH-4); 3,95 (1/2 CH2-6)	1,16	0,03
	$\beta$ -lactosa	3,84 (CH-5)	1,20	0,047
	Lactosa total	3,77 (H2-6'); 3,72 (CH-5')	1,20	0,02
	Lactosa total	3,93 (CH-2); 3,54 (CH-2')	1,16	0,04
Orina	Sacarosa	5,40	1,53	0,004
	$\alpha/\beta$ -glucosa	3,41 (H4)	1,51	0,02

<sup>1</sup>Cambio de frecuencia de resonancia. <sup>2</sup>Posición del protón afectado por el cambio.

Por otro lado, la excreción de sacarosa detectada en orina podría estar relacionada con una mayor excreción de lactosa en animales en lactación (Wheelock y Rook, 1966). Las diferencias observadas en el perfil metabólico de leche y orina podrían indicar un mejor estado nutritivo en las ovejas suplementadas con  $\beta$ -glucanos de cebada. Estas conclusiones deberán ser comprobadas en estudios posteriores.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Beckonert, O., et al. 2007. Nat. Protoc. 2:2692-2703 • Bouatra, S., et al. 2013. PLoS One 8:e73076 • Eslimi, D., et al. 2008. Iran. Biomed. J. 3:167-172 • Newman, R.K. & Newman, C.W. 2008. Barley for food and health. J. Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA • Nicholson, J.K., et al. 1995. Anal. Chem. 67:793-811 • Pechlivanis, A., et al. 2010. J. Proteome Res. 9:6405-6416 • Sawadogo, L. & Houdebine, L.M. 1988. Ann. Biol. Clin. 46:129-134 • Sundekilde, U.K., et al. 2013. Metabolites 3:204-222 • Torrent, N., et al. 2017. XVII Jornadas sobre producción animal AIDA, Zaragoza • Wheelock, J.V. & Rook, A.F. 1966. J. Dairy Res. 33:37-42.

**Agradecimientos:** Proyecto AGL2015-69435-C3-3-R y beca FPI a A. Contreras-Jodar (Programa Estatal I+D+i, MINECO, España), al Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ) por una beca parcial de M.Sci. N. Torrent y a Zeus Ibérica (Barcelona).

#### SHORT-TERM EFFECTS OF BARLEY $\beta$ -GLUCANS SUPPLEMENTATION TO DAIRY EWES: 2. METABOLOMA

**ABSTRACT:** This study is a short-term investigation of the potential lactogenic effects of a commercial barley  $\beta$ -glucans (Glucagel) supplementation in ewes. Five Lacaune lactating dairy ewes (66.7  $\pm$  2.6 kg BW; 202  $\pm$  22 DIM and 1.58  $\pm$  0.12 kg/d milk yield) were allocated in metabolic cages and submitted to 2 dietary treatments consecutively (CO, control; BG,  $\beta$ -glucans supplementation at a rate of 1.62 g/kg BW<sup>0.75</sup>) during 25 d (CO, d1 to 20; BG, d21 to 25). <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance based metabolomics was used as a tool to generate an integrated vision of the changes in the metabolic profile of blood plasma, milk and urine samples obtained at the end of the experimental periods. The metabolomics approach along with the multivariate analysis was able to differentiate between dietary treatments, showing the metabolites that contribute in greater variability between diets. Therefore, ewes fed  $\beta$ -glucans supplementation for 5 d had higher  $\beta$ -glucose in plasma, lactose in milk and higher excretion of sucrose in urine. The present study is the first metabolomic study of  $\beta$ -glucans supplementation in ruminants.

**Keywords:** lactating ewe,  $\beta$ -glucan, barley, metabolomic

## EFFECTO DEL DHA SOBRE LA BIOHIDROGENACIÓN RUMINAL IN VITRO DE ÁCIDOS GRASOS DE 18 CARBONOS: COMPARACIÓN EN VACAS Y OVEJAS

Toral<sup>1</sup>, P. G., Hervás<sup>1</sup>, G., Carreño<sup>1</sup>, D., Leskinen<sup>2</sup>, H., Belenguer<sup>1</sup>, A., Shingfield<sup>3</sup>, K.J. y Frutos<sup>1</sup>, P.

<sup>1</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Univ. de León), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España. <sup>2</sup>Natural Resources Institute Finland (Luke), 31600, Jokioinen, Finlandia. <sup>3</sup>Institute of Biological, Environmental and Rural Sciences, Univ. de Aberystwyth, Aberystwyth, Ceredigion, SY23 3EB, Reino Unido. [pablo.toral@csic.es](mailto:pablo.toral@csic.es)

### INTRODUCCIÓN

La investigación sobre la inclusión de lípidos marinos en la dieta de los rumiantes se ha enfocado principalmente al estudio de su acción moduladora sobre el último paso de la biohidrogenación ruminal (BH) de los ácidos grasos (AG) (Or-Rashid et al., 2008; Toral et al., 2010). En este caso, el objetivo final es aumentar el flujo de t11-18:1, que sirve como sustrato para la síntesis mamaria de c9t11-CLA (Shingfield et al., 2013; Frutos et al., 2014). Sin embargo, algunos estudios sugieren que otras etapas o rutas de la BH de los AG de 18 carbonos podrían verse también afectadas (Kairenius et al., 2015; Toral et al., 2016).

Por otra parte, aunque son conocidas las variaciones en el metabolismo lipídico entre el vacuno y los pequeños rumiantes, p. ej. en respuesta a la suplementación con aceites vegetales (Shingfield et al., 2013), estas diferencias no resultan tan claras cuando los animales reciben lípidos marinos (Or-Rashid et al., 2008; Toral et al., 2010). Así, comparaciones indirectas sugieren que los efectos de los últimos sobre el perfil de AG de la leche y el contenido digestivo son similares en vacuno, ovino y caprino (Boeckeaert et al., 2008; Bichi et al., 2013; Toral et al., 2015). Por el contrario, la comparación directa de vacas y cabras suplementadas con aceite de pescado parece indicar una respuesta ruminal más acusada en el caprino (Toral et al., 2016), lo que apunta de nuevo a variaciones entre especies. No parece existir ningún estudio similar en vacuno y ovino.

Por ello, este experimento se llevó a cabo para examinar el efecto de la adición a la dieta de ácido docosahexaenoico (DHA o 22:6n-3; uno de los AG bioactivos más abundantes en los lípidos marinos) sobre la BH ruminal de los AG de 18 carbonos en vacas y ovejas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó in vitro mediante cultivos no renovados de microorganismos ruminales, con un diseño factorial 2x2 (2 especies: vacuno y ovino, y 2 tratamientos: Control y DHA).

Como donantes del inóculo se utilizaron dos vacas y dos ovejas provistas de cánula ruminal, que recibieron una dieta mixta completa basada en heno de alfalfa y un concentrado (relación F:C 50:50). La oferta se ajustó a sus necesidades energéticas de mantenimiento para trabajar en condiciones similares en ambas especies. Pasados 15 días de adaptación, y tras una noche de ayuno, se recogieron muestras de fluido ruminal de cada animal y se mezclaron para dar lugar a un inóculo por especie. La incubación se hizo en tubos Hungate (Carreño et al., 2015) y como sustrato se usó la misma dieta de los animales (10 mg/mL de fluido ruminal tamponado). Todo el proceso se repitió 3 días diferentes (=réplicas). La dosis de DHA (2% materia seca) se añadió disuelta en etanol justo antes de comenzar la incubación. En el Control se dosificó la cantidad de etanol pero sin el AG. La fermentación se detuvo a las 24 h y los tubos fueron congelados inmediatamente a -80°C y después liofilizados para determinar el perfil lipídico mediante cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los AG y GC-MS de sus derivados 4,4-dimetiloxazolinicos (Toral et al., 2010).

Los resultados se analizaron mediante ANOVA utilizando el procedimiento MIXED del SAS 9.4 (SAS Inst. Inc., EE. UU.). El modelo incluyó los efectos fijos de la especie, el tratamiento y su interacción. La tanda de incubación y el inóculo anidado a la especie se incluyeron como efectos aleatorios. Las medias se compararon con la opción *pdiff* de la sentencia *lsmeans* del procedimiento MIXED, incluyendo el ajuste de Bonferroni.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la Tabla 1, el DHA inhibió la acumulación de 18:0, producto final de la BH de los AG de 18 C de forma similar en vacas y ovejas, pero el aumento de la concentración de t11-18:1, principal metabolito intermedio 18:1 en el contenido digestivo, fue mayor en el vacuno (+76%) que en el ovino (+64%). Por el contrario, la suma de otros *trans*

18:1 minoritarios, que mostraron un patrón de respuesta al tratamiento muy similar, se incrementó de forma más pronunciada en las ovejas. Esto sugiere mayores alteraciones en las rutas de BH en esta especie e implicaría que, en las mismas condiciones de alimentación, la microbiota del rumen de los pequeños rumiantes podría ser más sensible que la del vacuno a los lípidos ricos en AG poliinsaturados n-3. Aunque a priori estos resultados parezcan inesperados, coinciden con los observados en la comparación de vacas y cabras alimentadas con aceite de pescado (Toral et al., 2016) y podrían estar relacionados con el síndrome de baja grasa en la leche en pequeños rumiantes que reciben lípidos marinos (Toral et al., 2015, 2016). Es importante tener en cuenta que ovejas y cabras apenas responden a otras estrategias nutricionales que provocan este síndrome en vacas (p. ej., la suplementación con aceites vegetales; Shingfield et al., 2013). Para apoyar la implicación de estos metabolitos, cabría destacar que algunos otros asociados previamente con la depresión de la grasa (Kairenius et al., 2015; Toral et al., 2015) aumentaron de forma similar en ambas especies, como es el caso del c11- y el t10-18:1 y, probablemente, el t10c15-18:2 (que coeluye con el t11c15-18:2 en nuestras condiciones cromatográficas). Como se esperaba, la concentración de t10c12-CLA, el único AG con actividad antilipogénica demostrada (Shingfield et al., 2013), no se vio afectada por el tratamiento.

**Tabla 1.** Efecto del DHA sobre la concentración de los principales ácidos grasos de 18 carbonos (g/100 g AG) tras 24 h de incubación con inóculo ruminal de vacas y ovejas.

	Vacas		Ovejas		eed <sup>1</sup>	P		
	Control	DHA	Control	DHA		Sp	T	Sp×T
18:0	53,22	32,68	55,80	37,47	2,174	0,054	<0,001	0,499
10-oxo-18:0	0,45	0,51	0,10	0,15	0,023	<0,001	0,009	0,797
13-oxo-18:0	0,66 <sup>A</sup>	0,40 <sup>B</sup>	0,17 <sup>C</sup>	0,13 <sup>C</sup>	0,035	0,001	<0,001	0,002
16-oxo-18:0	0,76 <sup>A</sup>	0,53 <sup>B</sup>	0,26 <sup>C</sup>	0,23 <sup>C</sup>	0,060	0,002	<0,001	<0,001
c9-18:1	1,90	3,06	1,87	2,70	0,270	0,334	0,002	0,421
c11-18:1	0,36	0,61	0,25	0,50	0,048	0,098	0,001	0,962
Σ otros cis 18:1 <sup>2</sup>	0,42 <sup>b</sup>	0,55 <sup>ab</sup>	0,44 <sup>b</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,032	0,060	0,001	0,061
t10-18:1	0,31 <sup>b</sup>	0,96 <sup>a</sup>	0,24 <sup>b</sup>	1,03 <sup>a</sup>	0,060	0,960	<0,001	0,053
t11-18:1	5,36 <sup>B</sup>	9,43 <sup>A</sup>	3,93 <sup>C</sup>	6,46 <sup>B</sup>	0,446	0,001	<0,001	0,042
Σ otros trans 18:1 <sup>3</sup>	2,84 <sup>C</sup>	4,63 <sup>B</sup>	2,67 <sup>C</sup>	5,83 <sup>A</sup>	0,234	0,073	<0,001	0,002
c7c12-18:2	0,004	0,010	0,003	0,015	0,0022	0,291	0,002	0,105
c9c12-18:2	1,32	0,80	1,12	0,84	0,128	0,409	0,002	0,234
c9t12-18:2	0,02	0,04	0,01	0,03	0,005	0,187	0,001	0,500
c9t13-18:2	0,05	0,10	0,04	0,08	0,008	0,029	<0,001	0,313
t9c12-18:2	0,03	0,09	0,04	0,08	0,011	0,813	0,002	0,503
t11c15-18:2 <sup>4</sup>	0,16	0,63	0,10	0,40	0,070	0,026	<0,001	0,133
t9t12-18:2	0,02 <sup>C</sup>	0,08 <sup>A</sup>	0,02 <sup>C</sup>	0,06 <sup>B</sup>	0,005	0,022	<0,001	0,026
t9t14-18:2	0,01	0,02	0,01	0,02	0,003	0,152	0,010	0,285
t10t14-18:2	0,02	0,04	0,03	0,04	0,006	0,544	0,007	0,982
c9t11-CLA	0,13	0,14	0,11	0,11	0,014	0,148	0,755	0,441
c11t13-CLA	0,005	0,005	0,007	0,004	0,0012	0,478	0,254	0,296
t10c12-CLA	0,01	0,02	0,03	0,02	0,005	0,051	0,656	0,190
Σ t,t-CLA <sup>5</sup>	0,118	0,107	0,098	0,084	0,002	0,005	<0,001	0,485
18:3n-3	0,28	0,10	0,21	0,11	0,037	0,247	<0,001	0,132

<sup>A-C</sup>Para cada AG, diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $P<0,05$ ) o una tendencia a la significación (en minúsculas;  $P<0,10$ ) para el efecto de la interacción especie (Sp)×tratamiento (T).

<sup>1</sup>Error estándar de la diferencia. <sup>2</sup>Suma de c12-, c13-, c15- y c16-18:1. <sup>3</sup>Suma de t4-, t5-, t6+7+8-, t9-, t12-, t13-, t15- y t16-18:1. <sup>4</sup>Coeluye con t10c15-18:2. <sup>5</sup>Suma de 7,9-, 8,10-, 9,11- y 11,13-CLA.

Los aumentos del *c*9- y *c*11-18:1 en ambas especies, y de la suma de isómeros minoritarios *cis* 18:1 en ovejas, sugieren que el DHA también podría impedir su saturación completa en el rumen (Boeckeaert et al., 2008). Asimismo, la hidrogenación de los metabolitos intermedios 18:2 (p. ej., *c*9*t*13-, *t*11*c*15-, *t*9*t*14- y *t*10*t*14-18:2) podría estar limitada por este AG n-3 en ambas especies. Estos resultados sugieren un efecto específico sobre ambos pasos de la BH, al no explicarse por una inhibición general del proceso (como la ejercida por algunos taninos; Carreño et al., 2015), pues las concentraciones de 18:2n-6 y 18:3n-3 disminuyeron en el contenido digestivo del tratamiento DHA. En este sentido, resulta destacable que no hubiera diferencias relevantes en la abundancia de los isómeros del CLA, observándose p. ej. un porcentaje bajo y estable de *c*9*t*11-CLA en vacas y ovejas, que contrasta con las variaciones de su precursor para la desaturación mamaria (*t*11-18:1). Esto apoya la hipótesis de que las diferencias entre especies en el efecto de los lípidos marinos sobre la concentración láctea de ácido ruménico sería independiente de su flujo ruminal (Bichi et al., 2013; Shingfield et al., 2013; Toral et al., 2015).

De acuerdo con la concentración de cetoácidos (p. ej., 13-oxo-18:0), la hidratación (una ruta metabólica alternativa a la BH) se vio afectada por el DHA solo en el vacuno, lo que encaja con las diferencias interespecíficas en las bacterias ruminales capaces de hidratar los AG (Hudson et al., 2000). El cetoácido más abundante en ambas especies fue el 16-oxo-18:0, si bien raramente se cuantifica, probablemente por su elución al final del cromatograma.

En conclusión, aunque el efecto inhibitorio del DHA sobre el último paso de la BH ruminal es similar en vacas y ovejas, la acumulación de *t*11-18:1 resulta más acusada en el vacuno y las rutas alternativas de BH se favorecen en mayor medida en el ovino, lo que podría derivar de diferencias en la composición de su microbiota ruminal. Además de impedir la saturación completa de los *trans* 18:1, el DHA inhibe la hidrogenación de los metabolitos intermedios *cis* 18:1 y 18:2 y, en el bovino, también parece afectar al proceso de hidratación.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bichi, E., et al. 2013. J. Dairy Sci. 96: 524-532.
- Boeckeaert, C., et al. 2008. Appl. Environ. Microbiol. 74: 6923-6930
- Carreño, D., et al. 2015. Anim. Feed Sci. Technol. 210: 66-73.
- Frutos, P., et al. 2014. J. Dairy Sci. 97: 1036-1046.
- Hudson, J.A., et al. 2000. J. Appl. Microbiol. 88: 286-292.
- Kairenius, P., et al. 2015. J. Dairy Sci. 98: 5653-5672.
- Or-Rashid, M.M., et al. 2008. J. Anim. Sci. 86: 187-196.
- Shingfield, K.J., et al. 2013. Animal 7: 132-162.
- Toral, P.G., et al. 2010. J. Dairy Sci. 93: 4804-4817.
- Toral, P.G., et al. 2015. J. Dairy Sci. 98: 7277-7297.
- Toral, P.G., et al. 2016. J. Dairy Sci. 99: 301-316.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte de los proyectos AGL2014-54587 (MINECO, cofinanciado por el FSE) y PIE201540E104 (CSIC). P.G. Toral disfruta de un contrato Ramón y Cajal y D. Carreño de uno predoctoral FPI, ambos del MINECO con FSE. Dedicado a la memoria de nuestro maestro y amigo Kevin J. Shingfield.

#### EFFECT OF DHA ON *IN VITRO* RUMINAL BIOHYDROGENATION OF 18-CARBON FATTY ACIDS: COMPARISON IN COWS AND EWES

**ABSTRACT:** Despite the established differences in ruminal biohydrogenation (BH) between cows and small ruminants fed vegetable oils, it has been suggested that differences would be less clear when it comes to marine lipids (rich in very long-chain n-3 PUFA). Thus, this study was conducted simultaneously in bovine and ovine to compare the *in vitro* BH of C18 fatty acids (FA) to 22:6n-3 (DHA). Batch cultures of rumen microorganisms were carried out using cannulated cows and ewes as inocula donors, and DHA was added at a dose of 2% incubated DM. Although DHA had a similar impact on 18:0 accumulation in cows and sheep, greater increases in *t*11-18:1 concentration were found in bovine, whereas alternative BH pathways that lead to the accumulation of minor *trans* 18:1 isomers were further promoted in ewes. These relevant specificities may probably derive from interspecies differences in rumen microbial composition. The saturation of *cis* 18:1 and 18:2 isomers was also inhibited in both species. Changes in oxo-FA concentrations suggested that ruminal hydration (an alternative metabolic pathway to BH) was affected to a different extent in cows and ewes.

**Keywords:** cattle, sheep, ruminal lipid metabolism, *trans* fatty acid.

## **SUPLEMENTACIÓN EN MELAZA CRISTALIZADA COMO ALTERNATIVA AL EMPLEO DE SUPLEMENTOS GRANULADOS PARA LA MEJORA DEL PERIPARTO DE CAPRINO LECHERO**

Martín-García A.I, Guerrero M., Belanche A. y Yáñez-Ruiz D.

Dpto. de Bioquímica y Fisiología de la Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC). C/Profesor Albareda, 1, 18008, Granada, España. [ignacio.martin@eez.csic.es](mailto:ignacio.martin@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. Pero su rentabilidad se enfrenta a amenazas derivadas, entre otras causas, del precio de la leche, los costes de alimentación y de problemas sanitarios. Entre estos últimos son de especial relevancia los que tienen lugar durante el periparto, concretamente entre las 3 semanas antes y después del parto, que es cuando se producen bruscos cambios oxidativos que hacen a las gestantes más propensas a contraer enfermedades metabólicas, como la cetosis y la hipocalcemia, o infecciosas, como la mastitis (Landau et al., 1997). La solución a estos problemas pasa a menudo por la administración de suplementos nutricionales capaces de aportar tanto energía extra como proteínas, carbohidratos, minerales y vitaminas de alta disponibilidad que favorecen el mantenimiento de un adecuado sistema antioxidante y estimulan la microbiota ruminal, en función de obtener mejores parideras. Además el plano de ingesta de energía y proteína durante el parto de caprino tiene un claro efecto sobre las características de la subsiguiente lactación (Sahlu et al., 1995). No obstante, existen distintos tipos de suplementos que tanto en función de su composición como por la forma en que son administrados (líquido, melazas de distintas consistencias, granulados, harinas, etc.) pueden condicionar su ingesta y, en consecuencia, su eficacia (Bowman y Sowell, 1997).

Crystalyx Extra Energy es un suplemento en matriz de melaza de caña de azúcar deshidratada mediante un proceso patentado de cristalización, cuya presentación es en cubos (22,5 kg), para ser lamido a demanda del animal.

El objetivo de este trabajo fue el estudio comparativo de Crystalyx Extra Energy frente a un suplemento nutricional comercial en forma de granulado. Ambos productos están específicamente indicados para la mejora del estado metabólico del animal durante el periparto. Para ello se estudió tanto la evolución del peso de madres y cabritos como la producción y la calidad de la leche durante los primeros 6 meses de lactación.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Un total de 92 cabras multíparas de raza murciano-granadina, que formaban parte de un lote homogéneo en peso y número de partos previos, fueron divididas al azar en dos grupos iguales en el día 40 antes de la fecha probable de parto. Los grupos estuvieron alojados en parques contiguos, fueron sometidos al mismo manejo y recibieron idéntica dieta a excepción del suplemento nutricional comercial para la protección del periparto. Siguiendo las recomendaciones de los respectivos fabricantes, un grupo recibió en la ración 50 g/cabra/día de un suplemento granulado comercial (grupo Control), mientras que el otro grupo tuvo libre acceso durante todo el día a bloques de Crystalyx Extra High Energy (grupo Crystalyx). Los ingredientes de formulación del suplemento Crystalyx fueron: melazas deshidratadas, ácido graso vegetal, carbonato cálcico, fosfato monocálcico y harina de torta de soja. Los ingredientes del suplemento Control fueron: cebada, harina de extracción de soja tostada, pulpa de remolacha, salvado de trigo, maíz modificado genéticamente, carbonato de calcio, sal mineral, fosfato bicálcico, bicarbonato sódico. La composición química de los suplementos está reflejada en la Tabla 1. Ambos productos fueron suministrados hasta el día 15 post-parto, momento en el que los grupos son fusionados en uno sólo para recibir un manejo común.

La ingesta media diaria de Crystalyx fue registrada en cada grupo, así como el peso de los animales 40 días antes y 15 días después del parto. Las crías fueron retiradas de las madres tras el parto, encalostradas y alimentadas con una amamantadora artificial. Se anotó el peso de las mismas al nacimiento y 28 días después, edad habitual de sacrificio para venta como cabrito lechal de esta raza. La lactación fue monitorizada hasta el sexto mes mediante el registro mensual de la producción de leche y el análisis de muestras de la misma (grasa total, proteína, lactosa, extracto seco y células somáticas) mediante espectroscopía IR (analizador CombiScope™ FTIR 600 Dairy, Delta Instruments).

**Tabla 1.** Composición química de los suplementos nutricionales

	Control	Crystalyx
Proteína bruta, %	18,0	12,0
Grasa bruta, %	2,40	14,0
Cenizas, %	7,50	17,5
Energía <sup>1</sup> , UFL/kg	0,75	1,06
Vitamina A, UI/kg	15.000	100.000
Vitamina D3, UI/kg	3.000	20.000
Vitamina E, mg/kg	50	1.000

<sup>1</sup>Valor energético en unidades forrajeras leche

Los datos de peso de los animales fueron analizados mediante ANOVA. Para los datos de producción y composición de leche se utilizó un modelo lineal general mediante el procedimiento de medidas repetidas en el tiempo, empleando como covariables los valores medios correspondientes para cada parámetro obtenidos en lactaciones anteriores. Se empleó la menor diferencia significativa para el ajuste del intervalo de confianza de comparaciones entre suplementos como efecto principal. Se establecieron valores de  $P < 0,05$  para considerar diferencias significativas, y  $P < 0,10$  como tendencia.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ingesta media diaria de Crystalyx por animal fue decreciendo desde los 70 g (40 días antes del parto) hasta los 10 g (15 d después del parto), lo que hace suponer que los animales regulan su consumo en función de la demanda energética, ya que la fracción de concentrado de la dieta fue aumentando a razón de 100 g/cabra/semana (con una base de 500 g/d 40 d antes del parto) hasta alcanzar 1,5 kg/cabra/d en las semanas posteriores al parto. El consumo medio diario de Crystalyx fue de 35,8 g/cabra, cifra incluida en el rango (30-70 g/d) indicado por el fabricante para conseguir el efecto deseado. Los animales del grupo Control consumieron los 50 g/cabra/d que se ofrecieron.

No existieron diferencias en cuanto al número de partos que ambos grupos tuvieron con anterioridad al estudio (Tabla 2). Tampoco existieron diferencias en cuanto al peso de las madres al principio del tratamiento ni al final del mismo. De igual manera, las crías procedentes de ambos tratamientos tuvieron similar peso vivo tanto al nacimiento como a los 28 d de vida. Teniendo en cuenta el número de cabras que por dejar de ser rentables (baja producción) fueron retiradas antes del final del estudio (mes sexto de lactación), el número de días en lactación por animal fue similar para ambos grupos ( $P=0,25$ ).

**Tabla 2.** Pesos de cabras y cabritos y longitud de la lactación según el suplemento

	Crystalyx	Control	EEM	P Valor
Nº Partos	3,24	2,89	0,17	0,30
Peso Preparto, kg	52,8	52,5	8,4	0,88
Peso 1 mes Postparto, kg	43,7	44,0	6,5	0,60
Peso cabrito al nacimiento, kg	2,33	2,33	0,06	0,96
Peso cabrito tras 28 días, kg	7,99	8,16	0,15	0,57
Longitud lactación, días	147	158	4	0,25

En cuanto a las características de la lactación, de manera aleatoria el grupo Control presentó una lactación previa con una tendencia clara ( $P=0,06$ ) a ser mayor (2,11 frente a 1,95 kg/cabra/día, respectivamente para los grupos Control y Crystalyx. Datos no presentados). Dicha tendencia se observó igualmente durante los dos primeros controles lecheros de este estudio, indicando quizás un mayor potencial lechero de los animales asignados al grupo Control. A pesar de ello la producción de leche en ambos grupos, considerada hasta el sexto mes de lactación, resultó equivalente (Tabla 3,  $P=0,81$ ). En el caso del porcentaje en grasa de la leche, este fue superior para el tratamiento con Crystalyx

durante los tres primeros controles de la lactación ( $P=0,045$ ), aunque el análisis general de diferencias a lo largo del estudio no resultó significativo ( $P=0,33$ ). Los contenidos en proteína, lactosa y sólidos totales no se vieron afectados a lo largo del estudio ( $P>0,05$ ). Las tendencias que se observaron en la interacción Suplemento x Tiempo para la proteína ( $P=0,08$ ) y el extracto seco ( $P<0,10$ ) podrían atribuirse a un mayor contenido para Crystalyx ( $P<0,05$ , datos no incluidos) en proteína en el mes tercero y del extracto seco durante el primer trimestre. El contenido de células somáticas en la leche fue igual ( $P=0,85$ ). Tanto la producción de la leche como los distintos parámetros de composición analizados sufrieron las variaciones ( $P\leq 0,06$ ) en el tiempo propias de la curva de lactación de caprino.

**Tabla 3.** Características de la lactación según el suplemento (S) y el tiempo (T).

	Control	Crystalyx	EEM <sup>1</sup>	P valor		
				Suplemento	Tiempo	SxT
Producción de leche, kg	2,57	2,54	0,12	0,81	0,06	0,12
Grasa, %	5,13	5,24	0,11	0,33	0,01	0,07
Proteína, %	3,56	3,56	0,04	0,97	0,06	0,08
Lactosa, %	4,73	4,77	0,03	0,20	0,01	0,34
Extracto seco, %	14,2	14,4	0,1	0,12	0,04	0,10
Células somáticas x1000/ml	1485	1547	336	0,85	0,001	0,19

El coste total de la suplementación de 55 días de duración fue de 3,15 €/cabra para el grupo Crystalyx frente a los 4,16 €/cabra para el producto comercial Control. Como conclusión cabe señalar la idoneidad de Crystalyx como alternativa, dadas las escasas diferencias observadas entre ambos productos. Además de un coste económico menor, la ventaja del empleo de Crystalyx puede derivarse de la mayor facilidad de manejo, al no ser necesario su administración diaria. Asimismo Crystalyx supone el beneficio adicional de estar disponible para los animales a lo largo de todo el día y poder ser consumido a demanda, evitándose fenómenos de competencia en la ingesta selectiva de determinados componentes de la ración como puedan ser los suplementos granulados.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bowman, J.G.P. & Sowell, B.F. 1997. J Anim Sci 75:543–550.
- Landau, S., et al. 1997. Recent Advances In Goat Research 59-70.
- Sahlu, S., et al. 1995. J Dairy Sci 78: 378-387.

Agradecimientos Trabajo financiado por Crystalyx Products GmbH (Alemania)

#### CRYSTALLIZED MOLASSES BASED SUPPLEMENTATION AS AN ALTERNATIVE TO PELLETIZED SUPPLEMENTATION FOR THE IMPROVEMENT OF DAIRY GOAT PERIPARTUM

**ABSTRACT:** A comparative study was conducted using two groups of Murciano-granadina goats ( $n=46$ ) receiving Crystalyx Extra Energy (Crystalyx), which is a supplement made with crystallized molasses, or a commercial pelletized supplement (Control) to improve their late pregnancy and post-partum performance and the effect on the characteristics of the subsequent lactation. There were no differences in the live weight evolution of both the dams (prepartum and 15 d after parturition) neither their offspring (birth to 40 d after). Over the six first months of lactation, the milk production was similar for both groups, but a higher concentration of milk fat and dry extract in the Crystalyx group during the first lactation trimester was observed. The lack of major differences observed makes of Crystalyx a suitable alternative of easier use and lower cost than the other commercial supplement studied. Additionally this strategy provides to the animal the continued free access to the supplement and the auto-regulation of its consumption.

**Keywords:** dairy goats, prepartum nutritional supplements, milk production, milk composition

## RESPUESTAS DE LAS CABRAS LECHERAS A LA SUPLEMENTACIÓN CON L-CARNITINA EN CONDICIONES DE ESTRÉS POR CALOR

Mehaba<sup>1</sup>, N., Salama<sup>1</sup>, A. A. K., Such, X., y Caja<sup>1</sup> G.

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Rumiantes (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Barcelona, España. ahmed.salama@uab.es

### INTRODUCCIÓN

Las cabras lecheras lactantes exhiben varias respuestas al estrés por calor incluyendo una reducción voluntaria de la ingestión, así como reducción en la producción de leche, grasa, proteína y caseína de leche. El estrés por calor compromete la producción animal, al alterar el metabolismo y la jerarquía de la utilización de nutrientes (Sanz Fernandez et al., 2015). Además, dicho estrés tiene un efecto directo sobre la glándula mamaria, ya que altera la expresión de los genes relacionados con la síntesis de proteína y grasa (Salama et al., 2015) y la actividad celular (Cowley et al. (2015). Los resultados obtenidos parecen indicar que las vacas (Baumgard y Rhoads, 2013) y cabras (Salama et al., 2014) estresadas por calor no movilizan la grasa corporal, a pesar de la bajada significativa en la ingestión y el balance energético negativo. Este hecho hace pensar que el animal estresado por calor no es capaz de utilizar los ácidos grasos como fuente energética. La L-carnitina tiene 2 papeles principales: el papel de “transportador” de los ácidos grasos de cadena larga para su  $\beta$ -oxidación, y el papel de “tampón” para la modulación de la acil-CoA / CoA y los efectos tóxicos de los grupos acilo mal metabolizados (Vaz y Wanders, 2002).

El objetivo del presente estudio fue determinar la degradabilidad de la L-carnitina (CAR) protegida contra la degradación en el rumen, y determinar la influencia de la suplementación con L-carnitina en las respuestas productivas y fisiológicas en cabras lecheras en condiciones de estrés por calor.

### MATERIAL Y MÉTODOS

La degradabilidad ruminal de la L-carnitina se determinó mediante la técnica *in situ* utilizando bolsas de nylon con 5 g de L-carnitina en una vaca seca canulada. Los tiempos de incubación fueron 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48 y 72 h según Ørskov y McDonald (1979). La L-carnitina se evaluó dos veces con una dieta 100% de heno de alfalfa ad libitum (MS, 92,4%; PB, 18,8%; FB, 25,0%; 107 FND, 35,9%; y FAD, 27,1%; sobre MS) o 20% de heno de alfalfa y 80% de concentrado (Cebada 31,5%, Maíz 41,5%, torta de soja 44,5%, bicarbonato de sodio 1%, calcio, 109 fosfato 0,4%, carbonato de calcio 0,5%, sal 0,7%, premix 0,4%; sobre materia fresca).

Se utilizaron cuatro cabras lecheras multíparas de la raza Murciano-granadina (134  $\pm$  2 Día En Lactación), 2,48  $\pm$  0,02 l leche/d y 46,1  $\pm$  0,5 kg de peso vivo), previamente adaptadas a jaulas metabólicas. Las cajas se alojaron en una cámara climática (4  $\times$  6.2  $\times$  3.6 m; ETS Lindgren-Euroshield Oy, Eura, Finlandia), equipada con un calentador Airlan y humidificador Hygrometrik (Carel Control Ibérica, Barcelona) con una renovación continua de aire de 90 m<sup>3</sup>/h, o en el interior de una nave ganadera aislada.

El diseño experimental fue un cuadrado latino 4  $\times$  4 con 4 períodos; 16 d cada uno (adaptación: 11 d, medidas: 5 d). Las cabras fueron asignadas a uno de los 4 tratamientos en un arreglo factorial 2  $\times$  2. Los factores fueron:

- Ración: control (CON) vs. suplementación con 1 g de L-carnitina (CAR),
- Ambiente: termo neutro (TN, 17,4  $\pm$  0,5°C; humedad 62  $\pm$  5% (Índice de Temperatura Humedad ITH = 63) o el estrés por calor (EC, de 9 a 21 h a 35°C y de 21 a 9 h a 28°C con 45  $\pm$  5% de humedad relativa, ITH = 84 y 75 durante el día y la noche, respectivamente).

Las cabras recibieron una ración total mezclada (70 % forraje y 30 % concentrado) y agua a voluntad. Asimismo, se ordeñaron 2 veces al día (8 y 17h) y diariamente se registró la ingesta de alimento, el consumo de agua, la temperatura rectal y la tasa de respiración. La composición de la leche (grasa, proteína, lactosa) se evaluó 2 días durante el período de medición.

Se recogieron muestras de sangre en el último día de cada período de medición desde la vena yugular en vacutainers de 10 mL con K2-EDTA (BD Diagnostics, Franklin Lakes, Nueva Jersey) en ayunas y antes del ordeño. El plasma se obtuvo por centrifugación de



sangre durante 15 min a 1500xg, y se almacenó a -20°C. Se determinaron las fracciones de carnitina en sangre (carnitina libre, acetyl carnitina y carnitina total) mediante una extracción en fase casi-sólida sin reacciones de derivación mediante cromatografía líquida en fase normal y espectrometría de masas en tándem por ionización por electrólisis (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania) según Hirche et al. (2009).

Los datos se analizaron mediante el PROC MIXED para medidas repetidas de SAS. El modelo estadístico mixto contenía los efectos fijos de la temperatura, la suplementación, el período y sus interacciones; El efecto aleatorio del animal; y el error residual.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La degradabilidad efectiva de materia seca de la L-carnitina en el rumen a 16 h fue mayor en la ración 100% forraje comparada con la ración 20% forraje (85,8 vs. 72,8%). Resultados opuestos fueron encontrados para la degradabilidad de la proteína bruta (85,6 vs. 95,4%). Además, para la ración de 20% forraje la degradabilidad de la proteína bruta fue 85% a las 2 h y aumentó ( $P < 0,05$ ) a 99% a las 72 h.

La ingestión disminuyó en un 26% debido al estrés por calor (1,90 vs. 2,58 kg/d,  $P < 0,001$ , Tabla 1). Como era de esperar, las cabras EC tuvieron valores más altos de temperatura rectal y frecuencia respiratoria ( $P < 0,01$ ) que las cabras TN (Tabla 1). La producción de leche tendió a disminuir en un 11% en cabras expuestas a EC (1,63 kg/d) en comparación con las cabras TN (1,84 kg/d) ( $P < 0,06$ ). Esta reducción fue similar a lo observado por Hamzaoui et al (2013) en cabras lecheras bajo EC a mitad de lactación. La composición de la leche también se vio afectada por la alta temperatura ambiente. Las cabras de EC produjeron leche con menos grasa, proteínas y lactosa que las cabras TN.

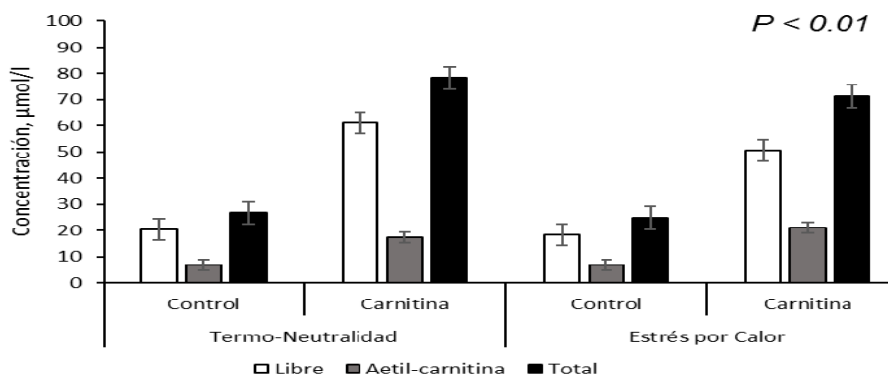
**Tabla 1.** Respuestas de las cabras lecheras bajo condiciones termo-neutras (TN) o estrés por calor (EC). Las cabras en ambas condiciones ambientales fueron alimentadas con una ración control (CON) o suplementada con 1 g de L-carnitina (CAR).

Ítem	TN		EC		e.e.	P-valor		
	CON	CAR	CON	CAR		EC	CAR	EC×CAR
Ingestión, kg/d	2,60	2,56	1,85	1,95	0,16	0,01	0,98	0,90
Leche, kg/d	1,90	1,80	1,59	1,69	0,14	0,06	0,96	0,73
Composición de leche								
Grasa, %	4,33	4,21	4,02	3,96	0,20	0,08	0,73	0,98
Proteína, %	3,51	3,54	3,14	3,22	0,20	0,05	0,95	0,99
Lactosa, %	4,64	4,65	4,47	4,47	0,06	0,01	0,99	0,79
Temperatura rectal, °C	38,8	38,6	39,9	39,8	0,07	0,01	0,51	0,73
Ritmo respiratorio, r/m	38	38	123	121	3	0,01	0,88	0,81

La suplementación con carnitina no afectó la ingestión, de acuerdo con los resultados en ovino suplementado con 100 mg/d de L-carnitina (Foroozandeh et al., 2014). La suplementación con CAR no tuvo ningún efecto sobre la temperatura rectal y frecuencia respiratoria. La suplementación con CAR no afectó ni la producción ni la composición de la leche, lo que concuerda con los resultados de LaCount et al. (1995) y Carlson et al. (2007) en vacas lecheras en condiciones TN.

Las concentraciones de L-carnitina libre disminuyeron numéricamente ( $P < 0,13$ ) por EC (-14% en promedio) y parece que esta carnitina libre se transformó en acetyl-carnitina (los grupos EC tuvieron más 16% de acetyl-carnitina) (Figura 1). Las concentraciones de carnitina libre, acetyl y total en la sangre fueron casi triplicadas ( $P < 0,001$ ) por la suplementación con CAR en las cabras TN y EC, a pesar de la alta degradación ruminal observada. LaCount et al. (1995) indicaron que las concentraciones de carnitina en plasma e hígado aumentaron cuando se administró L-carnitina en el rumen o en el abomaso. Los niveles basales de L-carnitina libre observados en nuestras cabras (19,4  $\mu\text{mol/l}$  en promedio) fueron menores que los reportados en vacas lecheras (63,5  $\mu\text{mol/l}$ ; LaCount et al., 1995).

En conclusión, la L-carnitina suplementada a las cabras fue absorbida, pero no hubo efectos sobre la producción de leche bajo condiciones de termo-neutralidad o estrés por calor.



**Figura 1.** Las diferentes fracciones de L-carnitina en plasma de cabras lecheras bajo condiciones de termo neutral (TN) o de estrés por calor (EC)

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baumgard, L.H., Rhoads, R.P. 2013. Annual Rev. Anim. Biosci. 1: 311–337.
- Carlson, D. B., McFadden, J. W., D'Angelo, A., Woodworth, J. C., & Drackley, J. K. 2007. J. Dairy Sci. 90: 3422–3441.
- Cowley, F. C., Barber, D.G., Houlihan, A.V., & Poppi, D.P. 2015. J. Dairy Sci. 98: 2356-2368.
- Foroozandeh, A. D., Amini, H.R., & Nasrollahi, S.M. 2014. Livest. Sci. 164: 67–71.
- Hamzaoui, S., Salama, A.A.K., Caja, G., Albanell, E. Such, & X. 2013. ADSA-ASAS Annual Meeting.
- Hirche, F., Fischer, M., Keller, J., & Eder, K. 2009. J. Chromatogr. B. 877: 2158–2162.
- LaCount, D.W., Drackley, J.K., & Weigel, D.J. 1995. J. Dairy Sci. 78: 1824–1836.
- Ørskov ER and McDonald I 1979. J. Agri. Sci. 92: 499-503.
- Salama, A.A.K., G. Caja, S. Hamzaoui, B. Badaoui, A. Castro-Costa, D.E. Façanha, M.M. Guilhermino, and R. Bozzi. 2014. Small Rumin. Res. 121:73–79.
- Salama, A.A.K., M. Duque, K. Shahzad, and J.J. Loor. 2015. J. Dairy Sci. 98 (E-Suppl. 1):538.
- Sanz Fernandez, V. M., Johnson, J. S., Abuajamieh, Seibert, J. T., & West, J.W. 2003. J. Dairy Sci. 86: 2131–2144.
- Vaz, F., Wanders, R. 2002. Biochem. J. 429: 417–429.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2013-44061-R).

### RESPONSE OF DAIRY GOATS UNDER HEAT STRESS CONDITIONS TO DIETARY L-CARNITINE SUPPLEMENTATION

**BSTRACT:** To assess the effects of rumen-protected L-carnitine, 4 Murciano-Granadina dairy goats (2.48±0.02 L/d milk; 46.1±0.5 kg body weight; 134±2 day in milk) were maintained in metabolic cages under 2 environmental conditions: thermo-neutral (TN; temperature humidity index, THI=59 to 65) and heat stress (HS; THI=84 day and 75 night). For each environmental condition, goats received the control (CON) diet or supplemented with 1g/d L-carnitine (CAR). The experimental design was a 4 × 4 Latin square with 4 periods of 16 d each. Milk yield tended to decrease by 11% in goats exposed to HS (1.63 kg/d) compared to TN goats (1.84 kg/d). Additionally, milk of HS goats contained lower fat, protein and lactose. L-carnitine supplementation had no effect on rectal temperature, respiratory rate, milk yield, or milk composition in TN or HS conditions. Blood carnitine fractions (free-, acetyl- and total-carnitine) increased by 300% when CAR was supplemented. In conclusion, supplemented L-carnitine to dairy goats was absorbed, but no lactational effects were observed under thermo-neutral or heat stress conditions.

**Keywords:** heat stress, dairy goat, L-carnitine.

## ¿PUEDEN LOS NUCLEÓTIDOS INCORPORADOS EN LA DIETA ACTUAR COMO MODULADORES DE LA INMUNIDAD EN EL VACUNO LECHERO?

Rodríguez-Prado, M<sup>1</sup>. Borda<sup>2</sup>, E., Sánchez, C.<sup>3</sup> y Calsamiglia, S.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNIBA) Edifici V, Campus UAB, 08913, Bellaterra, Barcelona. <sup>2</sup>Bioiberica, S.A.U. <sup>3</sup>Tauste Ganadera, España. [maria.rodriguez.prado@uab.cat](mailto:maria.rodriguez.prado@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

Los nucleótidos se consideran nutrientes semi-esenciales en circunstancias específicas, como las fases de crecimiento rápido o de ingestión limitada, estrés o inmunosupresión (Sánchez-Pozo y Gil, 2002). El efecto beneficioso de los nucleótidos se ha descrito en niños lactantes (Sánchez-Pozo y Gil, 2002) y animales jóvenes de diferentes especies (Sauer et al., 2011, Young y Batal, 2012; Ketter et al., 2012). Sin embargo, hasta ahora no existe evidencia científica del efecto potencial de los nucleótidos en los rumiantes adultos en general o en el vacuno lechero en particular.

El vacuno lechero, especialmente el de alta producción, durante el periodo de transición, se enfrenta a situaciones extremas de estrés fisiológico y nutricional. Durante esta fase, la reducida ingestión de materia seca (MS), unido al estrés del parto y la elevada demanda metabólica que se producen al inicio de la lactación, provocan un balance energético negativo que afecta a la salud, la producción y la reproducción de la vaca, así como una severa disminución de la función inmunitaria (Grummer, 1995, Goff y Horst, 1997).

En esta situación de estrés, los nucleótidos pueden ser beneficiosos para el animal. Aunque no existen datos científicos sobre el efecto de los nucleótidos en el comportamiento reproductivo del vacuno lechero, observaciones a nivel de campo sugieren que el uso de nucleótidos en la dieta, puede estar relacionado con una mejora de la supervivencia embrionaria cuando se realiza transferencia de embriones. El objetivo de este estudio fue determinar si la incorporación de nucleótidos en la dieta está relacionada con una mejora en la producción, reproducción y la respuesta inmune en vacas lecheras de alta producción.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las instalaciones de Tauste Ganadera (Tauste, España). Un total de 350 vacas (entre 21 y 150 días en leche (DEL)) fueron distribuidas en dos grupos: Control y suplementadas con nucleótidos (Nucleótidos). Las vacas consumieron una dieta estándar (17,5% PB; 31,8% FND y 1,70 Mcal/kg MS de Energía Neta de lactación), formulada para cubrir o exceder las necesidades según las recomendaciones del NRC (2001). La dieta con nucleótidos fue suplementada con 4 g/vaca/d de Nucleoforce-Cows (Bioiberica Animal Nutrition, Palafolls, Barcelona). Los nucleótidos fueron añadidos a la pre-mezcla proteína-vitaminico-mineral (2 kg/vaca/día), donde era homogeneizada e incorporada en la dieta total que se ofertaba una vez al día mediante el uso del carro unifeed. La duración total del estudio fue de 6 meses. Los datos de producción (diaria) y composición (mensual) de leche fueron registrados durante todo el periodo experimental. La producción diaria de leche se registró de forma automática al momento del ordeño. Se recogieron muestras de leche para medir el contenido de grasa y proteína mediante NIRS y recuento de células somáticas utilizando un Milkoscan. También se recolectaron datos para medir el comportamiento reproductivo de las vacas (parto - primera inseminación y parto - preñez). En la sexta semana desde el inicio de la prueba, previo a la revacunación con una mezcla de antígenos de Clostridia (Polibascal, MSD Animal Health), se recogieron muestras de sangre proveniente de 170 vacas multíparas (85 por tratamiento), con menos de 100 días en leche. Ocho semanas post-vacunación se recogieron muestras de sangre de las mismas vacas para medir niveles de inmunoglobulinas (IgG) en sangre, para evaluar la capacidad del sistema inmunitario de producir anticuerpos como respuesta vacunal, como índice de valoración de la inmunidad general. Asimismo, al momento de la primera inseminación, se recolectaron muestras de moco vaginal de 15 vacas del grupo Control y 25 vacas del grupo Nucleótidos, como índice de valoración de la inmunidad local (Singh et al., 2008). Las muestras se recogieron con un hisopo, introducidas en un tubo estéril, conservadas en PBS y congeladas hasta la medición de la concentración de IgA.

Los datos de producción y composición de leche, así como los datos de IgG e IgA fueron analizados utilizando el Proc MIXED del SAS, considerando en ambos casos a la vaca como efecto aleatorio. Los datos reproductivos fueron analizados utilizando el Proc Logistic del

SAS, mediante un análisis de Chi-cuadrado. El nivel de significación se estableció en ( $P < 0,05$ ) y tendencias cuando el  $0,05 \leq P < 0,10$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en producción y composición de leche (Tabla 1). Ambos grupos experimentales se caracterizaron por exhibir un alto nivel de producción, con un bajo tenor de grasa y un nivel normal de proteína en leche si se compara con los valores de producción y composición de las granjas típicas españolas. El elevado nivel de producción de las vacas son un indicativo del buen manejo de la granja y, que las vacas se encontraban bajo condiciones de estrés metabólico, un escenario apropiado para evaluar el efecto potencial de la suplementación con nucleótidos en el comportamiento reproductivo y de respuesta inmunitaria, cuyos valores están indicados en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Efecto de la suplementación con nucleótidos sobre los parámetros productivos, reproductivos y respuesta inmunitaria.

Parámetros	Tratamientos <sup>1</sup>		EE <sup>2</sup>	P Valor
	Control	Nucleótidos		
<i>Productivos</i>				
Producción de Leche, kg/d	43,0	42,7	0,72	0,78
Días en leche, d	89,6	86,1	2,37	0,31
Contenido de grasa, %	2,79	2,91	0,06	0,22
Contenido de proteína, %	3,15	3,11	0,02	0,20
Células somáticas (*1000/ml)	397	380	84,6	0,89
<i>Reproductivos</i>				
Fertilidad a primera inseminación, %	41,8	48,7	0,33	0,39
Días abiertos	119	113	7,49	0,52
<i>Respuesta Inmune</i>				
Diferencia IgG (post-pre vacunación), mg/ml	-2,11	0,64	1,18	0,11
Ratio IgG en sangre (post/pre vacunación)*100	92,9	104,5	4,60	0,09
IgA en moco vaginal (ng/ml)	2078	2274	65,3	0,05

<sup>1</sup> Dieta control sin suplementación; Dieta suplementada con 4 g/vaca/d de nucleótidos (Nucleoforce-Cows, Biobérica S.A.U). <sup>2</sup> Error estándar de la media

La fertilidad a la primera inseminación fue excelente (45,3%), resultando en una media de 116 días abiertos, muy superiores a los valores promedio en España de 24,6% y 155 días, respectivamente (Boletín de ANEMBE 106, marzo 2015). Aunque las diferencias en fertilidad a la primera inseminación entre el grupo Control y Nucleótidos no fueron significativas, los datos indican una mejora de 7 puntos porcentuales, que reflejan un efecto relevante de los nucleótidos en la fertilidad del vacuno lechero.

El efecto potencial de los nucleótidos en la respuesta inmunitaria general o local ha sido señalada en otras especies, y en ruminantes jóvenes (Kentler et al., 2012), pero no en el vacuno lechero en lactación. En este estudio, la respuesta inmunitaria global (niveles de IgG) fue valorada mediante la reacción a la revacunación en vacas multiparas para observar el efecto durante la fase de mayor producción y de inmunosupresión (McGuirk, 2015). Los niveles de IgG en las vacas previo a la vacunación fueron similares en ambos grupos de vacas. Sin embargo, la ratio post/pre vacunación el cual es el índice comúnmente utilizado para valorar el efecto de la revacunación en la respuesta inmunitaria tendió a ser más elevado en el grupo de vacas suplementadas con nucleótidos ( $P = 0,09$ ), lo que sugiere una mejora en la respuesta inmune de las vacas expuestas a la vacuna.

La concentración de IgA en el moco vaginal fue en promedio un 9,5% superior en las vacas suplementadas con Nucleótidos ( $P=0,05$ ), que sugieren también una mejora en la respuesta inmunitaria local. Según nuestro conocimiento, no existen datos bibliográficos del efecto de

los nucleótidos en la eficiencia reproductiva o la respuesta inmune del vacuno lechero, aunque el efecto sería comparable con los resultados observados con la suplementación con otros compuestos como son los productos a base de levadura (Bruno et al., 2009; El-Desouky, 2014), dado que los nucleótidos suministrados son obtenidos a partir de levaduras. Los resultados indican que los nucleótidos ejercen un efecto positivo en el sistema inmunitario del vacuno lechero de alta producción en situaciones de estrés y sugieren que pueden mejorar la función reproductiva.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bruno, R.G.S, Rutigliano, H.M., Cerri, R.L., Robinson, P.H. and Santos, J.E.P. 2009. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 50: 175-186
- El-Desouky A.M. 2014. Improvement of the Reproductive Performance of Dairy cows During the Transition Period. *A. J. Vet. Sci.* 41: 62-67
- Goff, J.P. and Horst, R.L. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.* 80: 1260-1268
- Grummer, R.R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.* 73: 2820-2833
- Kentler, C.A., Guzman, C., Frankel, T.L. 2012. Supplementation of hand-reared calves with nucleotides from birth to 3 weeks of age and effects on health and immunity. Pages 286–289 in: *The Proceedings of the fifth Australasian Dairy Science Symposium 2012*
- McGuirk S. M. 2015. Managing Clostridial Diseases in Cattle. Disponible en: <https://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/7health/manage-clostridial.pdf>
- Sánchez-Pozo, A. and A.Gil. 2002. Nucleotides as semiessential nutritional components. *Br. J. Nutr.* 87: S135–S137
- Sauer, M., Mosenthin, R., Bauer, E. 2011. The role of dietary nucleotides in single-stomached animals. *Nut. Research Rev.* 24: 46–59
- Singh, J., Murray, R.D., Mshelia, G., Woldehiwet, Z. 2008. The immune status of the bovine uterus during the peripartum period. *Vet. J.* 175: 301–309
- Young, B., and Batal. A.B. 2012. Effect of dietary nucleotide supplementation on performance and development of the gastrointestinal tract of broilers. *Br. Poultry Sci.* 53: 98–105.

**Agradecimientos:** Expresamos nuestro agradecimiento a Biobérica S.A.U por el soporte económico y aportación de los nucleótidos para la realización del estudio. Igualmente, a Tauste Ganadera por permitir la ejecución y recogida de muestras para llevar a cabo este experimento, así como a Miguel Nofrarias del CRESA-IRTA por el asesoramiento para la recogida y posterior análisis de IgA en las muestras de moco vaginal.

#### CAN NUCLEOTIDS USED IN THE DIET OF DIARY COWS ACT AS MODULATORS OF THE IMMUNITY?

**ABSTRACT.** The objective was to determine the effect of supplementing nucleotides on milk production, reproductive performance and immunity. Three hundred and 50 adult Holstein cows (87 d in milk) were divided in 2 groups and fed a standard diet (17.5% CP, 31.8% NDF) without (CONTROL) or with nucleotides supplement (NUCLEOFORCE-COWS, Biobierica S.A.U) at 4 g/cow/day during 6 months. Milk production and composition were measured, and days from calving to first insemination and pregnancy recorded. All cows were re-vaccinated against clostridia after 6-weeks in treatment. Serum IgG (n=170) were determined before and 8-weeks after vaccination. Vaginal mucus IgA (n=40) were determined on the insemination day at least 6-weeks after vaccination. Data were analyzed with PROC MIXED of SAS and differences declared at  $P<0.05$ . There were no differences ( $P>0.10$ ) in milk production (42.8 kg/d), milk fat (2.85%) and protein content (3.13%) or somatic cell counts (387,000 counts/mL) between treatments. However, the ratio pre-vaccination vs. post-vaccination serum IgG tended to be higher ( $P<0.09$ ) in the nucleotides (104.5) compared with CONTROL (92.9) treatment. Concentrations of IgA (ng/ml) were higher ( $P=0.05$ ) in nucleotides (2274) compared with CONTROL (2078) treatment. Results indicate that the supplementation with nucleotides improved the indicators of general and reproductive tract immunity in dairy.

**Keywords:** immunity, nucleotide, dairy cow

## ESTUDIO “IN VITRO” DEL PATRÓN DE FERMENTACIÓN COLÓNICA EN RACIONES FORRAJERAS PARA CABALLOS

Seradj, A. R., Balcells, J., Costa, S. y de la Fuente, G.  
Departament de Ciència Animal ETSEA, Universitat de Lleida. 25198 Lleida. España.  
gfuente@ca.udl.cat

### INTRODUCCIÓN

En los équidos, el elevado desarrollo del colon les permite obtener una parte importante de sus necesidades energéticas a partir de la fermentación (AGVs) de los carbohidratos fibrosos (Harris, 1999). No obstante, animales sometidos a trabajo físico o deportivo necesitan ser suplementados con algún tipo de cereal para ingerir un nivel calórico adecuado y mantener su condición física. El contenido de almidón de los cereales es elevado y suelen presentar desequilibrios en el aporte de ciertos nutrientes (p. ej. AA esenciales o vitaminas); además de una fermentación más intensa en el colon, que conlleva incrementos en ácido láctico. La fermentación microbiana en dietas concentradas con una deficiencia en fibra suele implicar un mayor ritmo de fermentación y producción de AGVs, que puede inducir colitis u otras disbiosis intestinales. En este estudio, evaluamos *in vitro* el efecto del nivel de fibra y energía sobre patrón de fermentación, utilizando para ello tres raciones comerciales, dos con un elevado aporte de fibra (Basic y Premium; BS y PR, PAS de CAVALLS SL.) y la tercera formulada con un elevado aporte de concentrado (CM; a base de 60% festuca y 40% pienso Pavo Top Sport®); los patrones de fermentación obtenidos con las raciones experimentales se compararon con aquellos registrados con forrajes (heno de alfalfa; AL) y cereales (cebada; CB).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Tres series de incubación se realizaron usando material fecal de 4 caballos como inóculo. Los contenidos fecales se mezclaron por separado con solución buffer (Theodorou *et al.*, 1994) bajo anaerobiosis a 39°C (1:2) y se filtraron, tras lo cual 80 mL por animal se incubaron con 800 mg de las raciones (sustrato) correspondientes (BS, PR, CM, AL y CB), previamente digeridas con pepsina y pancreatina (Akeson y Stahmann, 1964). En cada serie de incubación se utilizaron cuatro botellas por cada una de las raciones experimentales. Se añadieron cuatro botellas blanco (BL) con el objeto de corregir el efecto del propio inóculo sobre los parámetros fermentativos. Se tomaron medidas de presión de gas en las botellas a las 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h después del inicio de la incubación y se ajustaron a una curva (McDonald, 1981). Después de 24 h de incubación, se tomó muestra de las incubaciones para determinar pH, concentración AGVs (Jouany, 1982) y amoníaco (Chaney and Marbach, 1962). Los niveles de proteína bruta (PB), extracto etéreo (EE) y fibra neutro-detergente (FND) (% de materia seca) de las raciones experimentales pre-digeridas se analizaron mediante el Sistema Weende y van Soest (1994). Los datos obtenidos se analizaron (SAS, Cary, NC), siguiendo el siguiente modelo:  $Y = \text{Animal}_i + \text{Dieta}_j + \epsilon_{ijk}$ ; Las diferencias entre medias se compararon mediante el test de Tukey, donde valores  $p < 0,05$  se consideraron significativos.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La dieta BS (ración destinada para animales en mantenimiento) pre-digerida mostró los niveles más bajos en PB y carbohidratos no fibrosos (CNF), mientras que las dietas CM y PR presentaron valores semejantes en PB y NFC (Tabla 1). Como era de esperar, AL mostró los niveles más altos en PB tanto antes como después de la pre-digestión enzimática. Los niveles de EE en CM fueron más elevados a los obtenidos en el resto de raciones. La digestibilidad estimada fue más alta en CB que en el resto, por su alto contenido en carbohidratos no estructurales.

**Tabla 1.** Composición química de las dietas problema antes y después de su predigestión *in vitro*, y digestibilidad estimada, previa a su incubación.

	AL	BS	CB	CM	PR
<b>original</b>					
Proteína bruta	17,33	10,31	12,37	13,92	13,54
Extracto etéreo	1,06	2,07	2,07	8,59	2,12
Fibra neutro-detergente	54,06	55,01	14,72	34,02	51,31
Fibra ácido-detergente	36,52	32,77	4,92	-	39,38
Carbohidratos no fibrosos	16,07	24,21	67,37	35,42	24,61
<b>Predigerido</b>					
Proteína bruta	16	7,96	11,92	12,87	11,19
Extracto etéreo	1,38	2,58	2,2	6,71	1,76
Fibra neutro-detergente	64,94	76,83	48,31	60,2	64,51
Fibra ácido-detergente	45,7	47,74	18,02	32,24	49,72
Carbohidratos no fibrosos	12,9	9,76	31,59	15,77	17,82
<b>Digestibilidad estimada (%)</b>					
Proteína bruta	32,9	42,9	74,1	45,8	34,8
Extracto etéreo	5,3	7,8	71,4	54,2	3,5
Fibra neutro-detergente	12,6	-3,3	11,7	-3,8	0,8
Fibra ácido-detergente	9,0	-7,7	1,4	-	0,3
Carbohidratos no fibrosos	41,6	70,2	87,4	73,9	42,8

AL: Alfalfa; BS: Fórmula Basic; CB: Cebada; CM: Fórmula a base de 60% festuca y 40% pienso; PR: Fórmula Premium.

La cebada fue el alimento que produjo una mayor cantidad de gas y BS la menor (Tabla 2). El patrón de fermentación de CB fue diferente al resto de las raciones. La producción total de AGVs fue superior en CB, y no hubo diferencias entre AL, PR y CM. La dieta BS mostró las producciones más bajas de AGVs, posiblemente relacionadas con la baja proporción de CNF presentes en la ración predigerida y a un tiempo corto de fermentación (24 h). Las proporciones de acético, propiónico y butírico presentaron diferencias significativas entre las raciones, siendo las dietas CB y CM las que promovieron una fermentación más propiónica, mientras que PR, AL y BS tendieron a una más acética, que concuerda con unos niveles más altos en FAD. La fermentación microbiana de las proteínas genera como productos finales  $\text{NH}_3$  y ciertos AGVs de cadena ramificada como son los ácidos valérico e isovalérico. Los mayores niveles de  $\text{NH}_3$  se midieron en CM y AL aunque los niveles de valérico e isovalérico no difirieron a los del resto de raciones. En CB, un aporte de CNF muy alto, pero unos niveles de proteína discretos, indujeron una producción de AGVs más elevada, a costa de un pH y unos niveles de  $\text{NH}_3$  más bajos, también consecuencia de una posible mayor utilización por parte de la población microbiana. El caso opuesto fue el presentado por AL, con unos niveles muy altos en PB, pero con poca energía disponible a corto plazo, lo cual promovió una fermentación de la proteína que incrementó los niveles de  $\text{NH}_3$ , y posiblemente utilizada menos eficientemente para el crecimiento microbiano. En el resto de raciones, BS mostró a corto plazo una aparente deficiencia en energía disponible, y unos niveles de PB menores al resto, lo cual no impidió generar concentraciones de  $\text{NH}_3$  equivalentes a CB y PR. Tanto PR como CM presentaron unos niveles similares de producción de AGVs, pero tanto el patrón de fermentación como los niveles de  $\text{NH}_3$  difirieron, siendo CM la que obtuvo unos niveles superiores en  $\text{NH}_3$ . La ración PR mostró unos niveles de  $\text{NH}_3$  más reducidos, pero con una producción de AGVs al nivel de CM, lo cual sugiere que la sincronización Energía: Proteína fue más eficiente.

**Tabla 2.** Efecto del tipo de ración sobre componentes de producción de gas, concentración de los metabolitos de fermentación y perfiles (en %) de los mismos tras 24 h de incubación.

	AL	BS	CB	CM	PR	SEM	P
<b>Patrón producción gas</b>							
a	141,5 <sup>b</sup>	124,1 <sup>b</sup>	211,2 <sup>a</sup>	135,3 <sup>b</sup>	127,5 <sup>b</sup>	6,13	<0,01
b	0,049 <sup>b</sup>	0,044 <sup>b</sup>	0,093 <sup>a</sup>	0,052 <sup>b</sup>	0,06 <sup>b</sup>	0,0039	<0,01
c	1,87 <sup>a</sup>	1,41 <sup>c</sup>	1,93 <sup>a</sup>	1,48 <sup>bc</sup>	1,63 <sup>b</sup>	0,048	<0,01
pH	6,31 <sup>b</sup>	6,39 <sup>a</sup>	6,1 <sup>c</sup>	6,31 <sup>b</sup>	6,32 <sup>b</sup>	0,014	<0,01
Amoniaco (mg/L)	272,6 <sup>ab</sup>	255,9 <sup>c</sup>	250,2 <sup>c</sup>	284,5 <sup>a</sup>	261 <sup>bc</sup>	2,84	<0,01
AGV total (mM)	40,2 <sup>b</sup>	33,6 <sup>c</sup>	53,3 <sup>a</sup>	40,1 <sup>b</sup>	39,0 <sup>b</sup>	0,57	<0,01
<b>Perfiles fermentación (%)</b>							
Acético	62,4 <sup>a</sup>	61,3 <sup>a</sup>	53,3 <sup>c</sup>	57,7 <sup>b</sup>	62,1 <sup>a</sup>	0,44	<0,01
Propiónico	28,9 <sup>b</sup>	29,9 <sup>b</sup>	33,6 <sup>a</sup>	32,8 <sup>a</sup>	29,6 <sup>b</sup>	0,4	<0,01
Butírico	5,96 <sup>b</sup>	6,3 <sup>b</sup>	11,43 <sup>a</sup>	6,99 <sup>b</sup>	5,66 <sup>b</sup>	0,366	<0,01
Valérico + Isovalérico	1,67 <sup>a</sup>	1,54 <sup>a</sup>	0,99 <sup>b</sup>	1,57 <sup>a</sup>	1,36 <sup>a</sup>	0,077	<0,01

AL: Alfalfa; BS: Fórmula Basic; CB: Cebada; CM: Fórmula a base de 60% festuca y 40% pienso; PR: Fórmula Premium. Superíndices a,b,c indican diferencias entre medias (P<0,05)

Como conclusión, el estudio *in vitro* de raciones para caballos es una forma sencilla de poder estimar tanto digestibilidad como fermentabilidad de raciones diversas y que puede complementar estudios *in vivo*.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akeson, W.R., Stahmann, M.A. 1964. J. Nutr. 83, 257-261.
- Chaney, A.L., Marbach, E.P. 1962. Clin. Chem. 8, 130-132.
- Harris, P.A., Arkell, K. 1999. Eq. Vet. J. 45.
- Jouany, J.P., 1982. Sci. Aliments. 2,131-144.
- McDonald, I., 1981. J. Agric. Sci. Camb. 96, 251-256.
- Theodorou, M.K. *et al.* 1994. Anim. Feed. Sci. Technol. 48, 185-197.
- Van Soest, P.J. *et al.* 1991. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597.

#### FERMENTATION PATTERN OF FIBRE BASED DIETS FOR HORSES. AN *IN VITRO* STUDY

**ABSTRACT:** An *in vitro* study was devised to evaluate the fermentation pattern of three commercial rations, two high in fiber (BS and PR) and one high in concentrate (CM) and compare them with alfalfa (AL) and barley (CB) as fibrous and energetic feed ingredients, respectively. After the pre-digestion process of the substrates, three *in vitro* incubation series were performed using faecal material of 4 horses as inoculum. Gas pressures were measured from the bottles at intervals of 2 up to 24 hours, and then bottles were opened to determine pH, VFAs and NH<sub>3</sub> content. CB produced greater amount of gas respect to other diets studied where BS produced the lowest levels of gas. The production of VFAs was also higher in CB and no differences were seen between AL, PR and CM rations. Both CB and CM enhanced production of propionate, whereas PR, AL and BS tended to produce more acetate. Although both PR and CM rations presented similar levels of VFA production, NH<sub>3</sub> levels were higher in the latter one, which suggests more efficiency in energy:protein synchronization for the PR ration.

**Keywords:** *in vitro*, horse, fermentation pattern, feed



## **EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE DOMPERIDONA A CERDAS DURANTE EL PERIPARTO Y EN LACTACION SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA DE LECHONES LACTANTES Y LA CONDICION DE LAS MADRES**

Vicente, J.G., Loeza, R., Espinosa, M., Jácome, S., Loeza, V.M., De Gasperín L. y Pinos, J.  
Unidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.  
Miguel Ángel de Quevedo s/n esq. Yáñez s/n C.P. 91710, Veracruz. México  
rloeza@uv.mx

### **INTRODUCCIÓN**

El propósito comercial de la cerda reproductora es producir lechones, y cuanto más eficiente sea, más elevado será el margen de beneficio (Vinther, 2014). El gran reto es conseguir el mayor número posible de lechones vivos al parto. El conocimiento sobre los diversos factores que afectan a la cerda en el periodo final de la gestación así como en el comienzo de la lactación es importante, ya que parecen ser claves para poder mejorar la productividad de las cerdas actuales (hiperprolíficas). La habilidad de la cerda para producir leche, al igual que otros aspectos reproductivos, se ha logrado incrementar en la última década y las hembras de hoy son capaces de producir de 1 a 1,5 veces su peso en leche durante la lactancia (Hansen *et al.*, 2012).

Tras el parto se produce un aumento en el nivel de prolactina, hormona indispensable para la galactogénesis previa al parto; además, el estímulo de succión mantiene la producción de prolactina junto con otras hormonas secretadas por la hipófisis (Trott *et al.*, 2011). La Domperidona es un antagonista de la dopamina que se emplea en medicina humana para el tratamiento de dispepsia posprandial crónica, esofagitis por reflujo y emesis (Hutchinson *et al.*, 2002). Sin embargo, su uso en la mujer también se ha relacionado con aumentos de los niveles medios de prolactina sérica y producción de leche tras la administración de dosis simples de 20 mg (Campbell-Yeo *et al.*, 2010). También se han llevado a cabo estudios con cerdas en gestación proporcionaron este fármaco encontrando similares efectos (VanKlompberg *et al.*, 2013).

El presente trabajo tuvo como objetivo medir el efecto de la administración de Domperidona a cerdas próximas a parto y después del parto sobre las ganancias de peso de los lechones y las madres, así como sobre la condición corporal de éstas, durante el periodo de lactancia.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El experimento se llevó a cabo en la granja porcina comercial "San José" localizada en el municipio de Cuitláhuac (Veracruz, México). Se trata de una granja comercial con 700 cerdas (Landrace x Large White) de las que se utilizaron 20 con una media de 3 partos/cerda. Las reproductoras fueron asignadas según su fecha de entrada a la sala de maternidad a dos tratamientos; T1 o grupo control, que eran cerdas no tratadas (n=10) y T2 que recibieron una dosis de Domperidona de 40 mg/cerda/día (20 mg en la mañana y 20 mg en la tarde) vía oral mezclada en el alimento. La administración del fármaco duró 6 días; 3 días antes de la fecha probable del parto y 3 días después del parto. La unidad experimental fue la cerda y su camada. Todas las cerdas fueron alimentadas *ad libitum* con la misma dieta (3,26 Mcal/kg de energía metabolizable (EM) y 16% de proteína bruta (PB) en gestación y 3,26 Mcal EM/kg y 16,5% PB durante la lactancia). Las cerdas fueron pesadas a la entrada a la sala de maternidad y fue evaluada su condición corporal. Al parir se registró el número de lechones nacidos vivos, el peso individual de los lechones, realizando pesajes de todas las camadas al parto y tras el mismo (a 24 horas, 7 días, 14 días y 21 días (destete)). Las cerdas fueron de nuevo pesadas a la salida de la sala de maternidad y de nuevo se evaluó la condición corporal. El experimento se analizó como un diseño completo al azar con dos tratamientos y diez réplicas por tratamiento. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza simple a través del software estadístico Minitab V .17.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No hubo diferencias entre tratamientos ( $P>0,05$ ) en el número de lechones nacidos totales, en el número de nacidos vivos ni tampoco en la mortalidad al parto o durante la lactación (Tabla 1). Los pesos de las cerdas a la entrada a la sala de partos fueron muy similares para ambos tratamientos (210 y 208 kg para T1 y T2, respectivamente;  $P>0,05$ ) (Tabla 2). Lo mismo fue observado en los pesos de las cerdas a la salida de la sala de maternidad (184 y 192 kg, respectivamente;  $P>0,05$ ). No hubo diferencias significativas en la condición corporal de las cerdas entre tratamientos ni a la entrada en maternidad ni al destete. Las pérdidas de condición corporal no fueron mayores al 10%. De acuerdo con Kim *et al.* (2001), estas pérdidas dependen del plano nutricional que mantengan las cerdas durante la lactancia, y es que las necesidades de la madre en lactación deben ser cubiertas adecuadamente por los nutrientes de la dieta y prevenir pérdidas de peso excesivas al destete. Del mismo modo, las pérdidas de peso de las reproductoras durante el periodo de lactancia fueron similares para ambos tratamientos, no resultando mayores al 8%. Según Prunier *et al.* (2001), durante la lactación, los requerimientos para producir leche por lo general están por encima del nivel de consumo de la cerda, y la diferencia es cubierta por la movilización de tejidos maternos, por lo que el nivel de alimentación y la dieta *per se* juegan un papel primordial. Nuestros resultados demuestran que tanto el sistema de alimentación como las dietas de las cerdas durante la lactancia fueron suficientes en cantidad y composición nutricional para satisfacer los requerimientos derivados de la producción láctea sin comprometer la condición y peso de las cerdas por movilización de tejidos.

El peso de los lechones al nacimiento (Tabla 3) resultó ser similar para ambos tratamientos (1,31 y 1,44 kg para T1 y T2, respectivamente;  $P>0,05$ ). Al seguir la evolución del peso de las crías a las 24 horas y a los 7 y 14 días se observa que tampoco fueron diferentes ( $P>0,05$ ). Sin embargo, al destete, los lechones provenientes de cerdas tratadas con Domperidona fueron más pesados que los control (4,34 y 5,41 kg para T1 y T2, respectivamente;  $P<0,01$ ) y presentaron mayores ganancias medias diarias de peso (144 y 188 g/d;  $P<0,01$ , respectivamente). Esto sugiere que las cerdas que recibieron el tratamiento tuvieron mayor producción de leche aunque no puede afirmarse puesto que esta variable no fue medida. Los trabajos realizados por VanKlompbergen *et al.* (2013), con cerdas lactantes tratadas con Domperidona, mostraron claramente un aumento en los niveles de prolactina al igual que en la producción de leche, hecho que coincide con estudios realizados por Campbell-Yeo *et al.* (2010) en los que se administró dosis de 10 a 12 mg, tres veces al día (dosis muy similar a la utilizada en el presente trabajo), a mujeres lactantes comparadas con madres recibiendo un placebo. Estos autores encontraron que, durante las dos primeras semanas, la producción de leche fue similar para ambos grupos pero después del día 14 el incremento en la producción de leche en el grupo tratado se elevó al doble, mientras el grupo placebo registró aumentos del 19% que son normales de acuerdo a la curva de lactancia.

Sería necesario realizar nuevos trabajos con un mayor número de réplicas y en los que se pudiera medir la producción de leche, así como los niveles séricos de prolactina, para llegar a conclusiones más firmes. Sin embargo, en nuestras condiciones experimentales, se puede concluir que la administración de Domperidona a cerdas antes y después del parto mejora la ganancia de peso de lechones durante la lactancia produciendo crías de mayor peso al destete. La mejora en la respuesta productiva de los lechones no afectó a la pérdida de peso de las cerdas ni a su condición corporal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Campbell-Yeo M.L., *et al.* 2010. *Pediatrics* 125:107-114
- Hansen, A.V. *et al.* 2012. *J. Anim. Sci.* 90, 2285–2298.
- Hutchison TA, *et al.* 2002. *Drugdex® system* Englewood, CO: Micromedex.
- Kim, S.W. y Easter, R.A. 2001. *J. Anim. Sci.* 79:2179-2186.
- Prunier, A. C. *et al.* 2001. *Reprod Nutr Dev* 41:333-347
- Trott, J.F. *et al.* 2011. *J Anim Sci* 2012, 90:1674-1686.
- VanKlompbergen M.K. *et al.* 2013. *J. Anim. Sci.* 91:1102–1111
- Vinther, J. 2014. Danish Pig Research Centre, Copenhagen, Dinamarca.

**Tabla 1. Resultados de natalidad y mortalidad del experimento.**

Variable	Control	Domperidona	EEM	P
Nº lechones nacidos totales	11,6	12,2	0,42	0,32
Nº lechones nacidos vivos	10,9	11,6	0,36	0,18
Mortalidad lechones al parto (%)	5,72	4,82	1,09	0,62
Mortalidad lechones lactación (%)	17,1	10,69	5,29	0,40

EEM: error estándar de la media (n=10); P: valor estadístico.

**Tabla 2. Respuesta productiva de las cerdas a la administración de Domperidona durante 3 días previos y posteriores al parto.**

Variable	Control	Domperidona	EEM	P
Peso entrada en maternidad (kg)	210	208,5	9,27	0,35
Condición corporal entrada en maternidad	3,25	3,25	0,134	1,00
Peso al destete (kg)	184	192	6,85	0,42
Condición corporal al destete	3,05	3,20	0,125	0,40

EEM: error estándar de la media (n=10); P: valor estadístico.

**Tabla 3. Respuesta productiva de lechones a la administración de Domperidona a las madres durante 3 días previos y posteriores al parto.**

Variable	Control	Domperidona	EEM	P
Peso medio del lechón (kg)				
al nacimiento	1,31	1,44	0,050	0,09
a 24 h postparto	1,43	1,62	0,071	0,07
a día 7 de lactación	2,26	2,44	0,124	0,31
a día 14 de lactación	3,31	3,93	0,203	0,05
a día 21 de lactación (destete)	4,34	5,41	0,261	0,01
GMD lechones en lactación (g/d)	144	188	12,0	0,01

GMD: ganancia media diaria; EEM: error estándar de la media (n=10); P: valor estadístico.

### EFFECT OF DOMPERIDONE ADMINISTRATION TO SOWS DURING PRE PARTURATION AND LACTATION ON PRODUCTIVE SRESPONSE OF PIGLETS AND CONDITION OF SOWS

**ABSTRACT:** The aim of this study was to determine if Domperidone administration to lactating sows, allows a major milk yield measured as body weight gain of piglets, as well as body weight and body condition changes in sows from parturation to wean. 20 sows (10 control and 10 treatment) were used for this study. Treated sows were administrated with domperidone 40 mg/sow/day mixed with feed, 20 mg in the morning and 20 mg in the afternoon. Domperidone was administrated 3 day before and 3 days after parturation. Sow body weight and body condition at parturation and wean were scored. Piglets were weighed at birth, 24 hr, at day 7, 14 and at wean (21 days). Sows from both groups were fed same diet and *ad libitum*. Sows weight and body condition at delivery and wean was similar for both treatments ( $P>0.05$ ). Piglets birth weight at 24 hrs, 7, and 14 days were similar ( $P>0.05$ ). Piglets weight at wean was different ( $P<0.05$ ) as well as daily weight gain ( $p<0, 05$ ) for piglets from Domperidone treated sows. We concluded that domperidone administration to sows before and after parturation allows getting heavier litters at wean.

**Keywords:** Piglet, Domperidone, sows, weight.

## **EFFECTO DE LA INCLUSIÓN EN EL PIENSO DE UN BIOSURFACTANTE SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LA CANAL DE CERDOS DE CEBO**

Callejo<sup>1</sup>, A., Téllez<sup>2</sup>, S., López<sup>2</sup>, I., Sujka<sup>2</sup>, E. y Daza<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Agraria. ETS de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria 28040 Madrid.  
argimiro.daza@upm.es

<sup>2</sup>Lípidos Toledo (Liptosa), San Romualdo 12-14, 28037 Madrid.

### **INTRODUCCIÓN**

El objetivo primordial de la utilización de emulsionantes en ganadería es, mediante una mejora de los resultados productivos, reducir el coste de alimentación que, como es sabido, supone una fracción importante del coste total de los diversos segmentos productivos de aves y cerdos. Diversos experimentos han observado efectos positivos de la inclusión de emulsionantes en el pienso en pollos (Maertens et al., 2015; Tahir et al., 2016), en lechones recién destetados (Xing et al., 2004; Price et al., 2014) y en cerdos en crecimiento (Dierick y Decuyper, 2004). En ganado porcino, el efecto del emulsionante se traduce fundamentalmente en un aumento variable de la digestibilidad de la grasa y de la energía según edad del animal y tipo y nivel de grasa del pienso, lo que permite reducir el nivel energético del mismo y su coste (Rovers, 2013). Los protectores hepáticos comerciales están constituidos por una gama variable de compuestos destinados a mejorar la función hepática, aumentar la producción y flujo de bilis, acelerar la detoxificación orgánica, mejorar el apetito etc. En este experimento se evaluó, en cerdos en crecimiento y cebo, un aditivo comercial que incluía lisofosfolípidos unidos a varios protectores hepáticos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 122 cerdos, 53 machos y 69 hembras, de tipo genético PIC x Pietrain, que fueron pesados al principio del experimento y 56 y 96 días (sacrificio) después del comienzo del mismo. El diseño experimental observó un factorial de 2 tratamientos alimenticios (control vs experimental) x 2 sexos (machos enteros vs hembras enteras) a razón de 11 réplicas por tratamiento, 5 réplicas de machos y 6 de hembras que integraban cada una 5-6 animales por réplica. El tratamiento control observó la administración de 2 piensos convencionales basados en cereales-soja, uno de crecimiento, con el 2,04% de manteca aplicado desde el inicio del experimento hasta los 56 días, y otro de acabado, con el 2,02% de manteca aplicado desde los 57 días hasta el sacrificio. El tratamiento experimental tuvo análoga composición en materias primas que el control. Únicamente se sustituyeron en el pienso de crecimiento (por kg de alimento) 0,0080 kg de manteca por 0,0073 kg de cebada y en el pienso de acabado (por kg de alimento) 0,0007 kg de biosurfactante (DigestFast<sup>®</sup> Liptosa, Madrid) y 0,0052 kg de manteca por 0,0048 kg de cebada y 0,0004 kg de biosurfactante. Los piensos se analizaron mediante NIRS (Tabla 1).

El biosurfactante con corrector hepático estaba constituido por lisofosfolípidos y componentes botánicos. Mediante un aparato de ultrasonidos (WED-3100V) se estimaron los espesores de grasa dorsal a los 56 y 96 días (sacrificio) después del inicio del experimento. En el matadero se estimó el porcentaje de músculo de la canal mediante un aparato AUTOFOM III. Los datos recabados de peso de los cerdos y suministro de pienso, para el cálculo del crecimiento y consumo medios diarios y el índice de conversión, así como los espesores de grasa dorsal de ultrasonidos y porcentaje de músculo de la canal han sido analizados mediante análisis de covarianza que incluyó como efectos fijos el tratamiento y el sexo, la interacción entre ambos factores y el peso inicial de los cerdos como covariable. Para estudiar el efecto del tratamiento y del sexo sobre las características de la canal también se utilizaron análisis de covarianza con los precitados factores como efectos fijos, su interacción y como covariable el peso canal. La unidad experimental para el consumo medio diario de pienso e índice de transformación del alimento fue la réplica y para el resto de las variables estudiadas el cerdo. Las medias se compararon mediante el test de Newman-Keuls. Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS16.

**Tabla 1.** Composición de los piensos control y experimental (en base a materia fresca).

	Crecimiento		Acabado	
	Control	Experimental	Control	Experimental
Energía metabolizable (kcal/kg)	3246	3246	3213	3213
Humedad (%)	11,92	11,87	13,12	10,56
Proteína bruta (%)	15,96	16,43	15,80	16,68
Grasa bruta (%)	3,71	3,09	3,62	3,08
Fibra bruta (%)	3,08	3,13	3,10	3,11
Almidón (%)	48,65	48,51	47,27	46,92
Cenizas (%)	4,11	4,17	4,14	4,36

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados productivos y sobre calidad de la canal se muestran en la Tabla 2. El tratamiento no tuvo efecto significativo ( $P > 0,05$ ) sobre los índices productivos de los cerdos, aunque se observó una marcada tendencia ( $P < 0,1$ ) del pienso experimental a incrementar el consumo de pienso durante el periodo de acabado (56-96 días) ( $P < 0,1$ ) y, como consecuencia, del periodo global de cebo, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Averette et al. (2001). Entre machos y hembras no se encontraron diferencias en las variables productivas, excepto que el índice de conversión fue significativamente mejor en machos que en hembras en el periodo de acabado ( $P < 0,02$ ).

**Tabla 2** Resultados productivos y características de la canal según tratamiento y sexo.

Variable	Tratamiento (T)		Sexo		eem	P<		
	Control	Exp.	Machos	Hembras		T	Sexo	Cov.
n	60	62	53	69	-	-	-	-
P <sub>0</sub> (kg)	22,0	22,2	22,6	21,6	0,60	0,86	0,26	-
P <sub>56</sub> (kg)	62,7	62,8	62,8	62,7	0,80	0,95	0,93	0,0001
P <sub>96</sub> (kg)	106,7	107,9	108,0	106,6	1,15	0,48	0,42	0,0001
GMD <sub>0-56 días</sub> (g)	727	729	729	727	14,0	0,94	0,93	0,0001
GMD <sub>56-96 días</sub> (g)	1099	1126	1129	1097	17,1	0,26	0,19	0,0066
GMD <sub>0-96 días</sub> (g)	882	894,6	895	881	12,2	0,48	0,41	0,0001
CMD <sub>0-56 días</sub> (g)	1386	1394	1380	1400	26,4	0,83	0,61	0,0001
CMD <sub>56-96 días</sub> (g)	2521	2643	2584	2581	43,8	0,06	0,96	0,0014
CMD <sub>0-96 días</sub> (g)	1827	1891	1850	1867	24,30	0,09	0,63	0,0001
IC <sub>0-56 días</sub> (kg/kg)	2,05	2,00	2,05	2,00	0,04	0,45	0,46	0,47
IC <sub>56-96 días</sub> (kg/kg)	2,30	2,30	2,24	2,36	0,03	0,90	0,02	0,038
IC <sub>0-96 días</sub> (kg/kg)	2,18	2,17	2,17	2,19	0,034	0,87	0,67	0,11
EGD <sub>56 días</sub> (mm)	7,14	7,41	7,07	7,49	0,15	0,21	0,054	0,007
EGD <sub>96 días</sub> (mm)	10,2	10,3	9,9	10,5	0,23	0,85	0,07	0,0002
Peso canal (kg)	81,9	82,1	83,1	80,8	1,31	0,92	0,21	-
Rto. canal (%)	76,4	75,8	75,9	76,4	0,29	0,16	0,25	0,86
Rto. magro (%)	61,5	62,3	62,5	61,2	0,27	0,04	0,002	0,0044

n = nº cerdos; P<sub>0</sub> = peso inicial; P<sub>56</sub> = peso a 56 días tras el inicio del experimento; P<sub>96</sub> = peso al sacrificio; GMD = ganancia media diaria; CMD = consumo medio diario; IC = índice de conversión; EGD = espesor graso dorsal medido con ultrasonidos a nivel de la última costilla; eem = error estándar de la media; P = probabilidad estadística. Para las características de la canal, los valores de n fueron 59, 62, 52 y 69 para los cerdos control, experimentales, machos y hembras respectivamente. No hubo interacciones significativas tratamiento x sexo ( $P > 0,05$ ) para ninguna variable.

El tratamiento no tuvo influencia sobre el espesor grasa dorsal y, como cabía esperar, las hembras tendieron a engrasarse más que los machos ( $P < 0,1$ ). El porcentaje de músculo de la canal fue significativamente superior ( $P < 0,04$ ) en los cerdos que recibieron piensos con biosurfactante y las hembras tuvieron un porcentaje de músculo significativamente inferior que los machos ( $P < 0,01$ ). La interacción tratamiento x sexo no fue estadísticamente significativa para el conjunto de variables estudiadas. La relación obtenida entre el porcentaje de músculo de la canal (M) y el espesor grado dorsal medido por ultrasonidos antes del sacrificio ( $EGD_{96}$ ) respondió a la ecuación de regresión lineal:

$$M (\%) = 67,28 - 0,54 EGD_{96} (R^2 = 0,23, RSD = 1,98, P < 0,0001).$$

La evaluación de emulsionantes ha sido fundamentalmente realizada en lechones destetados no habiendo información suficiente en cerdos de cebo. Así, Price et al. (2014) encontraron que la emulsión de dietas líquidas aumentaba el consumo y mejoraba el crecimiento y el índice de transformación del pienso en lechones recién destetados. La suplementación con lisolecitina mejoraba los resultados productivos (Xing et al., 2004) y Zhao et al. (2015) observaron un efecto positivo de los lisofosfolípidos sobre la digestibilidad de la ración en lechones destetados. En cerdos en crecimiento, Dierick y Decuyper (2004) encontraron que la emulsión mejoraba la digestibilidad ileal y fecal aparentes de la materia seca, materia orgánica y proteína bruta de la ración. Como quiera que en nuestro experimento la emulsión del pienso abarató la ración y se mejoró la calidad de la canal, en principio podría concluirse el interés de la utilización de emulsificantes en cerdos de cebo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Averette, L.A., See, M.T., Odle, J. 2001. Annual Swin Report 2001. Department of Animal Science, NC State University
- Dierick, N.A., Decuyper, J.A. 2004. Journal of the Science of Food and Agriculture 84:1443-1450
- Maertens, L., Leleu, S., Rovers, M., Segers, L., Delezie, E. 2015. 20<sup>th</sup> European Symposium on Poultry Nutrition. 24-27 August 2015, Prague, Czech Republic
- Price, K.L., Lin, X., van Heugten, E., Odle, R., Willis, G., Odle, J. 2014. Journal of Animal Science 91:783-792
- Rovers, 2013. Emulsificantes en la dieta para ahorros en energía y en el costo del alimento. <http://www.wattagnet.com/articles16741/-emulsificantes-en-la-dieta>
- Tahir, M., Arif, M., Saeed, M., Reyad ul Ferdous, Adeel, M., Arain, M.A., Rehman, A. 2016. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 11:158-167
- Xing, J.J., van Heugten, E., Li, D.F., Touchette, K.J., Coalson, J.A., Odgaard, L., Odle, J. 2004 Journal of Animal Science 82:2601-2609
- Zhao, P.Y., Li, H.L., Hossain, M.M., Kim, I.H. 2015. Animal Feed Science and Technology 207: 190-195.

#### EFFECT OF INCLUSION IN THE FEED OF A BIOSURFACTANTE ON PERFORMANCE AND CARCASS QUALITY OF GROWING-FINISHING PIGS

**ABSTRACT:** One hundred and twenty-two pigs were used. An experimental design of factorial type observed two dietary treatments (control vs feed with a Biosurfactant with liver health corrector) and two genders (entire males and females). The feed with emulsifier had not significant effect on productive performance, but tended ( $P < 0,1$ ) to increase the feed intake and improved significantly the carcass muscle percentage. The entire males had higher carcass muscle percentage and lower ultrasounds dorsal fat than the entire females. The interaction treatment x gender was not significant for all the studied variables.

**Keywords:** emulsifier, performance, growing-finishing pigs.

## LA SUPLEMENTACIÓN DEL PIENSO CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS n-3 MEJORA EL ÍNDICE DE CONVERSIÓN DE LOS GAZAPOS

Rodríguez, M., Velasco, B. y Rebollar, P.G.

Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas.  
UPM. Ciudad Universitaria, s/n, 28040, Madrid. pilar.grebollar@upm.es

### INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son escasos en los piensos y los animales tienen que sintetizarlos a partir de ácido alfa-linolénico y ácido linoleico mediante un mecanismo poco eficiente de elongación y desaturación. La inclusión directa de AGPI como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) en los piensos de las conejas reproductoras y sus gazapos, así como su posterior deposición en músculo y grasa ya ha sido demostrada (Rebollar *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.* 2016a; Valiente *et al.*, 2014). En estos trabajos tanto las madres como las crías recibían o no la suplementación durante todo un ciclo productivo (gestación-lactación-cebo). Los beneficios a nivel reproductivo no son despreciables (menos mortinatalidad, mejor desarrollo placentario), y a nivel del músculo y la grasa, el depósito de este suplemento es evidente, dándole un valor añadido a la canal de esta especie. El objetivo de este trabajo es conocer si es necesaria o no la suplementación a las madres y a los gazapos en todas sus fases productivas, sin que se alteren los beneficios observados en trabajos previos, dado que el enriquecimiento del pienso encarece el precio del mismo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado un total de 264 gazapos de 32 días de edad (recién destetados) y se han alimentado durante su periodo de cebo (31 días) con dos piensos con igual composición de ingredientes y valor nutritivo (2400 kcal de energía digestible/kg, 36% de fibra neutro-detergente y 16% de proteína bruta) pero distinta fuente de grasa: el pienso C contenía 30 g/kg de grasa mezcla y el pienso P contenía 60 g/kg de un suplemento a base de aceite refinado de salmón, que contenía un 50% de extracto etéreo y un 35% de AGPI (13% DHA, 3% ácido docosapentaenoico, 7% EPA, 7% ácido estearidónico y 3% ácido linoleico). Los gazapos se distribuyeron al azar, evitando el efecto camada, en cuatro grupos experimentales de 11 jaulas cada uno:

- Grupo CC: gazapos que consumieron el pienso C igual que sus madres.
- Grupo CP: gazapos destetados de madres que habían consumido el pienso C y durante el cebo consumieron el P.
- Grupo PP: gazapos que consumieron el pienso P igual que sus madres.
- Grupo PC: gazapos destetados de madres que habían consumido el pienso P y durante el cebo consumieron el C.

Se alojaron en jaulas colectivas con una densidad de 6 gazapos por jaula. Se registró el peso vivo al inicio y final del cebo, el consumo por jaula y se calculó la ganancia media diaria (GMD), el consumo medio diario (CMD) y el índice de conversión (IC=CMD/GMD). También se controló la mortalidad durante el periodo experimental.

El peso al inicio y final del cebo, la GMD, el CMD, así como el IC fueron analizados mediante un análisis de la varianza considerando la dieta como efecto principal. Para la mortalidad se utilizó una chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). Las medias se compararon mediante un *t*-test y sus diferencias se consideraron significativas a  $P < 0,05$ . Los resultados se analizaron con el software SAS (SAS Institute, 2001).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los animales iniciaron y finalizaron el cebo con el mismo peso medio y la mortalidad fue muy baja en todos los grupos (Tabla 1;  $P > 0,05$ ). Además, todos tuvieron la misma GMD (Figura 1A) aunque los gazapos alimentados con el pienso suplementado con AGPI comieron significativamente menos que los del pienso control, independientemente del que hubieran consumido sus madres (grupos CP y PP). Por tanto, como se puede observar en la Figura 1B, el IC fue menor (mayor eficiencia de utilización del pienso) en animales suplementados durante el cebo (grupos CP y PP) frente a los no suplementados o controles (grupos CC y PC), sin importar la alimentación de sus madres. En trabajos previos llevados

a cabo por Valiente *et al.* (2014), con el mismo suplemento, pero con un nivel más bajo de inclusión, a pesar de que los gazapos procedían de madres también suplementadas, no observaron diferencias en los parámetros productivos durante el cebo. No obstante, dicho nivel de inclusión fue suficiente para que el perfil de ácidos grasos presente en el pienso, se trasladara a la composición del músculo y grasa de las canales en el momento del sacrificio. En los resultados de Rodríguez *et al.* (2016b), utilizando un pienso con el mismo nivel de inclusión de AGPI que en este estudio, los gazapos también tendían a tener un IC más favorable frente a los animales controles.

Es interesante remarcar que el cambio de pienso se realizó sin ningún tipo de transición en todos los casos y no se observaron efectos adversos en los animales desde el punto de vista digestivo, ya que no se detectaron casos graves de enteropatía, colibacilosis o cualquier otro proceso patológico que puede aparecer en la etapa de cebo de estos animales. La influencia positiva que los AGPI pudieran tener sobre la fisiopatología digestiva de los animales no se observó dada la baja incidencia de este tipo de procesos, lo cual posiblemente se puede atribuir a las buenas condiciones higiénico-sanitarias de las instalaciones y a que los dos piensos contenían 100 ppm de bacitracina de zinc.

Como conclusión, a pesar de que los gazapos consumieron menos pienso suplementado independientemente del que hubieran consumido anteriormente sus madres, la ganancia media diaria observada en todos los grupos fue similar. Por lo tanto, se observó una clara mejora en la utilización del pienso tras el enriquecimiento del mismo, manteniendo unos pesos medios al final del cebo similares entre grupos. El siguiente paso para una conclusión a nivel de comercial, sería observar si estos mejores resultados productivos observados tras la suplementación, compensan el mayor coste del pienso enriquecido. De igual modo, determinar si el perfil de ácidos grasos del músculo y la grasa de los gazapos que sólo recibieron el pienso enriquecido durante el cebo (grupo CP) será similar al de los gazapos cuyas madres también lo consumían (grupo PP), otorgándoles un mayor valor añadido en el mercado y pudiéndolo catalogar como alimento funcional.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rebollar, P.G., García-García, R.M., Arias-Álvarez, M., Millán, P., Rey, A.I., Rodríguez, M., Formoso-Rafferty, N., De la Riva, S., Masdeu, M., Lorenzo, P.L. & García-Rebollar P. 2014. *Anim. Reprod. Sci.* 146: 202–209.
- Rodríguez, M., López-Tello, J., Arias-Álvarez, M., García-García, R.M., Formoso-Rafferty, N., Lorenzo, P.L. & Rebollar, P.G. En: *Proceedings of the 11th World Rabbit Congress. Qingdao (China) 2016a.* p. 100.
- Rodríguez, M., Bermejo-Poza, R., De la Fuente, J., Villarroel, M. & Rebollar, P.G. 2016b. *World Rabbit Sci.* 24, 239-248.
- Valiente, V., Carro, M.D., Rodríguez, M., Formoso-Rafferty, N., Velasco, B., Astillero, J.R. & Rebollar, P.G. 2014. En: *XXXIX Symposium de cunicultura de ASESCU, Tudela, España*, pp. 103-106.
- SAS Institute, 1990. *SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2)*. SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822 y la Comunidad de Madrid (S2013/ABI-2913).

**Tabla 1.** *Peso y mortalidad durante el periodo de cebo de gazapos (6 gazapos/jaula) alimentados con un pienso control (C) y un pienso suplementado con ácidos grasos poliinsaturados n-3 (P).*

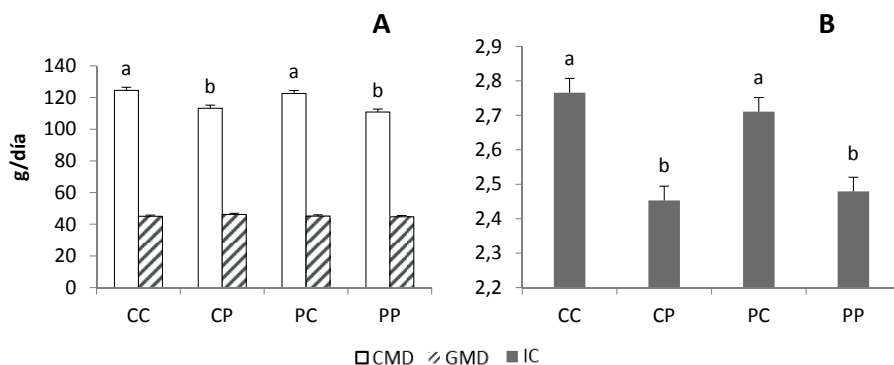
	Grupos experimentales <sup>1</sup>				RSM <sup>2</sup>	P>f
	CC	CP	PC	PP		
Nº de jaulas	11	11	11	11		
Peso inicio cebo (g) <sup>3</sup>	616,3	629,0	637,9	650,8	12,38	0,2627
Peso fin cebo (g) <sup>3</sup>	2014	2062	2040	2039	29,1	0,7114
Mortalidad (%)	3,03	0,00	1,52	1,52	1,477	0,5566

<sup>1</sup> La primera letra indica la dieta que consumió la madre y la segunda letra indica la dieta consumida por los gazapos durante el cebo.

<sup>2</sup> RSM: Cuadrado medio del error.

<sup>3</sup> Peso individual medio.





**Figura 1.** A) Consumo medio diario (CMD) y ganancia media diaria (GMD) y B) Índice de conversión (IC) durante el periodo de cebo de gazapos alimentados con un pienso control (C) y un pienso suplementado con ácidos grasos poliinsaturados n-3 (P). La primera letra indica la dieta que consumió la madre y la segunda letra indica la dieta consumida por los gazapos durante el cebo. Diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) debidas al tratamiento (a, b).

### THE SUPPLEMENTATION OF FEED WITH POLIINSATURATED FATTY ACIDS n-3 IMPROVES THE GAZAPOS FEED CONVERSION INDEX

**ABSTRACT:** The aim of the present work was to study the productive parameters of rabbits during the fattening period evaluating a feed supplementation with polyunsaturated fatty acids (PUFA). Two experimental diets were formulated differing in the fat acids composition: 30 g/kg of mixed fat for the C diet and 60 g/kg of a supplement based on refined salmon oil, which contained 35% PUFA, for the P diet. The weaned rabbits (32 days of age) were randomly distributed, avoiding the litter effect, in four experimental groups of 66 kits each, combining the diets consumed before weaning by their mothers and by themselves during the growing period: group CC, group CP, group PP and group PC. The first letter indicates the maternal diet and the second letter indicates the kits diet. They were housed in collective cages (6 kits per cage). The animals of all groups started and finished the fattening period with similar weight ( $P > 0,05$ ), and all groups had the same average daily gain too ( $P > 0,05$ ). However, PUFA kits (CP and PP groups) ate significantly less than control ones (CC and CP groups), independently the maternal diet ( $P < 0,05$ ). The feed conversion index was lower in supplemented animals than in control ones ( $P < 0,05$ ), regardless of the maternal diet. Mortality was similar between groups ( $P > 0,05$ ). Consequently, it can be concluded that despite the lower feed intake of PUFA kits, a clear improvement in the feed utilization after the enrichment of the diet was observed keeping similar average weights between groups at the end of the fattening period.

**Key words:** fattening period, n-3 polyunsaturated fatty acids, rabbit.

## SUCESIÓN DE LA MICROBIOTA CECAL Y RENDIMIENTO PRODUCTIVO EN POLLOS DE ENGORDE ALIMENTADOS CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON ADITIVOS

Pineda-Quiroga<sup>1</sup>, C., Camarinha-Silva<sup>2</sup>, A., Atxaerandio<sup>1</sup>, R., García-Rodríguez<sup>1</sup>, A. y Ruiz<sup>1</sup>, R.

<sup>1</sup>Neiker-Tecnalia, Departamento de Producción Animal, Granja Modelo de Arkaute, 46, 01080 Vitoria-Gasteiz, España. cpineda@neiker.eus

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Animales, Universidad de Hohenheim, Stuttgart, Alemania.

### INTRODUCCIÓN

La flora intestinal tiene un rol importante en el hospedador ya que influye en el desarrollo del tracto digestivo, la producción de ácidos biliares y enzimas digestivas y, en consecuencia, en la digestión y absorción del alimento (Choct, 2009). La composición y diversidad de las comunidades bacterianas del intestino se ve afectada principalmente por la edad, la dieta y el segmento del tracto gastrointestinal (Ranjitkar *et al.*, 2016). El uso de aditivos alimenticios de tipo no antibiótico, que modulen favorablemente la composición de la microbiota intestinal y a su vez puedan ejercer un efecto positivo sobre el rendimiento productivo de los pollos de engorde, está en auge. Algunos de ellos, empleados en alimentación avícola, son el lactosuero en polvo (Pineda-Quiroga *et al.*, 2017), el quitosano (Swiatkiewicz *et al.*, 2014) y la inulina (Rebolé *et al.*, 2012). Sin embargo, poco se conoce sobre su efecto en la microbiota cecal en diferentes edades productivas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar la microbiota cecal de pollos de engorde que fueron alimentados con dietas suplementadas con lactosuero en polvo, quitosano e inulina en dos etapas del crecimiento. Del mismo modo, se evaluó el efecto de dichos aditivos en el rendimiento productivo de los animales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente ensayo se utilizaron un total de 1500 pollos machos de la línea Ross 308 de un día de vida. Se evaluaron 5 tratamientos, cada uno con 10 réplicas de 30 pollos, durante 42 días. A cada grupo experimental se le asignó una de las siguientes dietas experimentales: dieta control; dieta con una inclusión de 6% de lactosuero en polvo (Lact); dieta con una inclusión de 0,5% de quitosano (Quit); dieta con una mezcla de 6% de lactosuero en polvo más 5% de quitosano (Lact+Quit); dieta con 2% de inulina (Inul). Las dietas tuvieron como base trigo y cebada y fueron formuladas para satisfacer los requerimientos nutricionales establecidos para pollos de engorde por FEDNA (2008). El día 21 y 42 de vida se tomaron de forma aleatoria 6 pollos por tratamiento y se sacrificaron con el fin de recolectar el contenido cecal. Del contenido cecal se aisló el DNA y se secuenció el gen bacteriano 16S rRNA en la plataforma Illumina MiSeq con el fin de realizar la identificación taxonómica de las comunidades bacterianas. El análisis filogenético del gen 16S rRNA fue realizado empleando el pipeline del software Mothur. Los resultados de obtenidos como abundancias de OTUs (Operational Taxonomical Unit), fueron analizados mediante estadística no paramétrica multivariante usando el software PRIMER-E (PRIMER-E v7, Plymouth, UK). Se empleó el coeficiente de Bray-Curtis como medida de distancia para determinar la disimilitud entre las poblaciones y se realizó la comparación estadística entre los tratamientos mediante un análisis de varianza permutacional (PERMANOVA, 999 permutaciones). Los OTUs individuales que contribuyeron a la disimilitud observada fueron identificados mediante un análisis de porcentajes de similitud (SIMPER).

Del mismo modo, los pollos y los comederos se pesaron semanalmente por recinto con el fin de calcular el peso vivo final (PF), ganancia media diaria (GMD), ingestión de alimento (IA) y el índice de conversión (IC). El análisis estadístico de los datos productivos se realizó separadamente para el periodo de arranque (día 1 de alimentación al día 21), crecimiento-finalización (día 21 a 42) mediante un ANOVA (Proc. GLIMMIX, SAS V 9.3).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

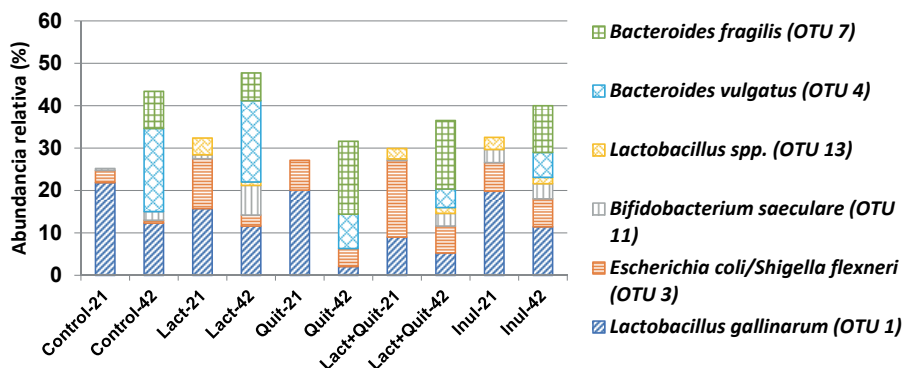
Los resultados obtenidos muestran que la composición de las poblaciones microbianas cambió en función de la edad ( $P = 0,001$ ). Observamos que la microbiota a los 21 días de vida estuvo mayormente representada por *Lactobacillus gallinarum* (OTU 1) y *Escherichia*

*coli/Shigella flexneri* (OTU 3), independientemente de la dieta suministrada (Figura 1). Sin embargo, las dietas Lact, Lact-Quit e Inul promovieron una mayor abundancia relativa de *Lactobacillus* spp. (OTU 13) el día 21. También observamos que la microbiota cecal el día 42 de vida estuvo mayormente representada por *Bacteroides vulgatus* (OTU 4), *Bacteroides fragilis* (OTU 7) y *Bifidobacterium saeculare* (OTU 11) (Figura 1). Por otra parte, los resultados productivos muestran que los pollos alimentados con la dieta control tuvieron un mayor PF al día 21 y 42 de alimentación, mientras que los animales alimentados con Lact y Quit presentaron los menores valores. La GMD y la IA también fue mayor para la dieta control el día 21, junto con un menor IC en comparación con las demás dietas ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, el día 42 de vida, la GMD fue mayor en todos los tratamientos en comparación con la dieta Lacto ( $P < 0.05$ ), que presentó los menores valores. La IA para este mismo periodo fue más alta en la dieta control e Inul en relación a las demás dietas ( $P < 0.05$ ), mientras que no se observaron diferencias para el IC ( $P > 0.05$ ). Los resultados presentados confirman que existe una sucesión de la flora bacteriana cecal a medida que aumenta la edad de los pollos, lo que era esperable y está de acuerdo de lo reportado por Mohd *et al* (2015). Los resultados también evidencian que hay una influencia más marcada de la edad que de la dieta en la composición de la microbiota cecal, lo que fue encontrado igualmente por Ranjitkar *et al* (2016). Sin embargo, también pudimos observar que no existe una clara asociación entre la microbiota cecal y el rendimiento productivo de los pollos de engorde alimentados con las dietas evaluadas. Resultados similares han sido reportados por Geier *et al.* (2009), quien concluyó que aditivos de tipo prebiótico generan una alteración de la microbiota intestinal, pero que esto no afecta al rendimiento productivo de los pollos de engorde. Esto puede indicar que el rendimiento productivo de los pollos puede sustentarse en una amplia variedad microbiana y que la naturaleza y el grado de cualquier cambio en ella no siempre se traslada a un incremento productivo. En conclusión, los aditivos alimenticios evaluados ocasionaron cambios en la composición de la microbiota cecal en función de la edad del pollo, pero estos no se asociaron claramente con el rendimiento productivo de los animales.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Choct, M. 2009. Br. Poult. Sci. 50: 9-15.
- Geier, M.S. 2009. J. Appl. Microbiol. 106: 1540-1548.
- Pineda-Quiroga. 2017. Livest. Sci. 195: 9-12.
- Ranjitkar, S. 2015. Appl. Env. Microbiol. 82: 2399-2409.
- Rebolé, A. 2010. Poult. Sci. 89: 276-286.
- Swiatkiewicz, S. 2014. Livset. Sci. 163: 110-119.
- Torok, V. 2008. Appl. Env. Microbiol. 74: 783-791.

**Agradecimientos:** La investigación fue financiada por el programa LIFE+ de la UE (LIFE11/ENV/ES/000639) y el Departamento de Desarrollo Económico y Competitividad del Gobierno Vasco. Los autores quieren agradecer al Departamento de Educación, Política Lingüística y Cultura por la beca predoctoral del primer autor (Pineda-Quiroga, C).



**Figura 1.** Abundancia de los OTUs más representativos en las comunidades microbianas cecales al día 21 y 42 de vida de los pollos alimentados con las dietas experimentales.

**Tabla 1.** Efecto de la suplementación de aditivos dietéticos en el rendimiento productivo de pollos de engorde.

	Tratamiento <sup>1</sup>						P
	Control	Lact	Quit	Lact-Quit	Inul	EEM <sup>2</sup>	
<i>Periodo de arranque (1-21 días)</i>							
Peso final (g)	617 <sup>a</sup>	505 <sup>c</sup>	559 <sup>c</sup>	587 <sup>ab</sup>	560 <sup>b</sup>	81,24	<0,001
Ganancia media diaria (g/d)	28 <sup>a</sup>	23 <sup>c</sup>	23 <sup>c</sup>	26 <sup>b</sup>	25 <sup>b</sup>	0,37	<0,001
Ingestión de alimento (g/d)	43 <sup>a</sup>	37 <sup>c</sup>	40 <sup>b</sup>	42 <sup>ab</sup>	41 <sup>b</sup>	0,58	<0,001
Índice de conversión	1,56 <sup>b</sup>	1,61 <sup>ab</sup>	1,64 <sup>a</sup>	1,65 <sup>a</sup>	1,64 <sup>a</sup>	0,019	0,024
<i>Periodo de crecimiento y finalización (21-42 días)</i>							
Peso final (g)	2010 <sup>a</sup>	1800 <sup>c</sup>	1830 <sup>bc</sup>	1846 <sup>b</sup>	1940 <sup>ab</sup>	34,99	<0,001
Ganancia media diaria (g/día)	65 <sup>a</sup>	58 <sup>b</sup>	65 <sup>a</sup>	64 <sup>a</sup>	65 <sup>a</sup>	2,1	0,001
Ingestión de alimento (g/d)	133 <sup>a</sup>	121 <sup>b</sup>	120 <sup>b</sup>	120 <sup>b</sup>	137 <sup>a</sup>	2,0	<0,001
Índice de conversión	1,97	1,97	1,81	1,78	1,98	0,054	0,74

<sup>1</sup> Dieta control: Sin adición de aditivos, Lact: 6%/lactosuero en polvo, Quit: 0.5%/chitosano, Lacto-Quit: 6%/lactosuero más 0.5%/ quitosano; Inul: 2%/inulina.

<sup>2</sup> Error estándar de la media.

<sup>a,b</sup> Valores con dentro de una fila con letras distintas difieren significativamente.

## CECA MICROBIOTA SUCCESSION AND PRODUCTIVE PERFORMANCE OF BROILER FEEDING WITH ADDITIVES

**ABSTRACT:** The supplementation of dry whey powder (6% - DWP), chitosan (0.5% - CHIT), DWP plus CHIT (DWP-CHIT), and inulin (2% - INUL) in wheat-barley broiler diets were evaluated. Ceca microbiota composition was studied at day 21 and 42 of age. Body weight (BW), daily weight gain (DWG), feed intake (FI), and feed conversion ratio (FCR) were calculated weekly. With increasing age, a clear succession in ceca microbiota by feeding broilers with the experimental diets was found (P=0.001). At day 21 of age, the abundance of *L. gallinarum* and *Escherichia coli/Shigella flexneri* was higher regardless of the experimental diet. *Lactobacillus spp.* increased in samples from birds fed with DWP, DWP-CHIT, and INUL, whereas *Clostridium lactatifermentans* was greater in samples from birds fed with control diet and INUL. At day 42 of age, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides fragilis*, and *Bifidobacterium saeculare* were higher irrespective of diet, except for OUT 11 in 5-CHIT diet, in which it was not detected. In general, higher BW and DWG were observed in animals feeding with control diet. These results showed that fed additives altered cecal microbiota but did not influence broiler performance.

**Keywords:** Lactose, microbiota, prebiotic, poultry

## ACTIVIDAD LIPOGÉNICA EN TEJIDOS Y PERFIL HORMONAL DE LECHONES LACTANTES IBÉRICOS Y LANDRACE X LARGE WHITE

Palma-Granados, P., Seiquer, I. y Nieto, R.

Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal. Estación Experimental del Zaidín (CSIC). Cno. del Jueves s/n. 18100-Armilla, Granada, España  
rosa.nieto@eez.csic.es

### INTRODUCCIÓN

El cerdo Ibérico presenta un ritmo de crecimiento más lento, mayor contenido graso y menor deposición de proteína que los cerdos de genotipos convencionales. Acorde con estas características, en trabajos previos realizados en distintas fases del ciclo productivo del animal, se observa en la raza Ibérica mayor proporción de grasa corporal que en razas porcinas mejoradas (Nieto et al., 2002; Barea et al., 2007; García-Valverde et al., 2008). Aguinaga et al. (2011), comprobaron que los lechones Ibéricos presentan al nacimiento aproximadamente el doble de grasa corporal que los lechones de genotipo convencional. No obstante, durante la lactación, la retención de lípidos diaria estimada fue similar a la descrita para lechones de tipo convencional (Noblet y Etienne, 1987). Durante esta fase, se considera que la síntesis de novo de ácidos grasos es limitada y que su deposición en los tejidos del lechón se debe casi exclusivamente a la ingesta de leche materna. Sin embargo, hay autores que sugieren síntesis lipídica de novo en lechones lactantes, aunque en tasas más bajas que en cerdos destetados (Geffault et al., 2000). En trabajos realizados con cerdos de la raza Alentejana (similar a la Ibérica) de dos meses de edad, se ha observado que la actividad lipogénica en grasa subcutánea es mayor que la encontrada en la raza Large-White, lo que subraya el carácter adipogénico de esta raza (Freire et al. 1998). La mayor cantidad de tejido adiposo que presenta la raza Ibérica, tanto en el depósito subcutáneo como intramuscular, podría estar relacionada con una mayor actividad sintética desde etapas tempranas de la vida, aunque podrían existir otros mecanismos implicados, e incluso cambiar a medida que aumenta la edad del animal. El objetivo de este trabajo fue analizar las diferencias en actividad de enzimas lipogénicas en la grasa subcutánea y el músculo *Longissimus dorsi* de lechones lactantes Ibéricos y Landrace x Large-White, con características metabólicas diferentes.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 lechones lactantes, 6 genotipo Ibérico (estirpe Silvela) y 6 Landrace x Large White (LDW), con aproximadamente 15 días de edad y  $4,8 \pm 0,2$  y  $5,3 \pm 0,2$  kg de peso, respectivamente. Los animales se sacrificaron tras 6 h de ayuno por exsanguinación previa electronarcosis. Se obtuvo sangre para la separación del plasma (mediante centrifugación a 1400g, 4°C, 10 min) y se tomaron muestras de grasa dorsal y *Longissimus dorsi*, que se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C para las posteriores determinaciones. Las muestras se homogeneizaron en frío, en una solución de sacarosa 0,3 M, EDTA (1 mM) y ditioneitol (DTT, 25 mM). El homogenado resultante se centrifugó durante 20 min a 20000 g a 4°C y la fracción citosólica se recogió y almacenó a -80°C hasta el análisis enzimático. La actividad de la enzima málica (ME), la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y la ácido graso sintasa (FAS) fue analizada por espectrometría a 340 nm, monitorizando la formación (ME y G6PDH) o la disminución (FAS) de NADPH. Las cantidades de sustrato se optimizaron para asegurar la linealidad de la reacción. La concentración de proteína en los sobrenadantes se determinó mediante un kit comercial (Pierce™ BCA Protein Assay Kit, Thermo Scientific). Las actividades enzimáticas se expresaron como nmol de NADPH por minuto por mg de proteína, y como nmol de NADPH por minuto por g de tejido. Las hormonas plasmáticas fueron determinadas mediante radioinmunoensayo (RIA) siguiendo instrucciones del fabricante (EMD Millipore Corporation, Madrid, para insulina y leptina; Mediagnost, Reutlingen, Alemania, para IGF-1). Los resultados se analizaron mediante ANOVA de una vía por el procedimiento GLM de SAS.

## RESULTADOS Y DISCUSSION

Los ácidos grasos depositados en los tejidos son el resultado de la deposición directa procedente de la dieta, la síntesis de novo (excepto para los ácidos grasos esenciales, linoleico y linoléico) y los procesos de oxidación (Cousin et al., 1993). Para la síntesis de ácidos grasos se necesitan moléculas de acetil CoA y malonil CoA y la enzima ácido graso sintasa para formar ácido palmítico (16:0) que, por procesos de elongación y desaturación, puede convertirse en otros ácidos grasos. El cofactor NADPH, necesario para la actividad de la enzima FAS, es aportado por la enzima málica y la G6PD.

Los resultados relativos a la actividad de enzimas lipogénicas se muestran en la Tabla 1. Al igual que ocurre en otros estudios (Gerfault et al., 2000), la actividad de las enzimas implicadas en la lipogénesis fue mayor en la grasa dorsal que en el músculo, ya que el tejido adiposo es el principal compartimento donde tiene lugar la lipogénesis. Los valores encontrados para la enzima FAS en grasa dorsal ( $21 \text{ nM NADPH min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$ ) son considerablemente inferiores a los valores medios encontrados en cerdos Ibéricos y convencionales de 25 kg ( $95 \text{ nM NADPH min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$ ; Palma-Granados et al., 2016). Los resultados sugieren mayor actividad lipogénica en la grasa dorsal de los lechones Ibéricos, especialmente al expresarla en relación al peso de tejido graso, aunque las diferencias entre genotipos no llegaron a ser significativas en ningún caso ( $P > 0,05$ ). Respecto al músculo *Longissimus dorsi*, la actividad enzimática también fue similar entre genotipos. Sin embargo a 25 kg de peso hemos observado que la enzima FAS es mucho más activa en los músculos de los animales de genotipo Ibérico que en los de raza LDW ( $0,883 \text{ vs. } 0,359 \text{ nM NADPH min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$ , respectivamente; Palma-Granados et al., 2016). Es decir, aunque en la etapa de lactancia la actividad lipogénica en músculo es similar en los dos genotipos, dicha actividad incrementa a partir del destete de manera más intensa en la raza Ibérica, lo que da lugar a diferencias significativas en las etapas posteriores y a mayor deposición de grasa en la raza Ibérica. Es probable que el incremento en tejido adiposo sea beneficioso para soportar la situación de estrés y el periodo de adaptación que sufre el lechón durante la fase de destete (Freire et al., 1998).

En cuanto al perfil hormonal (Tabla 2), la raza Ibérica presentó mayor concentración de IGF-1 que la LDW ( $P < 0,001$ ), lo que ratifica otros estudios comparativos realizados en animales de mayor edad (Fernández-Fígares et al., 2007). Sin embargo, no se apreciaron diferencias en concentración de leptina e insulina plasmática como en estudios anteriores.

A pesar de las diferencias existentes en concentración de grasa corporal entre cerdos de ambos genotipos en la fase lactante, la actividad de las enzimas participantes en la síntesis de lípidos no parece ser un mecanismo implicado en estas diferencias. Se carece de información sobre los efectos del genotipo en la absorción y deposición de lípidos procedentes de la dieta, y sobre los procesos de oxidación de ácidos grasos en esta fase de crecimiento. Estudiar estos procesos en trabajos futuros contribuirá a esclarecer los mecanismos que expliquen las diferencias en cuanto al contenido de grasa de ambos genotipos, lo que a su vez puede tener una relación directa con la calidad de la carne.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguinaga, M. A., Gómez-Carballar, F., Nieto, R., Aguilera, J. F. 2011. *Animal* 5: 1390-1397.
- Barea, R., Nieto, R., Aguilera, J.F. 2007. *Animal* 1: 357-365.
- Cousin, B., Casteilla, L., Dani, C., Muzzin, P., Revelli, J. P., Penicaud, L. 1993. *Biochem J.* 292: 873-876.
- Freire, J. P. B., Mourot, J., Cunha, L. F., Almeida, J. A. A., Aumaitre, A. 1998. *Ann Nutr Metab.* 42: 90-95.
- Fernández-Fígares, I., Lachica, M., Nieto, R., Rivera-Ferre, M. G., Aguilera, J. F. 2007. *Livest Sci.* 110: 73-81.
- García-Valverde, R., Barea, R., Lara, L., Nieto, R., Aguilera, J.F. 2008. *Livest Sci.* 114 : 263-273
- Gerfault, V., Louveau, I., Mourot, J., Le Dividich, J. 2000. *Reprod. Nutr. Dev.* 40: 103-112.
- Nieto, R., Miranda, A., García, M.A., Aguilera, J.F. 2002. *Br. J. Nutr.* 88: 39-49.
- Noblet, J. y Etienne, M. 1987. *Repr. Nutr. Develop.* 27: 829-839
- Palma-Granados, P., Seiquer, I., Nieto, R. 2016. IX Internacional Symposium on Mediterranean pig.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el MICINN (Ref. AGL2011-25360).

**Tabla 1.** Efectos del genotipo sobre la actividad de enzimas lipogénicas en lechones lactantes de aproximadamente 5 kg de peso.

	Genotipo		SEM	Valor de P <sup>1</sup>
	Ibérico	LDW		
Grasa dorsal (nmoles NADPH min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> proteína)				
FAS	24,4	17,8	5,3	NS
ME	78,8	202	52,3	NS
G6PD	353	261	37	NS
Grasa dorsal (nmoles NADPH min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> tejido)				
FAS	211	158	50	NS
ME	5079	3466	1229	NS
G6PD	3042	2248	355	NS
Longissimus dorsi (nmoles NADPH min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> proteína)				
FAS	0,225	0,335	0,085	NS
ME	6,89	6,58	0,72	NS
G6PD	1,15	1,45	0,32	NS
Longissimus dorsi (nmoles NADPH min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> tejido)				
FAS	7,74	12,04	3,02	NS
ME	240	234	22	NS
G6PD	39,2	51,7	10,8	NS

<sup>1</sup>NS: P>0,05; LDW = Landrace x Large White

**Tabla 2.** Diferencias en la concentración de hormonas plasmáticas en lechones lactantes de aproximadamente 5 kg de peso debidas al genotipo.

	Genotipo		SEM	valor de P <sup>1</sup>
	Ibérico	LDW		
Insulina, µU/mL	32,7	44,3	13,2	NS
Leptina, ng/mL	2,49	1,84	0,39	NS
IFG1, ng/mL	274	110	20	0,000

<sup>1</sup>NS: P>0,05; LDW = Landrace x Large White.

### LIPOGENIC ENZYME ACTIVITY IN TISSUES AND HORMONE PROFILE OF SUCKLING IBERIAN AND LANDRACE X LARGE WHITE PIGLETS

**ABSTRACT:** The aim of this work was to assess the effects of genotype on lipogenic enzyme activities of backfat and *Longissimus dorsi*, and the hormone profile of Iberian and Landrace x Large White piglets. We used 12 castrated male piglets of 5 kg, 6 from each breed. Backfat and muscle samples were taken immediately after slaughter to analyze malic enzyme, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and fatty acid synthase activity at this early stage. The genotype did not affect any of the enzymes studied neither in backfat nor *Longissimus dorsi*. The IGF-1 concentration was 150% higher in Iberian piglets. De novo fatty acid synthesis cannot explain differences on lipid content in both genotypes during the lactation phase.

**Keywords:** Iberian piglets, malic enzyme, glucose-6-phosphate dehydrogenase, fatty acid synthase, hormones.

## ESTUDIO DEL EFECTO DE UNA MEZCLA COMERCIAL DE ACEITES FUNCIONALES SOBRE LA FERMENTACIÓN “*IN VITRO*” DE CONTENIDO RUMINAL PROCEDENTE DE TERNEROS ALIMENTADOS CON RACIONES CONCENTRADAS

Seradj, A. R.<sup>1</sup>, Torrent, J.<sup>2</sup>, de la Fuente, G.<sup>1</sup>, Balcells, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal ETSEA, Universitat de Lleida. 25198 Lleida. España. <sup>2</sup>Oligo Basics, Cary, NC, Estados Unidos de América. [balcells@ca.udl.cat](mailto:balcells@ca.udl.cat)

### INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, se ha analizado el efecto de diferentes aditivos alimentarios sobre el ecosistema ruminal con objeto de mejorar los procesos de fermentación y con ello la utilización digestiva de los componentes fibrosos mediante el control de las emisiones de metano y la excreción de nitrógeno (Patra y Saxena, 2009). Convencionalmente los procesos de fermentación ruminal han sido regulados mediante la utilización de sustancias antibióticas (i.e. ionóforos), cuya utilización ha sido limitada o prohibida dada su persistencia en el medio y su efecto colateral sobre la resistencia de ciertos patógenos. Por ello, ha sido necesario buscar sustancias alternativas más seguras que permitiesen también regular los procesos de fermentación en el rumen sin efectos residuales. Levin (1976) y Cowan (1999) demostraron que ciertos compuestos secundarios de las plantas eran capaces de ejercer un efecto antimicrobiano. Algunos de estos compuestos secundarios han sido probados con éxito como reguladores de los procesos de fermentación ruminal y/o como promotores de crecimiento en los animales de abasto. Entre ellos, los aceites funcionales se ha demostrado que pueden ejercer un efecto similar al de los antibióticos pero de forma totalmente inocua (Marino et al., 2013).

El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar “*in vitro*” el impacto de una mezcla comercial de aceites funcionales sobre los procesos de fermentación ruminal y la emisión de metano, utilizando líquido ruminal de terneros alimentados con raciones concentradas.

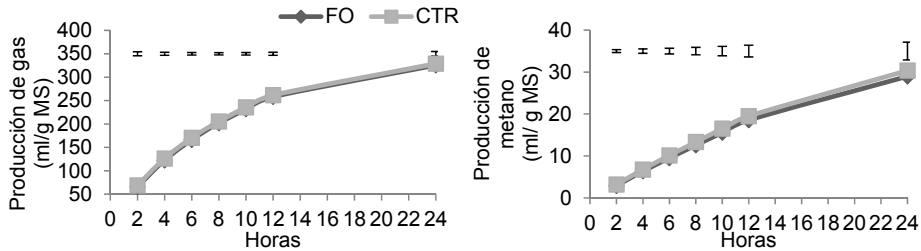
### MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se diseñó como un bloque completo al azar con 4 series de incubación *in vitro* (Theodorou et al., 1994) para evaluar el efecto de una mezcla comercial de aceites funcionales (compuestos de aceite de ricino y aceite de cáscara de castaña Oligobasics, USA LLC, Wilmington, DE) sobre la fermentación ruminal, la producción de metano y las poblaciones metanogénicas responsables de dicha emisión. Para ello, se utilizaron 24 botellas de 120 ml que se llenaron con muestras (600 mg) de las raciones (90% de un pienso comercial plus 10% de paja de cebada) que recibían los terneros donadores (4 animales/tandas de incubación) y 80 ml de una solución de incubación que incluía inóculo ruminal (obtenido después de filtrar contenido ruminal por doble gasa), solución mineral, tampón y solución reductora. En los frascos se añadieron aceites funcionales (FO; 500 µg/g MS de la ración basa), o no, (tratamiento control; CTR) y después se sellaron y se incubaron a 39±1 °C durante 24 horas. La presión del espacio de cabeza determinó y muestreó (0,1 ml) a intervalos de 2 h, hasta las 12 y a las 24 h tras el inicio del proceso de incubación para determinar la producción de gas y metano, en este último caso fue determinado por cromatografía de gases. La producción de gas se ajustó con el modelo:  $y=a(1-e^{-b(t-c)})$  (McDonald, 1981), en el cual “a” indica la producción potencial; “b” la ritmo fraccional de producción (ml/h) y “c” el tiempo de retraso (h). Tras 12 y 24 h, respectivamente, 2 botellas por tratamiento se abrieron para determinar las concentraciones de nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), (Chaney y Marbach, 1962), ácidos grasos volátiles (AGV; Jouany, 1982) y se procedió a la determinación de arqueas metanogénicas (AM) mediante qPCR. El ADN se extrajo utilizando un kit QIAamp y como cebadores específicos para determinar la abundancia absoluta de AM y también la abundancia relativa en relación al arqueas totales (2(-ΔCt)) se utilizaron los propuestos por Denman et al., (2007) y Øvreås y Torsvik (1998). El modelo de análisis consideró como factores fijos el efecto, bloque, tratamiento, tiempo de incubación así como sus interacciones. Los cálculos se realizaron mediante el paquete estadístico SAS (9.4). Las diferencias y tendencias significativas se declararon a niveles de  $P \leq 0,05$  y  $0,05 < P \leq 0,10$ , respectivamente.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presencia de aceites funcionales (FO) disminuyó numéricamente (Figura 1) los niveles de producción de gas (ml/g MS), aunque las diferencias en ningún caso alcanzaron relevancia estadística (196 vs. 200 para FO y CTR respectivamente,  $P=0,12$ ). Tampoco se observaron interacciones significativas entre los tratamientos y el tiempo/periodo de incubación. Se observó una tendencia de los FO a reducir la producción de metano (13,5 vs 14,3;  $P=0,06$ ) y la relación volumétrica (v/v) metano/gas total (0,09 vs 0,1 para FO y CTR respectivamente,  $P=0,05$ ). Cuando las producciones de gas y  $\text{CH}_4$  fueron modelizadas, la adición de FO no alteró ni el nivel (a) ni los ritmos (b) de producción ( $P>0,05$ ) aunque sí incrementó los tiempos de retraso (c: 0,118 vs. 0,044 EMS 0,024,  $P=0,04$ ). El incremento en los tiempos de retraso podría estar relacionado con la naturaleza grasa del tratamiento que dificultaría la interacción sustrato - microorganismo en el medio de cultivo (Devendra y Lewis, 1974).



**Figura 1.** Producción de gas y metano a largo de incubación in vitro en el tratamiento control (CTR) y en el tratamiento con aceites funcionales (FO)

En Tabla 1 se presentan los resultados relativos a los parámetros de fermentación y en ella se aprecia como la adición de aceites funcionales incrementó los niveles de pH ( $P<0,01$ ). Con respecto a la concentración de amoníaco, la interacción del tratamiento y las horas posteriores a la incubación sugiere que con FO se produce una reducción en la degradación de la proteína durante el transcurso del experimento (24 h; 312,2 vs 351,1 EMS 8,76  $P=0,05$  por FO y CTR, respectivamente). En concreto, si la adición de aceites funcionales limitó los procesos de fermentación microbiana, la menor liberación de AGVs explicaría los cambios de pH, y la limitación en los procesos de degradación proteica la liberación de  $\text{NH}_3$ .

**Tabla 1.** Efecto de la inclusión de aceites funcionales (FO) en el pH, N amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ), ácidos grasos volátiles (AGV) y las concertaciones molares sus principales componentes, la concentración absoluta de bacterias totales, arqueas metanogénicas (AM) y los valores relativos de AM en relación al cómputo total de arqueas.

	Tratamiento (Tr)		EMS	P valor		
	FO	CTR		Tr	H	Tr x Hora
pH	6,61 <sup>a</sup>	6,58 <sup>b</sup>	0,006	<0,01	<0,01	0,49
$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/l)	284,4 <sup>b</sup>	305,3 <sup>a</sup>	5,95	0,02	<0,01	0,05
AGV (mM)	54,4	56,7	1,01	0,12	<0,01	0,49
Proporción de AGVs (mol/100 mol)						
Ácido Acético	45,4 <sup>b</sup>	46,4 <sup>a</sup>	0,37	0,05	<0,01	0,25
Ácido Propiónico	34,3 <sup>a</sup>	33,5 <sup>b</sup>	0,24	0,03	<0,01	0,15
Ácido Butírico	12,7	12,5	0,12	0,25	0,39	0,66
AM Absoluto ( $\log_{10} \text{N}^\circ$ copias gen/g MF)	6,61	6,64	0,026	0,40	0,60	0,66
AM Relativo ( $2^{(-\Delta\text{Ct})} \times 10^2$ )	14,72 <sup>b</sup>	17,82 <sup>a</sup>	0,957	0,03	0,72	0,95

En una fila, medias con distinto superíndice presentan diferencias a  $P<0,05$

La concentración/producción total de AGV no fue modificada por la presencia de aceites funcionales aunque sí lo fueron las proporciones molares de ácido acético y propiónico; efectivamente la presencia de FO en el medio redujo la producción de acético e incrementó la de propiónico ( $P<0,05$ ); con ello se puede afirmar que la presencia en el medio de FO mejoraría la eficiencia de fermentación dado que el ácido propiónico es más eficientemente utilizado por el animal hospedador (Van Soest et al., 1991). No se detectaron cambios en la cuantificación absoluta ( $\log_{10}$  N° copias gen/g MF) de AM entre los tratamientos. Sin embargo, la abundancia relativa de AM en relación al contenido total de arqueas se redujo ( $P<0,05$ ). En este sentido hay que señalar que una reducción en la disponibilidad de ácido acético y por tanto de actividad reductora ( $H^2$ ) podría ser un factor limitante que explicase la reducción en la densidad de las AM (Chen y Wolin, 1979) aunque una hipotética toxicidad de FO frente a la población de arqueas metanogénicas no puede ser descartada (Seradj et al., 2014). En base a los resultados obtenidos, se puede concluir que el uso de la mezcla comercial de aceites funcionales puede alterar los parámetros de fermentación hacia los cambios deseables (mayor valor de pH, disminución de la degradación de la proteína y mayor producción de propionato a expensas del acetato) y también reducir la producción de metano sin cambios indeseables en la fermentación.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chaney, A.L., Marbach, E.P. 1962. Clin. Chem. 8: 130-132.
- Chen, M., Wolin, M.J. 1979. Appl. Environ. Microb. 38: 72-77.
- Cowan, M.M. 1999. Clin. Microb. Rev. 12: 564-582.
- Denman, S.E., et al. 2007. FEMS Microbiol. Ecol. 62: 313-322.
- Devendra, C., Lewis, D. D. 1974. Ind. J. Anim. Sci. 44: 917-938.
- Jouany, J.P., 1982. Sci. Aliments. 2, 131-144.
- Levin, D.A., 1976. Ann. Rev. Ecol. Sys. 7 : 121-159.
- Marino, et al. 2013. J. Anim. Sci. 91: E-Suppl. 2.
- McDonald, I. 1981. J. Agric. Sci. Camb. 96: 251-256.
- Øvreås, L., Torsvik, V. 1998. Microb. Ecol. 36: 303-315.
- Patra, A.K., Saxena, J. 2009. International J. Gen. Molecul. Microb. 96: 363-375.
- Seradj, A.R., et al., 2014. Anim. Feed Sci. Technol. 197: 85-91.
- Theodorou, M.K., et al. 1994. Anim. Feed Sci. Tech. 48: 185-197.
- Van Soest, P.J., et al. 1991. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.

### **IN VITRO EFFECTS OF A COMMERCIAL BLEND OF FUNCTIONAL OILS ON FERMENTATION, METHANE PRODUCTION AND RESPONSIBLE METHANOGENIC ARCHAEA**

**ABSTRACT:** A complete randomized block design trial with 4 in vitro incubation sets were prepared to evaluate the effect of a commercial blend of functional oils (FO; Oligo Basics, Brazil) on rumen fermentation, methane production and methanogenic archaea. Bottles were filled with concentrate diets and an incubation solution under a  $CO_2$  stream. Sealed bottles were incubated for 24 h and either dosed with 500  $\mu g$  of FO/gDM of basal diet or not (control). The headspace pressure was measured and sampled at 2 h intervals, up to 12 h and 24 h post incubation to determine gas and then methane concentration using GC. After DNA extraction, specific primers were used to determine absolute abundance of methanogenic archaea (MA) and the relative abundance of MA in relation to total archaea using qPCR. Bottles supplemented with FO showed a tendency (14.26 vs. 13.50) to decrease methane production and reduced the methane ratio ( $CH_4$ /gas; 0.093 vs. 0.089;  $P=0.05$ ), where the discrete lag time for gas production increased (0.04 vs.0.12;  $P=0.047$ ). Addition of FO improved rumen fermentation, increasing molar proportion of propionate (33.5 vs. 34.3;  $P=0.024$ ) and decreasing  $NH_3$ -N concentration (305.3 vs. 284.4;  $P=0.022$ ) and relative abundance of MA (17.8 vs. 14.7;  $P=0.03$ ).

**Keywords:** fermentation, functional oil, methanogenic archaea

## **INFLUENCIA DEL ACEITE ESENCIAL DE AJO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y LA DIVERSIDAD BACTERIANA EN FERMENTADORES RUSITEC**

García-Rodríguez J.<sup>1</sup>, Carro M.D.<sup>2</sup>, Saro C.<sup>1</sup>, Mateos I.<sup>1</sup>, Tejido M.L.<sup>3</sup>, Ranilla M.J.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León, España

<sup>2</sup>Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. <sup>3</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros, León, España. [mjrang@unileon.es](mailto:mjrang@unileon.es)

### **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años se han estudiado múltiples estrategias alternativas al uso de antibióticos promotores del crecimiento como aditivos en la alimentación de los rumiantes. Entre estas estrategias se encuentra el uso de los compuestos bioactivos de las plantas, como son los aceites esenciales, capaces de modificar la fermentación ruminal. El aceite esencial de ajo ha mostrado resultados prometedores en anteriores estudios *in vitro* de corta duración (Busquet *et al.*, 2005; Mateos *et al.*, 2013), pero los estudios para determinar su efecto a medio o largo plazo son muy escasos. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la adición de aceite esencial de ajo como modificador de la fermentación ruminal *in vitro* y la diversidad bacteriana en fermentadores semicontinuos tipo Rusitec, empleando una dieta formulada para ovejas lecheras.

### **MATERIAL Y METODOS**

El estudio se llevó a cabo utilizando cuatro fermentadores Rusitec en un diseño cruzado, con dos períodos de incubación de 14 días de duración cada uno de ellos. Cada fermentador recibió diariamente 15 g de concentrado y 15 g de heno de alfalfa, que se administraron dentro de dos bolsas de nailon (100 µm de tamaño de poro) y se mantuvieron dentro del fermentador durante 24 h y 48 h, respectivamente. En cada período de incubación dos fermentadores recibieron diariamente aceite esencial de ajo (180 mg/L Axiss France SAS (Bellegarde Sur Valserine, Francia)) disuelto en etanol y los otros dos (control) recibieron la misma cantidad de etanol. La dosis de aceite esencial de ajo se seleccionó a partir de los resultados obtenidos por Mateos *et al.* (2013) con el mismo aceite usando cultivos no renovados de microorganismos ruminales.

El día 1 se inoculó el sistema con contenido ruminal (líquido y sólido) de cinco ovejas fistuladas en el rumen que recibían la misma dieta incubada en los fermentadores. Los días 9, 10, 11 y 12 se determinaron la digestibilidad aparente de la dieta y la producción diaria de ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco y metano. Los días 13 y 14 se determinó la síntesis de proteína microbiana utilizando <sup>15</sup>N como marcador microbiano (Martínez *et al.*, 2010) y se tomaron muestras del contenido sólido y líquido de los fermentadores para analizar la diversidad de las poblaciones bacterianas mediante el análisis automático del espacio intergénico ribosomal (ARISA) según lo descrito por Saro *et al.* (2012).

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de la varianza con medidas repetidas utilizando el procedimiento MIXED del SAS. El tratamiento, el período de incubación, el día de muestreo y sus interacciones se consideraron efectos fijos. En el análisis del crecimiento microbiano y la diversidad bacteriana se tomaron como efectos fijos el tratamiento, la tanda de incubación y su interacción. En ambos casos se consideró el fermentador como efecto aleatorio. La significación estadística se estableció en  $P < 0,05$ . Finalmente, se realizó un análisis de componentes principales con los datos de los perfiles de ARISA de todas las muestras.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la tabla 1 se muestran los efectos del tratamiento con AJ sobre los parámetros medidos. La suplementación con aceite esencial de ajo no afectó ( $P > 0,05$ ) a la digestibilidad aparente de ninguna de las fracciones de la dieta, el pH del contenido de los fermentadores o a la producción de amoníaco. De la misma forma no se detectaron efectos ( $P > 0,05$ ) del AJ sobre la producción total de AGV, pero se observó un aumento ( $P < 0,001$ ) de la proporción molar de propiónico y un descenso de la de butírico, así como una tendencia al descenso del acético ( $P = 0,08$ ). La relación acético:propiónico también disminuyó ( $P < 0,001$ ) con el tratamiento. En estudios de fermentación *in vitro* con líquido ruminal se ha mostrado de forma constante y repetida que los compuestos derivados del ajo tienen la capacidad de

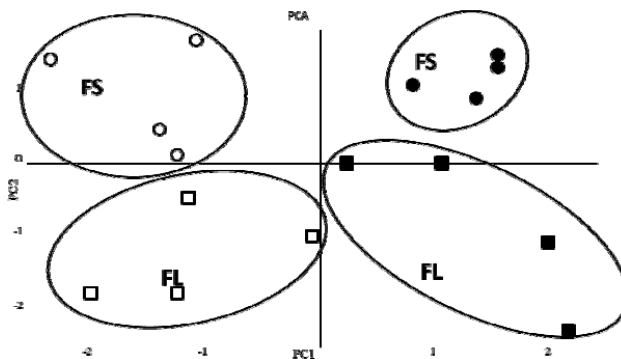
reducir la proporción molar de acético y de aumentar la de propiónico (Mateos *et al.*, 2013) sin afectar a la digestibilidad de nutrientes. La producción de metano se vio reducida ( $P < 0,001$ ) un 12,1 % por la adición de AJ, confirmando el potencial de los compuestos derivados del ajo para inhibir la producción de metano sin afectar negativamente a la de AGV ni a la digestibilidad. (Soliva *et al.*, 2011). La síntesis de proteína microbiana no se vio afectada ( $P > 0,05$ ) por el tratamiento con el aditivo. Por otra parte, no se observaron cambios significativos ( $P > 0,05$ ) debidos a la adición de AJ en el número de especies bacterianas predominantes ni en su diversidad en la fase sólida o líquida de los fermentadores Rusitec.

**Tabla 1.** Efecto de la adición de aceite esencial de ajo (Ajo) sobre la digestibilidad aparente de la dieta, la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y metano, la síntesis de proteína microbiana y las poblaciones bacterianas en la fase sólida y líquida en fermentadores Rusitec.

	Control	Ajo	eem <sup>1</sup>	P-valor
Digestibilidad aparente dieta (%)				
Materia orgánica	61,5	61,7	1,65	0,83
Fibra neutro detergente	45,9	44,6	2,87	0,36
NH <sub>3</sub> (mg/d)	209	220	86,6	0,42
AGV totales (mmol/d)	102	100	14,0	0,46
Acético (mol/100 mol)	54,5	53,6	0,34	0,08
Propiónico (mol/100 mol)	14,9	17,1	0,20	0,001
Butírico (mol/100 mol)	17,2	14,6	0,11	0,001
Acético/Propiónico (mol:mol)	3,67	3,14	0,013	0,001
Metano (mmol/d)	29,5	26,3	0,31	0,001
Flujo de N microbiano total (mg/d)	237	247	39,7	0,19
Eficiencia síntesis microbiana <sup>2</sup>	23,0	25,5	0,61	0,09
Diversidad bacteriana				
Número de picos:				
Fase sólida	37,8	34,3	1,01	0,48
Fase líquida	35,3	36,2	1,15	0,28
Índice de Shannon:				
Fase sólida	3,63	3,53	0,031	0,38
Fase líquida	3,53	3,58	0,036	0,39

<sup>1</sup> error estándar de la media; <sup>2</sup> g N microbiano/kg MO aparentemente fermentada

La figura 1 ilustra el análisis de componentes principales obtenido con los datos del ARISA. Las muestras presentaron agrupamientos marcadamente diferentes, mostrando una separación clara tanto entre las poblaciones bacterianas de las fases sólida y líquida (vertical) como entre las correspondientes al control y al tratamiento AJ (horizontal). Estos resultados concuerdan con la alta compartimentalización del sistema RUSITEC e indican que el AJ modificó la estructura de las poblaciones bacterianas desarrolladas en los fermentadores.



**Figura 1.** Análisis de componentes principales generado a partir de los perfiles del ARISA de las bacterias asociadas a la fase sólida (FS, ○) y líquida (FL, □) en los fermentadores control (marcadores vacíos) y en los que recibieron aceite esencial de ajo (marcadores llenos)

En conclusión, en fermentadores Rusitec que recibieron una dieta mixta la utilización de aceite esencial de ajo redujo la producción de metano sin afectar negativamente a la producción de AGV, la degradabilidad de la dieta o la diversidad bacteriana, aunque la estructura de las comunidades bacterianas en los fermentadores tratados fue diferente de la encontrada en los fermentadores control. Este estudio *in vitro* confirma el potencial de los compuestos derivados del ajo para modificar la fermentación ruminal de manera favorable, mitigando el impacto de la producción de metano sobre el medio ambiente sin repercutir negativamente en la utilización digestiva del alimento recibido por el animal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Busquet, M. *et al.* 2005. J. Dairy Sci. 88: 4393-4404.
- Mateos, I. *et al.* 2013. Anim. Prod. Sci. 53: 299-307.
- Saro, C. *et al.* 2012. J. Anim. Sci. 90: 4487-4494.
- Soliva, C. *et al.* 2011. Br. J. Nutr. 106: 114-122.
- Martínez, M.E. *et al.* 2010. Anim. Feed Sci. Technol. 158 : 126-135.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2008-04707-C02-02 (financiado por el MINECO) y Acción Integrada AIB2010NZ-00190.

#### INFLUENCE OF GARLIC ESSENTIAL OIL ON RUMINAL FERMENTATION AND BACTERIAL DIVERSITY IN RUSITEC FERMENTERS

**ABSTRACT:** The objective of the current study was to evaluate the effects of adding garlic essential oil on *in vitro* ruminal fermentation in Rusitec fermenters. Four fermenters were used in a crossover design and two incubation runs, with a control (no additive) and a dose of 180 mg/L of garlic essential oil. Fermenters were inoculated with ruminal contents from 5 sheep fed a 50:50 alfalfa hay:concentrate diet and the same diet was fed to the fermenters. Supplementation with garlic essential oil did not affect ( $P>0.05$ ) total volatile fatty acid production, fermenters' pH or ammonia production, but increased ( $P<0.001$ ) propionate proportion and decreased ( $P<0.001$ ) that of butyrate. In addition, acetate/propionate ratio was decreased ( $P<0.001$ ) and there was a trend ( $P=0.077$ ) to lower acetate proportions in the garlic essential oil-supplemented fermenters. Methane production was significantly decreased ( $P<0.001$ ) by garlic essential oil (29.5 vs 26.3 mmol/d for control and garlic essential oil, respectively). Microbial protein synthesis and its efficiency were not affected ( $P>0.05$ ) by AJ, but garlic essential oil-supplementation affected the structure of bacterial populations in both the solid and liquid phases of the fermenters. The results show the potential of essential garlic oil as a ruminal fermentation modifier, decreasing methane production without affecting the nutritive utilization of diet.

**Keywords:** garlic oil, Rusitec fermenters, microbial growth, bacterial diversity.

## **EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN DIETAS PARA EL CEBO DE TERNEROS SOBRE LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE CEBADA**

Amanzougarene, Z., Yuste, S., Vega, A. y Fondevila, M.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. [mfonde@unizar.es](mailto:mfonde@unizar.es)

### **INTRODUCCIÓN**

La intensificación de los sistemas de producción de carne en rumiantes supone la aparición frecuente de procesos de acidosis (Nagaraja y Titgemeyer, 2007), pero un buen manejo alimentario puede prevenir la aparición de estos trastornos digestivos. El uso de aditivos zootécnicos en dietas para ganado vacuno, entre ellos los aceites esenciales, ha generado interés (Busquet et al., 2006; Benchaar et al., 2007), pero la mayor parte de los estudios realizados con estos compuestos bioactivos se han enfocado a dietas de ganado lechero para reducir la producción de metano, y para mejorar la producción y la calidad de leche. El objetivo de este trabajo fue estudiar, en condiciones *in vitro*, si la inclusión de aceites esenciales en dietas ricas en concentrados para el cebo de terneros puede reducir o ralentizar el ritmo de la fermentación microbiana y con ello evitar el descenso de pH ruminal, contribuyendo a la prevención de la acidosis.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizaron tres tandas de incubación *in vitro* de 24 horas, a 39 °C y en atmósfera de CO<sub>2</sub>, en un sistema con cultivos ruminales no renovados. Se empleó cebada como modelo de sustrato concentrado, sola o suplementada con tres niveles de eugenol (60, 120 y 180 mg/g) y cinamaldehído (30, 60 y 90 mg/g), provistos por NOREL Animal Nutrition, y una mezcla comercial de distintos aceites esenciales (CRINA Ruminants, DSM Nutritional Products; 30, 60 y 90 mg/g). Se incubaron tres botellas por tratamiento y tanda, con 80 ml de medio de incubación y 500 mg de sustrato, reduciendo la concentración de bicarbonato en la solución de incubación para mantener el pH a 6,2 (Amanzougarene et al., 2015). Como inóculo se empleó líquido de rumen procedente de tres terneros de cebo canulados, utilizando inóculo de un ternero diferente en cada tanda. Se midió la producción de gas por variaciones de presión a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 y 24 h de incubación, expresada por unidad de materia orgánica (MO). A las 8 h se determinó el pH del medio en una botella por tratamiento. Al finalizar la incubación, se determinó el pH y se estimó la desaparición de materia seca (dMS). La masa microbiana se determinó por centrifugación de la fase líquida a 10.000 x g, durante 20 minutos (Hsu y Fahey, 1990).

Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA, considerando la tanda de incubación como bloque y la media de las botellas como unidad experimental. Los niveles de inclusión de cada aditivo se compararon respecto al control (sin aditivo) mediante el test de Dunnett y se establecieron contrastes ortogonales para comparar los aditivos entre sí y contrastes polinomiales (lineal y cuadrático) para estimar la tendencia en la respuesta de cada aditivo. Las diferencias se consideraron significativas cuando  $P < 0,05$ .

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Independientemente de su nivel, la inclusión de eugenol no afectó a la producción de gas, excepto a las 24 h, cuando se observó un descenso cuadrático ( $P < 0,05$ ) al incrementar el nivel de inclusión (Tabla 1). La adición de cinamaldehído promovió un descenso en la producción de gas a todas las horas de incubación, siendo la evolución de la respuesta cuadrática. Los niveles medio y alto promovieron una menor producción de gas en relación a la cebada sin suplementar ( $P < 0,05$ ). Por el contrario, la inclusión de la mezcla promovió un aumento lineal del volumen de gas producido a partir de las 8 h de incubación ( $P < 0,05$ ). La comparación entre los diferentes aditivos muestra que, a lo largo de todo el periodo de control, la adición de la mezcla promovió un mayor volumen de gas que el eugenol ( $P < 0,05$ ) y cinamaldehído ( $P < 0,001$ ), observándose también una mayor producción de gas con la inclusión de eugenol que con la de cinamaldehído ( $P < 0,001$ ).

**Tabla 1.** Volumen de gas producido (ml/g MO) a distintos tiempos de incubación in vitro, con cebada sola (0) o con tres niveles (bajo, medio y alto) de eugenol, cinamaldehído y mezcla

	Nivel	tiempo de incubación, h					
		2	6	10	12	18	24
Control	0	15,9	45,4	71,1	82,9	99,3	117,9
Eugenol	Bajo	13,0	44,5	70,2	80,3	95,4	111,6
	Medio	12,9	42,1	64,9	75,6	88,5	103,4
	Alto	10,6	40,0	62,1	71,0	85,1	99,9
valor medio	---	12,2	42,2	65,7	75,6	89,7	105,0
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	NS	NS	NS	0,047
Cinamaldehído	Bajo	10,6	34,5	59,5	70,4	84,7	100,2
	Medio	6,6*	19,9*	35,4*	43,3*	57,1*	72,7*
	Alto	5,3*	15,0*	27,9*	34,8*	48,7*	63,5*
valor medio	---	7,5	23,1	40,9	49,5	63,5	78,8
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		0,014	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Mezcla	Bajo	16,0	45,7	71,9	83,0	99,2	116,8
	Medio	16,1	48,1	77,5	90,6	109,5	128,1
	Alto	16,4	51,8	86,2	99,6	115,4	132,1
valor medio	---	16,2	48,5	78,5	91,1	108,0	125,7
<i>P lineal</i>		NS	NS	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
desviación residual estándar		3,35	6,56	8,40	9,24	10,03	10,62

NS:  $P > 0,05$ ; †  $P < 0,10$ ; \*: valores con asterisco indican diferencias con el Control a  $P < 0,05$

La inclusión de eugenol aumentó cuadráticamente ( $P=0,002$ ) el pH a las 24 h (Tabla 2), observándose un efecto del nivel más alto respecto al control. Este parámetro también aumentó, linealmente ( $P=0,03$ ), con la inclusión de la mezcla, aunque en menor magnitud. No se observó respuesta en el pH del medio con la inclusión de cinamaldehído ( $P > 0,05$ ). Resultados previos (Amanzougarene et al., 2015) indican que, en las presentes condiciones de incubación, la capacidad tampón se consume después de las 8 h debido a la reducción de la concentración del tampón para ajustar el pH del medio a 6,2. Por tanto, las diferencias en el pH a 8 y 24 h muestran el potencial acidificante en presencia del aditivo. La dMS descendió con la inclusión de eugenol y cinamaldehído, mostrando una evolución cuadrática ( $P < 0,001$ ) y lineal ( $P < 0,001$ ), respectivamente, mientras que aumentó linealmente con la adición de la mezcla ( $P < 0,001$ ). La inclusión eugenol provocó un descenso cuadrático de la masa microbiana ( $P < 0,001$ ), aunque hay que tener en cuenta que el método de estimación de este parámetro es poco específico, y determina únicamente la masa microbiana de la fase líquida, por lo que debe tomarse con precaución.

Los resultados sugieren que en dietas para terneros de cebo no cabe esperar un efecto manifiesto de la inclusión de eugenol sobre la fermentación de la cebada, aunque puede promover un ambiente más favorable en términos de pH. Por su parte, tanto la producción de gas como la dMS disminuyeron con la incorporación de cinamaldehído, explicándose la ausencia de efecto sobre el pH de incubación por el descenso en la magnitud de la fermentación. La reducción de la desaparición de materia seca de la cebada durante el proceso de fermentación indica que ambos aceites esenciales pueden aumentar la disponibilidad de sustrato disponible para su utilización en tramos posteriores del tracto digestivo, aunque no ha sido comprobado en este trabajo. La inclusión de la mezcla aumentó la fermentación de la cebada, tanto en producción de gas producido como en dMS, sin afectar negativamente el pH de incubación. La combinación de aceites esenciales puede promover un efecto diferente debido a potenciales interacciones sinérgicas o antagónicas sobre la fermentación de cereales en dietas para terneros de cebo, más allá de su incorporación individual. Así, la mezcla de aceites esenciales mejora la fermentación de la

cebada y aumenta la desaparición ruminal de sustrato, pero mantiene similares condiciones de pH.

**Tabla 2.** Valores de pH a las 8 y 24 h de incubación, y desaparición de materia seca (dMS) y masa microbiana (mg/ml) a las 24 h, con cebada sola (0) o con tres niveles (bajo, medio y alto) de eugenol, cinamaldehído y mezcla.

	Nivel	pH 8 h	pH 24 h	dMS	Masa microbiana
Control	0	6,18	5,91	0,424	1,99
Eugenol	Bajo	6,18	5,97	0,404*	1,65*
	Medio	6,21	6,04	0,369*	1,52*
	Alto	6,14	6,06*	0,355*	1,51*
valor medio	---	6,18	6,02	0,376	1,56
<i>P</i> lineal		NS	NS	NS	0,01
<i>P</i> cuadrática		NS	0,002	<0,001	<0,001
Cinamaldehído	Bajo	6,13	5,99	0,399	2,05
	Medio	6,13	5,96	0,374*	2,10
	Alto	6,17	5,95	0,347*	2,19
valor medio	---	6,14	5,97	0,373	2,11
<i>P</i> lineal		NS	NS	<0,001	NS
<i>P</i> cuadrática		NS	NS	NS	NS
Mezcla	Bajo	6,17	5,93	0,433	1,99
	Medio	6,17	5,97	0,489*	2,03
	Alto	6,17	6,01	0,487*	2,04
valor medio	---	6,17	5,97	0,470	2,02
<i>P</i> lineal		NS	<0,05	<0,001	NS
<i>P</i> cuadrática		NS	NS	NS	NS
desviación residual estándar		0,062	0,053	0,0164	0,130

NS:  $P > 0,05$ ; †  $P < 0,10$ ; \*: valores con asterisco indican diferencias con el Control a  $P < 0,05$

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amanzougarene, Z, Schauf, S, Fondevila, M. 2015. XVI Jornadas de AIDA, vol I: 212-214
- Benchaar, C, Chaves, AV, Fraser, GR, Wang, Y, Beauchemin, KA, & McAllister, TA. 2007. *Can. J. Anim. Sci.* 87: 413-419
- Busquet, M, Calsamiglia, S, Ferret, A, & Kamel, C. 2006. *J. Dairy Sci.* 89:761-771
- Hsu JT & Fahey GCJr. 1990. *J. Dairy Sci.* 73: 149-152
- Nagaraja TG & Titgemeyer EC. 2007. *J. Dairy Sci.* 90: E17-38

**Agradecimientos:** Trabajo financiado con el Proyecto AGL 2013-46820 (MINECO), con la ayuda del Departamento de Industria e Innovación (Gobierno de Aragón) y el Fondo Social Europeo. S. Yuste disfrutó una beca FPU (Ministerio de Educación, Cultura y Deporte).

### Effect of adding essential oil compounds in diets for intensive beef production on *in vitro* barley fermentation

**Abstract.** Fermentation of barley, alone or with three levels of essential oil compounds (eugenol, cinnamaldehyde and a commercial mixture) was assayed *in vitro* in a low-buffered medium with rumen inoculum from beef steers. Eugenol did not affect gas production from barley but increased pH at 24 h ( $P < 0,05$ ), whereas cinnamaldehyde linearly reduced gas volume ( $P < 0,001$ ) but did not affect pH. Inclusion of a mixture of essential oils increased gas production and dry matter disappearance ( $P < 0,01$ ), while linearly increased incubation pH at 24 h ( $P = 0,03$ ). Use of essential oil compounds depends on the objectives established, since their effect largely differ among the nature of the compounds used.

**Keywords:** essential oils, pH, *in vitro* barley fermentation, intensive beef feeding



## OPTIMIZACIÓN *IN VITRO* DEL USO DE MICROBIOTA RUMINAL COMO PROBIÓTICO. 1. EFECTO DE LA DIETA, MOMENTO DE MUESTREO Y FRACCIÓN RUMINAL

Nejjam, I., Palma, J.M., Serrano R., Jimenez, E., Jimenez, I., Martín-García, A.I., Yáñez-Ruiz, D.R. y Belanche, A.

Estación Experimental del Zaidín (CSIC), C/Profesor Albareda 1, 18008, Granada, España.  
[a.belanche@csic.es](mailto:a.belanche@csic.es)

### INTRODUCCIÓN

Los rumiantes al nacer carecen de microbiota ruminal, que va colonizando progresivamente el rumen como consecuencia del contacto con animales adultos. Dicha colonización puede verse comprometida en explotaciones lecheras cuando los animales recién nacidos son separados de sus madres tras el parto y alimentados con leche artificial sin contacto con animales adultos. En este sentido, recientes estudios han demostrado que el uso de algunos prebióticos en rumiantes a edades tempranas ejerce un efecto beneficioso sobre la colonización microbiana ruminal (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2015). Sin embargo, la utilización de probióticos en estas edades ha sido poco estudiado. Se podría pensar que la inoculación de animales a edades tempranas con microbiota ruminal procedente de adultos, a modo de probiótico, podría acelerar el desarrollo microbiológico y anatómico del rumen, e incluso programarlo para un uso más temprano y eficiente de una determinada dieta dependiendo del modelo de producción (intensivo a base de concentrado vs. extensivo a base de forraje). Sin embargo, hasta la fecha no existe constancia de cuál sería el tipo de microbiota ruminal que tendría más posibilidades de éxito como probiótico.

El objetivo del presente trabajo fue identificar los factores que maximizan la actividad de la microbiota ruminal para su posterior uso como probiótico. Para ello se realizaron dos ensayos *in vitro*, uno para seleccionar el tampón fosfato que mejor fomente la fermentación de distintos tipos de dieta, y un segundo ensayo para determinar el efecto de la dieta, momento de muestreo y fracción ruminal sobre la actividad de la microbiota ruminal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron dos dietas experimentales: una dieta 100% forrajera (FOR) compuesta por heno de alfalfa y heno de avena (50/50), y una dieta concentrada (CON) compuesta por 80% de concentrado y 20% del forraje anteriormente descrito. Como fuente de inóculo, se utilizaron 8 cabras Murciano-Granadinas, con un peso vivo de 47±5,6 kg, que fueron asignadas aleatoriamente a las dos dietas experimentales. Tras un periodo de dos semanas de adaptación a la dieta, en una fase preliminar se estudió la evolución del pH ruminal mediante mediciones seriadas a 0, 2, 4 y 6 horas post-ingesta durante tres días consecutivos.

En base a estos resultados se diseñó un primer experimento consistente en la evaluación *in vitro* del efecto de 3 soluciones tampón sobre el pH y patrón de fermentación ruminal de ambos tipos de dieta con el objeto de conseguir una mejor simulación *in vitro* de las condiciones de fermentación *in vivo*. Para ello se realizaron incubaciones utilizando como inóculo líquido ruminal de animales individuales ( $n=4$ ) tomado a las 0 y 3 h post-ingesta. La incubación se realizó en 96 botellas Wheaton de 120 ml de capacidad donde se añadió 0,5 g MS de las dietas experimentales (FOR) o (CON). El medio de cultivo (50 ml) consistió en una mezcla de líquido ruminal (33%) y una de las tres disoluciones tampón (67%) para mantener el pH a un nivel alto (6,80), medio (6,25) o bajo (5,75) de acuerdo a lo descrito por Amanzougarene *et al.* (2015). Tras 24 h de incubación se procedió al muestreo para determinar pH, ácidos grasos volátiles (AGV), amonio y producción de gas (PG). Posteriormente se realizó un segundo ensayo en el que se seleccionó uno de los tres tampones anteriores (pH 6,80) para evaluar el efecto del tipo de dieta (FOR vs CON), momento de muestreo (0 vs 3 h post-ingesta) y el tipo de inóculo ruminal (líquido vs contenido completo) sobre la fermentación ruminal *in vitro*. En este ensayo se utilizaron 64 botellas Wheaton durante 72h realizando mediciones de la presión de gas a las 2, 4, 7, 10, 24, 48 y 72 h respectivamente. A las 24 h de incubación se procedió a la toma de muestra para determinar el patrón de fermentación y la concentración de bacterias, arqueas, hongos anaerobios y protozoos mediante PCR cuantitativa (Belanche *et al.*, 2016). Las presiones de gas se convirtieron en unidades de volumen (ml) y se ajustaron a la ecuación predictiva

descrita por France *et al.* (2000). La materia orgánica fermentable (MOF) fue calculada en base a la producción de AGV (Marty y Demeyer, 1973). Tras promediar los valores de las 2 réplicas analíticas, los datos se analizaron mediante un ANOVA factorial donde los efectos principales fueron dieta y tampón (ensayo 1) y dieta, fracción y momento de muestreo (ensayo 2), mientras que el efecto animal se consideró como aleatorio en ambos ensayos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El seguimiento del pH ruminal *in vivo* mostró un descenso más acusado entre las 2 y 4 h post-ingestión para la dieta CON (7,02, 5,79, 5,96 y 5,98) que para la dieta FOR (7,39, 6,97, 6,78 y 6,92 a las 0, 2, 4 y 6 h post-ingesta respectivamente), lo que determinó la elección de los tampones de pH utilizados en el primer ensayo (Tabla 1). Este ensayo mostro que el tampón que genera un mayor pH promueve una mayor actividad fermentativa en términos de concentración de AGV (P=0,001), amonio (P=0,005), MO fermentable (P=0,006) y producción de gas (P<0,001). Además se observó que este efecto es independiente del tipo de dieta (ausencia de interacciones significativas), por lo que se procedió a utilizar dicho tampón en los ensayos sucesivos.

**Tabla 1.** Efecto de la dieta y el tampón fosfato sobre la fermentación ruminal *in vitro*.

	Dieta		Tampón pH			SED <sup>1</sup>	Valor P	
	FOR	CON	Alto	Medio	Bajo		Dieta	Tampón
pH	6,13	5,67	6,48 <sup>a</sup>	5,79 <sup>b</sup>	5,44 <sup>c</sup>	0,173	0,003	0,001
NH <sub>3</sub> -N, mg/100ml	23,3	48,6	48,2 <sup>a</sup>	26,4 <sup>b</sup>	33,2 <sup>b</sup>	15,05	0,04	0,005
AGV, mM	70,8	91,6	89,2 <sup>a</sup>	80,9 <sup>b</sup>	73,5 <sup>b</sup>	11,27	0,06	0,001
Acetato, %	70,0	54,0	61,9	62,0	62,1	2,51	0,001	0,93
Propionato, %	16,3	23,0	20,0	19,5	19,5	2,28	0,01	0,81
Butirato, %	10,1	15,9	12,5	13,2	13,4	1,65	0,001	0,54
MOF <sup>2</sup> , mg	346	475	448 <sup>a</sup>	411 <sup>ab</sup>	374 <sup>b</sup>	59,5	0,03	0,006
Producción de gas, ml	63,6	102,7	98,4 <sup>a</sup>	79,9 <sup>b</sup>	65,2 <sup>c</sup>	14,98	0,007	0,001

<sup>1</sup> Error estándar de la diferencia, la interacción no fue significativa, <sup>2</sup> Materia orgánica fermentable.

En el segundo ensayo (Tabla 2) se observó que el tipo de dieta ejerce un efecto (P<0,05) sobre la fermentación ruminal *in vitro*. En comparación con la dieta FOR, la CON fomentó una mayor fermentación ruminal en términos de AGV (+21%), MO fermentable (+26%), producción de gas (+30%), así como en la velocidad de producción de gas (+36%). Por contrario la dieta FOR promovió un mayor porcentaje de acetato (P=0,008) y una mayor concentración de hongos anaerobios (P=0,007) y protozoos (P=0,001) sugiriendo una mayor actividad fibrolítica. El momento de muestreo también ejerció un efecto considerable sobre la fermentación *in vitro*, la utilización de microbiota ruminal muestreada a 3 h post-ingestión resultó ser más activa en términos de producción de AGV (+12%), MO fermentable (+13%) y producción de gas (+24%), así como tiende a proporcionar una mayor concentración ruminal de bacterias (P=0,09) y arqueas (P=0,05) que el inoculo procedente de animales en ayunas. Por contrario la concentración de hongos anaerobios (P=0,002) y protozoos (P=0,08) fue superior en el inóculo proveniente de animales en ayunas, lo que sugiere una lenta colonización del alimento por parte de estos grupos microbianos. En cuanto al tipo de fracción ruminal considerada, no se encontraron diferencias entre la utilización de líquido ruminal vs contenido ruminal (P>0,05). Únicamente se detectó una tendencia a incrementar el porcentaje de propionato (P=0,08) en la fracción líquida, así como una menor concentración de hongos anaerobios (P=0,002) como consecuencia de tropismo de estos microorganismos hacia la fracción sólida.

En conclusión, la microbiota presente en el líquido ruminal de animales alimentados con concentrado a las 3 h post-ingestión representa el inóculo con la mayor actividad microbiana posible, por ello debería ser el de elección para evaluar su efecto probiótico en futuros experimentos *in vivo*.

**Tabla 2.** Efecto de la dieta (D), fracción del contenido ruminal (F) y el tiempo de muestreo (T) sobre la fermentación y microbiota ruminal *in vitro*.

	Dieta		Fracción		Tiempo		SED <sup>1</sup>	Valor P		
	FOR	CON	L	LS	0h	3h		D	F	T
pH	6,63	6,01	6,38	6,25	6,57	6,07	0,204	0,005	0,14	0,001
AGV (mM)	85,8	103,6	95,9	93,5	89,5	99,9	9,040	0,008	0,59	0,03
Acetato, %	69,2	60,7	64,2	65,6	62,1	67,7	2,010	0,001	0,11	0,001
Propionato, %	17,6	19,7	19,1	18,1	19,2	18,1	1,603	0,16	0,08	0,06
Butirato, %	9,93	14,7	12,3	12,3	12,6	12,0	1,191	0,003	0,95	0,17
MOF <sup>2</sup> , mg	419	527	479	467	444	502	45,2	0,003	0,62	0,02
Producción de gas										
B <sup>3</sup> , mL	176	229	198	207	181	224	22,5	0,03	0,21	0,001
C <sup>4</sup> , µL/h	51,4	69,9	58,2	63,2	57,5	63,8	6,78	0,001	0,17	0,10
Metano, mM	5,45	6,36	5,77	6,04	5,56	6,25	1,17	0,08	0,20	0,003
Metano, mmol/d	0,67	1,15	0,86	0,95	0,72	1,10	0,198	0,03	0,16	0,001
Microbiota, log /mL										
Bacterias	11,8	12,0	11,9	11,9	11,8	12,0	0,304	0,36	0,59	0,09
Arqueas	8,66	8,71	8,78	8,59	8,57	8,80	0,241	0,78	0,11	0,05
Hongos	7,24	6,64	6,79	7,08	7,21	6,67	0,204	0,007	0,002	0,001
Protozoos	9,45	9,93	9,70	9,69	9,83	9,56	0,280	0,01	0,96	0,08

<sup>1</sup> Error estándar de la diferencia, las interacciones no fueron significativas. <sup>2</sup> Materia orgánica fermentable. <sup>3</sup> Potencial de producción de gas. <sup>4</sup> Velocidad de producción de gas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Amanzougarene Z. et al 2015 ITEA Tomo 1, 212-214 • Belanche A. et al., 2016 *Frontiers Microbiol.* 7:1-17 • France J., et al. 2000. *Br. J. Nutr.* 83:143–150 • Marty R. J. & Demeyer D.I. 1973, *Br. J. Nutr.* 30:369-376 • Yañez-Ruiz, D.R., et al. 2015. *Frontiers Microbiol.* 6:1133

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el CSIC (Proyecto Intramural 201440E048) y MINECO (BFU2014-57964-R).

#### IN VITRO OPTIMIZATION OF THE USAGE OF RUMINAL MICROBIOTA AS A PROBIOTIC: I EFFECT OF DIET, SAMPLING TIME AND RUMEN FRACTION

**ABSTRACT:** The aim of this work was to elucidate the best conditions for preparing rumen fluid as probiotics by the analysis of fermentation parameters resulting from *in vitro* incubations in batch cultures. The effect of the diet (forage vs concentrate) and three pH buffers (6,80, 6,25 y 5,75) was studied in trial 1, while the effect of the diet, sampling time (0 vs. 3 h) and ruminal fraction (liquid vs whole content) was assessed in trial 2. Eight goats were randomly allocated to the experimental diets and used as donors of rumen microbiota. Trial 1 showed that the buffer which generates highest pH promoted the higher fermentation activity in terms of VFA, ammonia, fermentable OM and gas production, being this effect diet independent. Trial 2 showed that the microbiota adapted and fed with concentrate diet had a higher activity (+21 to +36%) than observed in forage diets. Rumen microbiota sampled at 3 h after feeding also was more active (+12 to +24%) than that sampled before feeding, while the type of ruminal fraction considered had a negligible effect in most parameters. Thus, the rumen microbiota sampled at 3 h after animals are fed concentrate has the highest activity and should be tested as probiotic in further studies.

**Keywords:** goat, *in vitro*, probiotic, rumen microbiota

## **OPTIMIZACIÓN *IN VITRO* DEL USO DE MICROBIOTA RUMINAL COMO PROBIÓTICO. 2. EFECTO DEL INÓCULO, DIETA Y MÉTODO DE CONSERVACIÓN**

Palma, J.M., Nejjam I., Serrano, R., Jiménez, E., Jiménez, I., Martín-García, A.I., Yáñez-Ruiz, D.R. y Belanche, A.

Estación Experimental del Zaidin, CSIC. C/ Profesor Albareda 1, 18008, Granada, España.  
a.belanche@csic.es

### **INTRODUCCIÓN**

El uso de probióticos en rumiantes para mejorar la eficiencia de la digestión del alimento y de la fermentación ruminal ha sido estudiado ampliamente en los últimos años debido a su efecto beneficioso sobre la comunidad microbiana presente en el rumen ayudando al animal a mantenerse en un buen estado de salud y a aumentar su producción (Choct, 2009). Dependiendo de su origen, los microorganismos probióticos pueden ser de tipo autóctono o autóctono (FAO, 2016). En el primer grupo, el microorganismo más estudiado es *Saccharomyces cerevisiae* (Newbold, 1995), mientras que del segundo grupo, lo habitual es utilizar cepas específicas de microorganismos del tracto gastrointestinal (Kenney *et al.*, 2015). Sin embargo, la inoculación directa de microbiota ruminal como probiótico está mucho menos estudiada (Zhong *et al.*, 2014) debido principalmente a la falta de disponibilidad de animales donantes y la dificultad conservar dicha microbiota ruminal.

Recientes ensayos han demostrado que la utilización de prebióticos en rumiantes a edades tempranas ejerce un efecto positivo sobre la colonización microbiana ruminal (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2015). Por ello se podría pensar que la inoculación de animales a edades tempranas con microbiota ruminal procedente de adultos podría acelerar el desarrollo microbiológico del rumen, e incluso programarlo para un uso más temprano y eficiente de una determinada dieta dependiendo del modelo de producción (forraje vs. concentrado). Esta última hipótesis sería posible si se demostrase que la microbiota (inóculo) adaptada a una determinada dieta fuese realmente capaz de propiciar una mayor fermentación de dicha dieta en comparación con una microbiota no adaptada a dicho sustrato.

A pesar de estas expectativas, hasta la fecha no existe constancia de cuál sería el tipo de microbiota ruminal que tendría más posibilidades de éxito como probiótico. Por ello el objetivo del presente trabajo fue identificar los factores que maximizan la actividad de la microbiota ruminal para su posterior uso como probiótico. En particular se evaluó el efecto de diferentes tipos de procesamiento de la microbiota ruminal (fresco vs congelado vs liofilizado) sobre la actividad microbiana. Asimismo, se pretendió dilucidar si existe algún tipo de interacción entre el tipo de inóculo utilizado (adaptado a diferentes dietas) y la fermentabilidad de distintas dietas objeto de estudio (forraje vs concentrado).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 8 cabras hembra de la raza Murciano-Granadina que disponían de cánula ruminal. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 2 grupos experimentales (n=4). El primer grupo (IF) fue alimentado con una dieta forrajera consistente en heno de alfalfa y heno de avena (50/50), y el segundo grupo fue alimentado con una dieta concentrada (IC) a base de 80% de concentrado y 20% de forraje. La dieta fue distribuida en dos tomas diarias. La toma de muestra de inóculo se realizó a las 3 h tras la administración de la primera toma. El contenido ruminal de cada cabra fue filtrado y dividido en tres alícuotas. Una fue utilizada en fresco (FRE) y las otras dos alícuotas restantes fueron mezcladas con 5% de dimetilsulfóxido como crio-preservante, refrigeradas a 4°C durante 30 minutos y posteriormente congeladas a -80°C. Una de ellas fue utilizada tras su descongelación (DES) mientras que la otra alícuota fue utilizada tras su liofilización (LIO). El líquido ruminal FRE y DES fueron dispensados en botellas Wheaton de 120 ml con tampón de incubación precalentado anaeróticamente en una proporción (1:2). El líquido ruminal liofilizado fue igualmente distribuido en botellas, añadiéndose una cantidad de materia seca equivalente a la encontrada en los tratamientos anteriores y reconstituido con 50 ml del tampón de incubación. Las botellas contenían, asimismo, sustratos de dieta forrajera (DF) o dieta concentrada (DC). Se utilizaron 4 réplicas biológicas por tratamiento por duplicado dando lugar a un total de 96 botellas que fueron incubadas a 39 °C en anaerobiosis. La presión de gas fue medida a 0, 2, 4, 7, 10, 24, 48, 72 y 96 horas de incubación. Estas medidas de presión fueron transformadas a volumen y los datos de producción de gas se ajustaron a la



vieron afectados por este factor. La ausencia de una interacción entre inóculo y dieta sugiere que el hecho de que la microbiota esté adaptada a una determinada dieta no proporciona ningún beneficio respecto a aquella que no lo está en lo referido a la concentración de microorganismos y su actividad fermentativa.

El tipo de procesado del inóculo resultó ser el factor que mayor impacto generó sobre la actividad microbiana. Como era de esperar, el líquido ruminal fresco fue el que originó una mayor concentración en todos y cada uno de los grupos microbianos, así como una mayor fermentación del sustrato ( $P < 0,001$ ). En comparación con el líquido ruminal fresco, la utilización de líquido ruminal descongelado originó una reducción significativa de la microbiota total (-1,04 log), así como la concentración de bacterias (-0,24), hongos anaerobios (-0,14) y protozoos (-1,20). En particular los protozoos Holotricos (*Isotricha* y *Dasytricha*) fueron los que peor resistieron la congelación, por el contrario *Entodinium* fue el que mejor se sobrepuso a dicho reto. Esta disminución de la masa microbiana en el inóculo descongelado originó un descenso considerable de la producción de AGV (-14%), MO fermentable (-16%) y producción de gas (-13%). Por su parte, la liofilización del líquido ruminal congelado resultó ser un procesado todavía más agresivo y originó una mayor reducción de la microbiota total (-3,57 log) en comparación con FRE. Además la mayoría de los protozoos (>99%) no fueron capaces de sobrevivir a la liofilización. Como consecuencia de ello, el uso de líquido ruminal liofilizado en comparación con el fresco, originó una baja actividad microbiana en términos de AGV (-51%), MO fermentable (-50%), así como una menor producción de gas (-19%) y a una menor velocidad (-69%).

En conclusión, la microbiota presente en el líquido ruminal fresco procedente de animales alimentados con concentrado representa el inóculo con la mayor actividad microbiana posible para fermentar un sustrato similar *in vitro*, por ello debería ser el de elección para evaluar su efecto probiótico en futuros experimentos *in vivo*. Por el contrario la congelación y/o liofilización de la microbiota ruminal podría comprometer la viabilidad de los microorganismos y su potencial uso como probiótico.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Choct, M. 2009. Br. Poul. Sci. 50: 9-15
- Cotter, P.D., et al. 2005. Nat. Rev. Microbiol. 3: 777-788
- France, J., et al., 2000. Br. J. Nutr. 83: 143-150
- Kenney, N.M., et al. 2015. Am. Soc. Ani. Sci. 93: 2336-2348
- Marty R. J., Demeyer D.I. 1973, Br. J. Nutr. 30:369-376
- Newbold, C.J. 1995. Ann. Zootech. 45: 329-335
- Yáñez-Ruiz, D.R., et al. 2015. Frontiers Microbiol. 6: 1133
- Zhong, R.Z., et al. 2014. Livest. Sci. 162: 154-158.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el CSIC (Proyecto Intramural 201440E048) y MINECO (BFU2014-57964-R).

#### IN VITRO OPTIMIZATION OF THE USAGE OF RUMINAL MICROBIOTA AS A PROBIOTIC. 2. EFFECT OF INOCULUM, DIET AND PRESERVATION METHOD

**ABSTRACT:** This study aims to identify the best conditions for preparing rumen microbiota as probiotic by the analysis of fermentation parameters resulting from *in vitro*. A factorial design was used to determine the effect of using rumen fluid adapted to forage (IF) vs concentrate diets (IC) as inoculum, the effect of using forage (DF) vs concentrate (DC) as substrate *in vitro*, and the inoculum preservation method: fresh vs defrosted vs lyophilized. Rumen microbes present IC were significantly more active than those present in IF (+16 to +32%). Similarly, use of DC as substrate enhanced the microbial activity (+6 to +16%) in comparison to DF. However, no apparent differences were found in the microbial concentration and no interaction between inoculum and diet was observed. In comparison to fresh, processed inocula negatively affected the levels of all microbial groups and their activity (-13 to -16% for defrosted and -50 to -69% for lyophilized). Rumen protozoa were particularly affected by the preservation method. In conclusion, fresh rumen fluid from animals adapted to concentrate diets represents the microbiota with the highest activity *in vitro*. On the contrary freezing or lyophilizing rumen microbes could compromise their activity and their potential use as probiotic *in vivo*.

**Keywords:** inoculum, probiotics, processing, rumen microbes

## EFFECTOS DE UN HIDROLIZADO DE LEVADURAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN FERMENTADORES RUSITEC

Díaz A.<sup>1</sup>, Ranilla M.J.<sup>1,2</sup>, Saro C.<sup>1</sup>, Tejido M.L.<sup>2</sup>, Mateos I.<sup>1</sup>, García-Rodríguez J.<sup>1</sup>, Carro M.D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León, España. <sup>2</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros, León, España.

<sup>3</sup>Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. [mariadolores.carro@upm.es](mailto:mariadolores.carro@upm.es)

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han llevado a cabo un gran número de estudios relacionados con el uso de levaduras *S. cerevisiae* en la alimentación de animales rumiantes (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2012), pero muchos de ellos han utilizado productos comerciales que tienen un elevado coste. A partir del residuo de la destilación alcohólica de la caña de azúcar se puede obtener un hidrolizado enzimático de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que ha mostrado efectos probióticos en aves, con buenos resultados en indicadores fisiológicos, inmunológicos y productivos (Pérez, 2000), así como un efecto estimulador del crecimiento de los microorganismos ruminales en condiciones *in vitro* (Galindo Blanco *et al.*, 2010). Sin embargo, no se conocen sus posibles efectos sobre la fermentación ruminal. Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar los efectos del hidrolizado de levaduras en la fermentación ruminal *in vitro* utilizando fermentadores de flujo semicontinuo (Rusitec).

### MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando cuatro fermentadores de flujo semicontinuo (RUSITEC). El sustrato incubado estuvo compuesto por una mezcla, a partes iguales, de heno de alfalfa y un concentrado comercial. El sustrato contenía 942 g de materia orgánica, 150 g de proteína bruta, 357 g de fibra neutro detergente (FND) y 126 g de fibra ácido detergente (FAD) por kg de materia seca (MS). Los tratamientos experimentales fueron: sustrato sin tratar (control) y tratamiento con hidrolizado de levaduras. La dosis de hidrolizado de levaduras fue de 5 ml diarios por fermentador y fue seleccionada a partir de un estudio previo (Díaz *et al.*, 2011). Se realizaron dos incubaciones de 14 días de duración cada una usando un diseño cruzado. En cada período de incubación dos fermentadores se suplementaron con hidrolizado de levaduras y los otros dos no recibieron suplementación. El día 1 se inoculó el sistema con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de tres ovejas fistuladas en el rumen y alimentadas diariamente con la misma dieta que recibieron los fermentadores. Cada fermentador recibió diariamente 15 g de MS de heno de alfalfa y 15 g de concentrado, que se administraron dentro por separado en bolsas de nylon (100 µm de tamaño de poro) y se mantuvieron dentro del fermentador durante 48 y 24 h, respectivamente.

Durante los días 9, 10, 11 y 12 se determinaron los siguientes parámetros: pH, desaparición del sustrato (MS y FND) y producción de ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco y metano. Se determinó la desaparición aparente de la dieta siguiendo los procedimientos descritos por Martínez *et al.* (2010). Además, se tomaron tres ml del contenido de cada fermentador para la determinación de las actividades amilasa y xilanasas según los procedimientos descritos por Giraldo *et al.* (2008). Durante los días 13 y 14 se determinó el crecimiento de los microorganismos asociados a la fase sólida y a la fase líquida, para lo que se utilizó <sup>15</sup>N como marcador microbiano, tal y como se describe por Martínez *et al.* (2010).

Los datos se analizaron como un modelo mixto con medidas repetidas usando el procedimiento MIXED del programa SAS. El modelo estadístico incluyó el tratamiento, el día de muestreo, el período de incubación, y la interacción tratamiento x día de muestreo como efectos fijos y el fermentador como efecto aleatorio. Los datos de crecimiento microbiano se analizaron independientemente para cada fase de la digesta, como un modelo mixto que incluyó el tratamiento, el período de incubación y la interacción entre ambos como efectos fijos, y el fermentador como efecto aleatorio. Los efectos se declararon significativos a valores de P < 0,05, y valores de P entre 0,05 y 0,10 se consideraron tendencias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los efectos del tratamiento con hidrolizado de levaduras sobre los parámetros fermentativos medidos. La adición del hidrolizado de levaduras a los fermentadores no afectó a la producción diaria de AGV ( $P=0,801$ ), pero modificó el perfil de los AGV, ya que redujo significativamente la proporción molar de ácido acético, isovalérico y caproico y aumentó la proporción de propiónico, butírico, isobutírico y valérico. Como consecuencia de estos cambios, los fermentadores que recibían el hidrolizado de levaduras tuvieron una menor relación acético/propiónico que los fermentadores no suplementados. Los efectos de los hidrolizados enzimáticos sobre la fermentación ruminal obtenidos en diferentes estudios son muy variables, pero algunos autores han descrito resultados similares a los nuestros en el perfil de AGV (Meissner *et al.*; 2014; Kettunen *et al.*, 2016). Sin embargo, los resultados dependen de numerosos factores, pero especialmente de las características del hidrolizado y del tipo de dieta incubada (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2012; Carro *et al.*, 1992).

**Tabla 1.** Efectos de la suplementación con un hidrolizado de levaduras en los parámetros fermentativos, degradabilidad del sustrato y crecimiento microbiano en fermentadores Rusitec que recibían heno de alfalfa y concentrado en relación 1:1 ( $n = 4$ )

Ítem	Tratamiento		eed <sup>1</sup>	P valor
	Control	Hidrolizado de levaduras		
Total AGV (mmol/d)	105	106	3,3	0,80
Proporción molar (mol/100 mol):				
Acético	54,5	51,1	0,48	0,001
Propiónico	14,9	17,7	0,28	0,001
Butírico	17,2	18,6	0,30	0,001
Isobutírico	1,22	1,35	0,04	0,002
Isovalérico	4,30	3,56	0,19	0,001
Valérico	4,85	5,31	0,15	0,003
Caproico	3,06	2,35	0,14	0,001
Acético:Propiónico (mol/mol)	3,67	2,89	0,09	0,001
Amoníaco (mg/L)	339	405	12,3	0,001
Metano (mmol/d)	29,5	28,3	0,75	0,07
Metano/Total AGV (mol/mol)	0,281	0,267	0,009	0,06
Actividad enzimática				
Amilasa	0,269	0,270	0,03	0,97
Xilanasas	0,627	0,641	0,04	0,62
Degradabilidad (g/g)				
Materia Seca	0,629	0,641	0,01	0,16
Fibra neutro detergente	0,468	0,474	0,014	0,64
Fibra ácido detergente	0,282	0,293	0,02	0,56
Crecimiento microbiano (mg N/d)				
Fase sólida	128	129	7,1	0,90
Fase líquida	110	129	3,6	0,07
Total	237	258	6,8	0,17

<sup>1</sup>error estándar de la diferencia.

Los fermentadores que recibieron el hidrolizado de levaduras presentaron una mayor ( $P<0,001$ ) concentración de amoníaco y tendieron ( $P=0,06$ ) a producir una menor cantidad de metano que los fermentadores control. El aumento en las concentraciones de amoníaco podría ser parcialmente debido al aporte de N del hidrolizado de levadura, que supuso 17,4 mg de N diarios en cada fermentador. Estos resultados indicarían que la suplementación con hidrolizado de levadura podría estar indicada para dietas deficientes en N. Los



microorganismos asociados a la fase líquida mostraron una tendencia a aumentar ( $P=0,07$ ) con la suplementación del hidrolizado de levadura, mientras que no hubo diferencias en el crecimiento microbiano en la fase sólida ( $P=0,90$ ). Algunos estudios (Kettunen *et al.*, 2016) han observado que los cultivos de *S. cerevisiae* aumentaron el crecimiento microbiano en el rumen, especialmente de las bacterias celulolíticas, aunque otros no han observado efecto (Carro *et al.*, 1992). Las diferencias en los resultados obtenidos en diferentes estudios pueden deberse a la cepa de levadura utilizada (Newbold *et al.*, 1996), pero también al medio y condiciones de cultivo y a la dieta de los animales. En este estudio se utilizó un hidrolizado (levaduras muertas), por lo que el efecto estimulador del crecimiento microbiano podría ser debido al aporte de factores de crecimiento (aminoácidos, péptidos, vitaminas, ácidos orgánicos, ...) que son esenciales para el crecimiento de los microorganismos ruminales (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2012; Newbold *et al.*, 1996).

Los resultados de este estudio muestran que el hidrolizado de levaduras estimuló el crecimiento microbiano en la fase líquida de los fermentadores y modificó el patrón fermentativo hacia una fermentación más eficiente, debido al aumento de la proporción de propiónico y la reducción de la relación metano/AGV. Sin embargo, sería necesaria la evaluación de los efectos de este producto en condiciones *in vivo* para confirmar los resultados observados.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Carro, M.D. *et al.* 1992. Anim. Feed Sci. Technol. 37: 209-220.
- Chaucheyras-Durand *et al.* 2012. Intech. 120-152.
- Díaz *et al.* 2011. AIDA.1. 309-311.
- Galindo Blanco, J. *et al.* 2010. Rev. Cub. Cienc. Agric. 44: 281- 286.
- Giraldo, L.A. *et al.* 2008. Anim. Feed Sci. Technol. 141: 306-325.
- Kettunen, H. *et al.* 2016. J. Appl. Anim. Nutr. 4: 1-7.
- Martínez, M.E. *et al.* 2010. J. Dairy Sci. 93: 3684-3698.
- Meissner, H *et al.*, 2014. Livest. Sci. 162: 115-125.
- Newbold, C. J. *et al.* 1996. Brit. J. Nutr. 76: 249–261.
- Pérez, M. 2000. Tesis Doctoral. Universidad Agraria de la Habana. Cuba.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2008-04707-C02-02 (financiado por el MINECO) y Acción Integrada AIB2010NZ-00190.

### EFFECTS OF A YEAST HYDROLYZATE ON RUMINAL FERMENTATION AND MICROBIAL GROWTH IN RUSITEC FERMENTERS

**ABSTRACT:** The objective of the present study was to investigate the effects of a yeast hydrolyzate of *Saccharomyces cerevisiae*, obtained after ethanol production from sugarcane biomass, on *in vitro* rumen fermentation in Rusitec fermenters inoculated with rumen microorganisms from sheep. Four fermenters were given daily 30 g of diet dry matter (DM: 1:1 alfalfa hay: concentrate), and half of them were supplemented daily with 5 mL of yeast hydrolyzate in a cross-over experimental design with two 14-day incubation periods. Supplementing with yeast hydrolyzate did not affect ( $P=0,90$ ) total volatile fatty acid (VFA) production, lactate concentrations, DM and neutral detergent fibre degradability or fibrolytic enzyme activity. Compared with the unsupplemented fermenters, yeast hydrolyzate treatment increased ( $P < 0,001$ )  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentrations and molar proportions of propionate and butyrate at the expense of acetate, and decreased ( $P < 0,001$ ) acetate/propionate ratio. In addition, yeast hydrolyzate supplementation tended ( $P < 0,07$ ) to reduce methane/total VFA ratio and to increase microbial growth in the liquid phase of the fermenters. The results indicate that yeast hydrolyzate may be a useful dietary additive for ruminants, because it promoted a shift in fermentation toward propionate production, reduced the methane/total VFA ratio and increased microbial growth.

**Keywords:** Yeast hydrolyzate, Rusitec, methane, microbial growth

## **SUPLEMENTACIÓN CON CULTIVO ACTIVO DE LEVADURAS EN EDADES TEMPRANAS EN CABRITOS: I) EFECTO SOBRE LA FERMENTACIÓN, DESARROLLO Y COLONIZACIÓN MICROBIANA DEL RUMEN**

Abecia L.<sup>1</sup>, Serrano R.<sup>1</sup>, Jiménez E.<sup>1</sup>, Martín-García A.I.<sup>1</sup>, Doblas A.<sup>2</sup>, Yáñez-Ruiz D.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Estación Experimental del Zaidín (CSIC) Profesor Albareda 1, 18008-Granada, España.

<sup>2</sup>Agroalimentaria Manchega de Biotecnología S.L., 45007-Toledo, España.

[david.yanez@eez.csic.es](mailto:david.yanez@eez.csic.es)

### **INTRODUCCIÓN**

El desarrollo del rumen es un desafío fisiológico importante para el animal. Durante la transición de pre-rumiante a rumiante, el crecimiento y desarrollo de la superficie de las papilas ruminales es esencial para lograr la absorción y utilización de los productos finales de la digestión, principalmente los ácidos grasos volátiles (AGV) (Warner *et al.*, 1956). Recientemente se ha demostrado que ciertas intervenciones aplicadas desde el nacimiento pueden modificar el patrón de colonización ruminal y la respuesta fisiológica del animal, persistiendo algunos efectos en el adulto (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2015), aunque aún existe un conocimiento limitado acerca del impacto y persistencia de los efectos. Una de las estrategias nutricionales más comunes en rumiantes es el uso de levaduras en animales alimentados con dietas altamente fermentables. A pesar de que la suplementación con levaduras en animales jóvenes ha sido previamente estudiada (Lesmeister *et al.*, 2004a), no se ha abordado el efecto de los mismos sobre la colonización microbiana y respuesta del animal tras el destete. Los sistemas de lactancia: natural (NAT, con la madre) y artificial (ART, aislados de animales adultos y alimentados con lactoreemplazante) promueven diferentes patrones de colonización microbiana y de fermentación (Abecia *et al.*, 2014). El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con cultivos activos de levaduras (CAL) sobre la colonización microbiana, fermentación ruminal y desarrollo del rumen en cabritos así como su impacto tras el destete. El tratamiento se ensayó en dos sistemas diferentes de lactancia: NAT y ART.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Veinticuatro cabras de raza Murciano-Granadina ( $43 \pm 1,7$  Kg PV) gestantes de dos fetos fueron seleccionadas y alojadas individualmente (1,7 x 1,2 m) con acceso libre a agua y dieta en base a una mezcla completa. El periodo experimental se dividió en dos fases:

Fase I: tras el parto, madres y crías fueron aleatoriamente asignadas a uno de los dos grupos experimentales: suplementado con cultivo activo de levaduras (CAL) o Control (CTL), sin suplementación. De las crías, una permaneció con la madre hasta el destete (NAT) mientras que la otra fue inmediatamente separada y alimentada durante dos días con calostro de la madre y después con lactoreemplazante (ART) (Sello azul, Lemansa, León). Así, resultaron cuatro grupos experimentales de cabritos: CAL-NAT, CAL-ART, CTL-NAT y CTL-ART. El tratamiento con levaduras consistió en un cultivo (24 h) de un probiótico comercial a base de *Saccharomyces cerevisiae* (RFN Lactation®). Tras el destete (a los 42 días), los cabritos fueron agrupados según su tratamiento, continuando con el mismo 15 días más.

Fase II: comenzó el día 57, cuando todos los cabritos fueron agrupados juntos y alimentados con un concentrado rico en almidón y paja ad libitum durante 15 días. El tratamiento con CAL no fue suministrado durante este periodo (Fase II-), retomándolo todos los animales (independientemente del tratamiento inicial) los últimos 15 días (Fase II+). Finalmente los machos fueron sacrificados (día 86), tomándose muestras del epitelio del rumen (Di Giancamillo *et al.*, 2003) para posterior análisis histológico. Así mismo, se tomaron muestras del contenido ruminal de las crías, mediante sonda esofágica, los días 42 (destete), 72 (Fase II-) y 86 (Fase II+). Los animales fueron pesados semanalmente.

Los resultados se analizaron mediante el procedimiento modelo lineal general univariado de IBM SPSS Statistics (Versión 23) y considerando como factores fijos el tratamiento con levadura (T) y el tipo de lactancia (L).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo del crecimiento de los animales la concentración de AGV se fue incrementando y el pH fue disminuyendo como consecuencia del aumento de la actividad microbiana en el rumen (Abecia *et al.*, 2014). Mayores concentraciones de AGV fueron observadas en los animales suplementados con CAL, lo cual puede ser explicado por el aumento de la actividad de la microbiota ruminal (Pinloche *et al.*, 2013). La adición de CAL tuvo efectos significativos sobre la concentración de AGV totales en las fases I y II- ( $P < 0,001$  y  $P = 0,02$ ). También se observó un pH ruminal, más elevado en los animales suplementados con levadura en la fase I ( $P = 0,02$ ) y una tendencia en las fase II+ ( $P = 0,10$ , respectivamente.) El valor de pH superior en el rumen de los cabritos suplementados con CAL muestra el efecto tamponador que ejerce el probiótico, fundamentalmente favoreciendo el crecimiento de bacterias que metabolizan el ácido láctico (Bach *et al.*, 2007). Este efecto quizás podría ser más acusado, puesto que las muestras fueron recogidas con sonda esofágica, lo que acarrea cierta contaminación con saliva.

**Tabla 1.** Efecto del tratamiento<sup>1</sup> (T; inclusión del cultivo activo de levaduras) y tipo de lactancia<sup>2</sup> (L) sobre los parámetros ruminales (AGV y pH), abundancia de bacterias totales, ganancia media de peso (GMD) e histología del epitelio ruminal en las distintas fases experimentales.

	NATURAL		ARTIFICIAL		e.e.m. <sup>4</sup>	P-valor		
	CTL	CAL	CTL	CAL		T	L	TxL
AGV totales, mM								
Fase I	11,5	16,4	15,2	28,4	1,51	<0,001	0,002	0,09
Fase II-	24,0	30,2	24,3	29,3	1,18	0,02	0,89	0,77
Fase II+	28,9	27,8	32,6	33,1	1,49	0,92	0,15	0,79
pH								
Fase I	6,35	6,58	6,41	6,60	0,044	0,02	0,61	0,81
Fase II-	6,32	6,25	6,37	6,31	0,045	0,50	0,56	0,93
Fase II+	6,05	6,20	6,10	6,31	0,053	0,10	0,47	0,80
Bacterias totales <sup>3</sup>								
Fase I	10,3	10,4	10,2	10,7	0,102	0,20	0,64	0,48
Fase II-	10,0	10,1	9,89	9,86	0,044	0,59	0,05	0,39
Fase II+	8,92	8,80	8,85	8,53	0,206	0,63	0,70	0,82
GMD, g/d								
Fase I	157	179	147	148	5,12	0,26	0,04	0,29
Fase II-	152	143	138	135	4,65	0,50	0,27	0,74
Fase II+	144	139	130	132	4,44	0,82	0,25	0,69
Longitud papilas, $\mu\text{m}$	1848	2152	1750	2334	125	0,10	0,87	0,59
Anchura papillas, $\mu\text{m}$	441	504	429	503	17,9	0,08	0,87	0,88
Queratinización, %	76,2	75,6	80,7	66,7	3,42	0,34	0,77	0,37

<sup>1</sup> CTR: control; CAL: cultivo activo de levaduras; <sup>2</sup> Natural: lactancia con la madre; Artificial: aislados de animales adultos y alimentados con lactoreemplazante; <sup>3</sup> log n° copias ADNr 16S /g MF contenido ruminal <sup>4</sup> error estándar de la media.

Por otro lado, la adición de CAL promovió una tendencia hacia un incremento en la longitud y anchura de papilas ruminales ( $P = 0,10$  y  $P = 0,08$ , respectivamente), lo que concuerda con resultados anteriores empleando probióticos similares (Lesmeister *et al.*, 2004b). A pesar de este incremento, no se observaron cambios sobre la ganancia media diaria de peso, la cual se situó entre 179 g en la fase de lactancia y 130 g en la fase II+.

En cuanto al efecto del tipo de lactancia (natural vs. artificial), el efecto beneficioso que la lactancia natural ejerce sobre la fermentación y colonización microbiana del rumen ya ha sido mostrado con anterioridad (Abecia *et al.*, 2014), lo que coincide con los resultados del presente trabajo en cuanto a diferencias en la concentración de AGV, concentración de

bacterias totales y ganancia media diaria de peso ( $P<0,05$ ). Estas ventajas podrían ser explicadas debido a la influencia positiva que posee la presencia de animales adultos en las crías, como fuente de inoculación microbiana y estimulando el aprendizaje de ingestión de alimento sólido (De Paula Vieira *et al.*, 2012).

Los resultados de este trabajo apuntan a beneficios en el desarrollo ruminal como resultado de incluir CAL en la dieta de cabritos tras el nacimiento; sin embargo, conviene evaluar la persistencia y beneficio de los posibles efectos en el animal a medio y largo plazo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia L. *et al.* 2014. *Anim. Prod. Sci.* 54: 1449–1454.
- Bach A. *et al.* 2007. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 136: 156-163.
- De Paula Vieira A. *et al.* 2012. *J. Dairy Sci.* 95: 3218-3224.
- Di Giancamillo A. *et al.* 2003. *Histopathol* 18: 727-733.
- Lesmeister K. *et al.* 2004a. *J. Dairy Sci.* 87: 1832-1839.
- Lesmeister K.E. *et al.* 2004b. *J. Dairy. Sci.*, 87: 1336-1344.
- Pinloche E. *et al.* 2013. *PLoS ONE* 8 (7):e67824.
- Warner R.G. *et al.* 1956. *J. Agric. Food Chem.* 4: 788-792.
- Yáñez-Ruiz D.R. *et al.* 2015. *Front. Microbiol.* 6: 1133.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el CSIC (Proyecto Intramural 201440E048) y MINECO (BFU2014-57964-R).

#### STUDY OF THE EFFECTS OF FEEDING LIVE YEAST CULTURE IN EARLY LIFE OF KID GOATS ON RUMEN DEVELOPMENT AND FERMENTATION AND MICROBIAL COLONIZATION

**ABSTRACT:** the aim of the present study was to evaluate whether supplementing with yeast live culture (YLC) had an effect on ruminal fermentation and development and microbial colonization in goat kids and the impact postweaning. Twenty-four goats carrying two foetuses were selected. At birth, new-born kids and does were randomly allocated to one of the 2 experimental groups: YEAST, the treatment group feeding with YLC and control (CTL), one of the kid remained with the dam until weaning (NAT) while the other was taken immediately away and fed colostrum and milk replacer (ART). This arrangement resulted in four experimental groups of kids: YLC-NAT, YLC-ART, CTL-NAT and CTL-ART. The treatment lasted for 57 days (weaning on day 42). Then all kids were grouped together and YLC was no longer provided during the following 15d and the animals were fed with concentrate high in starch ad libitum and straw. On day 72 all kids, independently of the previous treatment, were treated with YLC until day 86, when male kids were slaughtered. Our results showed that supplementing with YLC increased the concentration of volatile fatty acids (VFA) in the rumen and better ruminal papillae development (length and width). We hypothesize that adding YLC favours rumen development in weaning phase of the animal and suggest assessing the impact later in life.

**Keywords:** early life, nutritional programming, live yeast culture, microbial colonization

## **PARTICIÓN DE LA ENERGÍA METABOLIZABLE Y VALORACIÓN DE LA MOVILIZACIÓN DE RESERVAS EN CERDAS DURANTE LA LACTACIÓN**

Fornós Inglès, M., Boix, O., Solà-Oriol, D. y Gasa, J.  
Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNiBA). Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.  
fornos.marta@gmail.com

### **INTRODUCCIÓN**

Durante la lactación, la demanda energética es muy alta y la ingestión de pienso suele ser insuficiente para satisfacer las necesidades, ocasionando un balance energético negativo que obliga a movilizar reservas corporales. Ciertamente es que las cerdas que más movilizan son las que ingieren menos pienso (Bergsma *et al.*, 2009) aunque, con las cerdas actuales, la movilización de reservas ejerce un papel central para alcanzar la máxima productividad. Según Thaker y Bilkey (2005), pérdidas superiores al 10% del peso vivo (PV) pueden aumentar el intervalo destete-cubrición y reducir el tamaño de camada en el siguiente ciclo, aunque este hecho no es generalizable (Willis *et al.*, 2003). Se precisa profundizar en el estudio de la movilización de reservas durante la lactación, sus causas y consecuencias, con objeto de poder implementar estrategias de manejo y alimentación que optimicen los resultados productivos.

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar la partición de la energía metabolizable (EM) de cerdas en lactación y estimar la energía proveniente de la movilización de reservas de la cerda utilizando dos métodos, "por diferencia" o mediante "ecuaciones de predicción".

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 50 cerdas, genética Landrace x Large White (de genética Hermitage), de una granja comercial manejada en bandas de tres semanas. Se emplearon dos bandas con partos a principios y finales de mayo. Los datos fueron recogidos desde la entrada a parideras (unos días antes del parto) hasta el destete (27 días). Se registró, semanalmente, el espesor de grasa dorsal (EGD), el tamaño y peso de la camada y el consumo de pienso por cerda. También se registró el PV de la cerda a la entrada y salida de la maternidad. Conocido el contenido en EM del pienso (3,08 Mcal/kg), y las variables medidas, se calculó la energía movilizada por cada cerda en un periodo de 20 días de lactación utilizando dos metodologías:

(1) "por diferencia" a partir de la ecuación de partición de la EM o  
(2) "por predicción", mediante las ecuaciones y eficiencias para las cerdas en lactación descritas por Dourmad *et al.* (2008) y adaptadas mayoritariamente por el NRC (2012). Se presentan los valores medios de las diferentes variables estudiadas, su desviación típica y el máximo y mínimo y se estudió, por regresión, la relación existente entre los dos métodos de cálculo/predicción de la movilización de reservas corporales.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La productividad media (Tabla 1) fue de 11,0 lechones destetados/cerda con crecimientos medios de la camada de 2,24 kg/d (entre 1,28 y 3,12 kg/d) e ingestiones medias de pienso de 5,8 kg/d, equivalentes a 18,2 Mcal EM/d, con oscilaciones entre un mínimo de 4,1 kg y un máximo de 8,2 kg. Estos valores concuerdan con los obtenidos en la bibliografía para este tipo de cerdas (Gasa y Solà-Oriol, 2016). La EM destinada a la producción de leche (media de 13,9 Mcal/d) supuso alrededor del 75% de la EM ingerida pero con una alta desviación típica y valores desde 7,3 hasta 19,9 Mcal por cerda y día.

Todas las cerdas perdieron peso en el global de la lactación (media de 17,4 kg PV de pérdida), con valores extremos de 1,7 hasta 44,2 kg. En cambio, no todas las cerdas perdieron EGD; la media fue de 2,46 mm de pérdida en el global de la lactación pero con extremos que van desde ganancias de 3,5 mm a pérdidas de 8,1 mm. Aunque la media indica pérdidas de energía neta (EN) de 4,08 Mcal/d (equivalente a 2,3 Mcal EM/d; Dourmad

et al. 2008), cuando se realizó el cálculo “por diferencia”, no todas las cerdas movilizaron reservas en el global de los 20 días de lactación. Por el contrario este valor fue superior (6,5 Mcal EM/d) y mayoritariamente negativo (movilización de reservas) cuando el cálculo se realizó “por ecuaciones”. El rango máximo de variación de la movilización de reservas fue claramente superior para el método “por diferencia” que “por ecuaciones”; 20,8 vs 13 Mcal/d entre extremos, respectivamente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valores medios, desviación típica, mínimo y máximo de ingestión, producción de leche y movilización de reservas registrados en 20 días de lactación.

	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Ingestión de pienso (kg/d)	5,8	1,03	4,1	8,2
Ingestión de energía (Mcal EM/d)	18,2	3,25	12,8	25,8
Destetados/camada	11	1,3	9	13
Crecimiento de camada (kg/d)	2,24	0,492	1,28	3,12
EM para producción de leche (Mcal/d)*	13,9	3,31	7,25	19,85
Pérdida de Peso Vivo (kg)	17,4	10,14	1,7	44,2
Pérdida de Espesor Grasa Dorsal (mm)	2,46	2,464	-3,48	8,09
Balance de EN (Mcal/d)*	-4,08	2,115	0,33	-8,5
Pérdida de grasa (kg/d)*	0,348	0,1984	-0,073	0,704
Pérdida de Proteína (kg/d)*	0,107	0,0949	-0,051	0,330
Proteína en pérdidas (%)**	24,8	12,68	3,4	53,3
Balance EM “por diferencia” (Mcal/d)***	-2,3	4,72	10,0	-10,8
Balance EM “por ecuaciones” (Mcal/d)***	-6,5	3,38	0,6	-12,4

EM: energía metabolizable; EN: energía neta.

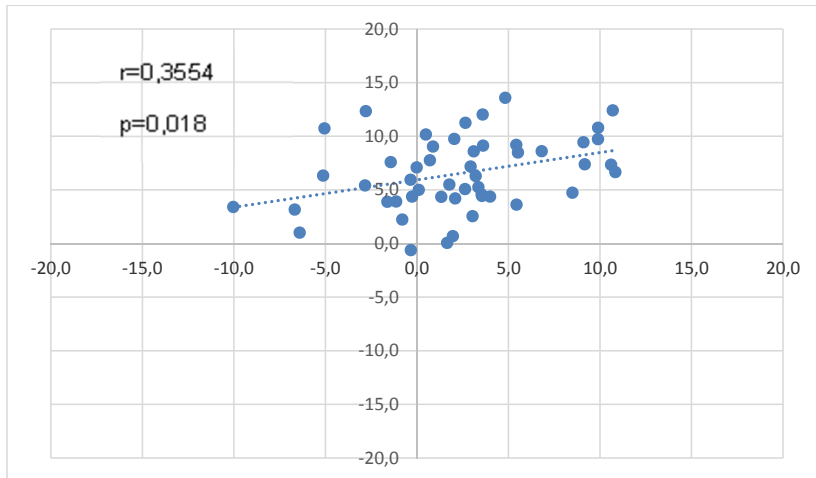
\*Calculado a partir de las ecuaciones de Dourmad et al. (2008).

\*\*Tan solo con las cerdas que presentan balance negativo de grasa y proteína.

\*\*\*Utilizando las eficiencias de Dourmad et al. (2008).

En términos globales, las cerdas experimentan mayores pérdidas de grasa que de proteína (tabla 1) si bien la variabilidad entre cerdas es superior para la movilización proteica que para la grasa. La proteína representa de media un 25% del total movilizado (grasa + proteína) con valores individuales que pueden sobrepasar el 50%. Este hecho contrasta con lo que ocurría hace tan solo 15 años con cerdas del mismo cruce genético donde la movilización de proteína era baja y en muchos casos casi anecdótica (Young et al., 2004) y cuando se podía comprometer el futuro reproductivo de la cerda.

Los dos métodos de predicción de la movilización corporal de energía (“por diferencia” vs “por ecuaciones”) presentan una correlación moderada pero significativa ( $r=0,36$ ;  $p<0.018$ ) que indicaría su valor relativo para ser utilizados en condiciones comerciales. La Figura 1 indica que el método “por diferencia” ofrece valores de movilización más bajos que el método “por ecuaciones”, especialmente para las cerdas que movilizan menos energía (ver Figura 1). Desafortunadamente ambos métodos pueden ser criticados; los valores “por diferencia” acumulan todos los errores registrados en los otros miembros de la ecuación (en especial la ingestión de pienso) y los valores “por ecuaciones” se fundamentan en datos de dos centenares de cerdas sacrificadas el siglo pasado (Dourmad et al., 1997).



**Figura 1.** Relación entre la energía metabolizable proveniente de la movilización obtenida “por diferencia” (X) y la “predicha” (Y) a partir de las ecuaciones de Dourmad et al. (2008).

En conclusión, la capacidad de las cerdas actuales para movilizar reservas corporales durante la lactación es enorme (equivalente a entre casi nada y más de 40 kg de peso vivo); además de grasa, movilizan una fracción importante de proteína. La cuantificación de esta movilización no resulta sencilla pero sin duda hay que tenerla en cuenta para formular y manejar adecuadamente el pienso de lactación.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bergsma et al 2009, Livestock Science 125: 208-222. • Dourmad et al., 1997, Journees Rech. Porcine en France, 29; 255-262 • Dourmad et al., 2008, Animal Feed Science and Technology 143; 372-386. • Gasa, J y Solà-Oriol, D. 2016, Avances en alimentación y manejo de cerdas hiperprolíficas durante la lactación. XXXII Curso de especialización FEDNA, Avances en Nutrición y Alimentación Animal; pp 77-111 • NRC, Nutrients requirements of swine, 2012 • Thaker y Bilkey. 2005, Animal Reproduction Science 88, 309-318 • Willis et al 2003, J. Anim. Sc., 81, 2088-2102. • Young et al., 2004, J. Anim. Sc., 82, 3058-3070.

#### METABOLIZABLE ENERGY PARTITIONING AND ASSESMENT OF BODY RESERVE MOVILIZATION IN LACTATING SOWS

**ABSTRACT:** Energy partitioning and tissue mobilization was studied using 50 Landrace x Large White sows. Individual feed intake, litter growth and total live weight (LW) and fat thickness (FT) losses were measured in a 20 days lactation period. Energy mobilization was calculated “by difference” following the ME partition equation and “by prediction” using published equations. Sows lost a mean of 17.4 Kg of LW and 2.5 mm of FT. Protein accounted by 24.8% of total LW losses varying from none to more than 50%. The two methods to predict energy mobilization were poor but significantly correlated ( $r=0.36$ ;  $p<0.018$ ).

**Keywords:** sow, lactation, energy partitioning, body reserves.

## **PÉRDIDA DE PESO VIVO DE LA CERDA DURANTE LA LACTACIÓN: EVOLUCIÓN Y CONSECUENCIAS**

Boix, O., Solà-Oriol, D., López-Vergé, S. y Gasa, J.  
Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNIiBA), Departament de Ciència Animal i dels  
Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.  
oriolboixm@gmail.com

### **INTRODUCCIÓN**

Las cerdas actuales suelen destetar entre 10,0 y 11,5 lechones (Observatori del porcí, 2015) y, en algunos casos, si son hiperprolíficas, pueden sobrepasar los 13,0 lechones. Pesos de camada al destete superiores a 60 Kg son muy habituales y en lactaciones de 28 días, en algún caso puede acercarse a los 100 kg. La cerda ideal es aquella que:

- 1) inicia su vida productiva con un peso vivo (PV) y condición suficientes que no pongan en peligro su crecimiento y productividad durante el primer ciclo de gestación y lactación,
- 2) es capaz de mantener un crecimiento moderado los dos siguientes ciclos y
- 3) recupera con facilidad durante la siguiente gestación las pérdidas de energía y nutrientes que ha sufrido en la lactación precedente.

Sin duda, el principal aspecto a atender para que una cerda esté bien nutrida es su metabolismo energético y, para una determinada producción de leche, la ingestión y el balance energético constituyen el punto más crítico. La medición del balance energético (energía neta (EN) movilizada) requeriría de sacrificios seriados que, además de muy caros, podrían suponer dificultades éticas asociadas. Su predicción podría realizarse mediante la estimación de la evolución de composición corporal de la cerda utilizando métodos indirectos como rayos-x, tomografía computerizada (TC) o bien agua marcada con deuterio (Mitchell *et al.*, 2001; Arthur *et al.*, 2011). Sin embargo, a día de hoy, cualquiera de estas metodologías carece de utilidad práctica en condiciones comerciales.

Alternativamente, las ecuaciones de Dourmad *et al.* (2008), adaptadas por el NRC (2012), indican que la mejor predicción de la composición corporal (grasa y proteína) y el contenido energético del cuerpo de la madre se obtiene como una función lineal del PV vacío, estimado como el PV corregido a la baja (4%) por el contenido digestivo, y del espesor de grasa dorsal. Existen varios procedimientos para predecir el PV de las cerdas en un momento determinado y uno de los más fáciles y populares son algunas medidas morfométricas (Iwasawa *et al.*, 2004; Agostini *et al.*, 2009); además puede ser implementado en condiciones comerciales sin un gran esfuerzo. La medida que, según estos autores, ofrece mejores predicciones es la del perímetro torácico (PT).

El objetivo principal de este trabajo fue estudiar la fiabilidad del PT como predictor del PV de las cerdas a lo largo de la lactación y conocer en qué medida la evolución del PV puede afectar la productividad y longevidad de las cerdas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en una granja comercial S1 y S2 que dispone de un censo de 280 cerdas y funciona en bandas de tres semanas con lactaciones de 28 días. Se utilizaron un total de 80 cerdas multíparas (Large White x Landrace) de genética Hermitage, distribuidas en dos bandas de cubrición seguidas. Las cerdas fueron alojadas en las salas de maternidad según la fecha prevista de parto. No se programaron partos ni tampoco se ofreció una atención especial a las cerdas durante el parto. Se aseguró el encalostrado de los lechones y seguidamente se realizaron las adopciones teniendo en cuenta tan solo el número de lechones por cerda y la confección de algunas camadas de pequeños. Los lechones se manejaron dentro de las primeras 48 horas de vida según el manejo convencional de la explotación (administración de hierro, antibiótico y coccidiostático). El número de trasposos realizados en los días posteriores fue muy limitado o casi inexistente. Las mediciones realizadas a lo largo de la lactación fueron las siguientes:

- 1) el perímetro torácico (PT) a la entrada a la maternidad y al destete y dos veces por semana durante toda la lactación, que es la circunferencia medida con cinta métrica flexible



inmediatamente después de los miembros anteriores de la cerda y antes de las primeras glándulas mamarias,

2) el PV de las cerdas a la entrada y salida de la maternidad, utilizando una balanza con una sensibilidad mínima de 100 g y

3) el peso de la camada al inicio de la lactación y al destete y consumo de pienso de la cerda.

A partir de las medidas individuales por cerda de PV y PT a la entrada y salida de la maternidad, y una vez estudiada la normalidad y homocedasticidad de los datos, se realizó un estudio de regresión lineal simple entre el PV y el PT a la entrada a la maternidad y al destete. Para predecir la evolución del PV a lo largo de la lactación se tomó como referencia la ecuación establecida entre el PV y PT al destete (ver resultados para más detalles) y se estudió la evolución de PV individual para cada cerda. Posteriormente, mediante gráficos de dispersión, se procedió a caracterizar de forma gráfica la evolución del PV de la cerda. Las cerdas presentaron hasta cuatro tipos de respuesta diferentes (cóncava, lineal y convexa negativas y lineal positiva).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número total de cerdas quedó reducido a 71 (34 + 37 para los lotes 1 y 2 respectivamente) al descartar 8 animales principalmente por baja productividad (no se incluyó a las cerdas con menos de ocho destetados), o problemas con la curva de ingestión de pienso. La productividad media fue de 10,7 lechones destetados y 57,8 kg de ganancia total de la camada. Las cerdas consumieron una media de 5,4 kg/d de pienso y perdieron 34,3 kg de PV y 7,4 cm de PT.

La Tabla 1 muestra los parámetros de las ecuaciones lineales que relacionan el PT (x) con el PV de la cerda (y). La variación del PT explica siempre más del 84% de la variabilidad del PV ( $p < 0,0001$ ) y se puede predecir el PV con un coeficiente de variación inferior al 8%. Estos resultados son semejantes a los obtenidos por otros autores (Iwasawa *et al.*, 2004; Agostini *et al.*, 2009). Centrando la atención en las ecuaciones obtenidas a la entrada a la maternidad y al destete, cada cm de PT equivale a 3,82 kg de peso vivo y, como era previsible, las ordenadas en el origen indican que el PV al destete es inferior (6,8 kg) al de la entrada a la maternidad. Dado que ambas ecuaciones ofrecen predicciones casi idénticas, para calcular los valores intermedios de PV se ha utilizado la ecuación obtenida al destete por no estar influida por el peso del útero grávido o posibles incidencias en el parto.

**Tabla 1.** Ecuaciones de predicción del PV de la cerda (y) a partir del perímetro torácico (x).

	Ordenada Origen	Pendiente	R <sup>2</sup>
Entrada a maternidad (n=71)	-275,04	3,819	0,842
Destete (n=71)	-281,81	3,816	0,858
Todas las mediciones (n=71x2)	-293,71	3,928	0,866

La evolución del PV predicho a lo largo de la lactación no sigue un patrón uniforme en todas las cerdas (Tabla 2). Como era de esperar, la inmensa mayoría de las cerdas (93,1%) experimentan una pérdida neta de PV a lo largo de la lactación, una vez descontado el peso del útero grávido. Sin embargo, hay cerdas que pierden más peso al principio (evolución cóncava), al final (evolución convexa) o la pérdida se acerca a la linealidad; indicando que, posiblemente, el patrón de movilización de reservas corporales es diferente. En efecto, posiblemente al principio de la lactación, la primera semana o diez días, las cerdas movilizan la proteína acumulada en el útero durante la gestación y grasa interna en detrimento de la proteína propiamente muscular y grasa de cobertura que movilizarían más tarde (Theil, 2015). De hecho, los resultados de la Tabla 2 podrían interpretarse como que aquellas cerdas que tienen la posibilidad de movilizar proteína y grasa interna al principio de la lactación serían más longevas e indirectamente sugerirían que la capacidad de movilización al principio de la lactación resulta ser un punto clave para el mejor funcionamiento y longevidad de la cerda. En cualquier caso, no se conoce si el patrón de

evolución del PV durante la lactación es repetible ciclo tras ciclo para cada cerda, ni el número de cerdas utilizado es suficiente para que los resultados sean del todo concluyentes.

**Tabla 2.** Distribución de las cerdas según la evolución de la variación de peso vivo durante la lactación. Pérdida (cóncavo, lineal y convexo) o Ganancia.

Ciclo productivo	Cóncavo	Lineal	Convexo	Ganancia	TOTAL
1er ciclo	5	3	5	1	14
(%)	(35,7)	(21,4)	(35,7)	(7,1)	(19,7)
2º y 3º ciclo	7	4	2	2	15
(%)	(46,7)	(26,7)	(16,4)	(16,4)	(21,1)
4º a 6º Ciclo	11	13	4	2	30
(%)	(36,7)	(43,3)	(13,3)	(6,7)	(42,2)
> 6 ciclos	7	4	1	0	12
(%)	(58,3)	(33,3)	(8,3)	(0)	(16,9)
TOTAL	30	24	12	5	71
(%)	(41,7)	(33,3)	(16,7)	(6,9)	(100)

En conclusión, el peso vivo de las cerdas reproductoras se puede predecir con una precisión aceptable a partir de su perímetro torácico y en un porcentaje elevado de animales (>50%) la pérdida de peso durante la lactación no sigue una evolución lineal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostini, P.S., Sola-Oriol, D., Muns, R., Manzanilla, E.G. y Gasa, J. 2011. XIV Jornadas sobre Producción Animal AIDA, Tomo I, pp. 258-260.
- Arthur, P. F., Barchia, I.M., Giles, L. R. y Eamens, G.J. 2011. Journal Animal Science 89: 3935–3944.
- Dourmad, J.Y., M.Étienne, A. Valancogne, S.Dubois, J. Van Milgen y U. Noblet. 2008. Animal Feed Science and Technology 143: 372-386.
- Iwasawa, T., Young, M. G., Keegan, T. P., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Goodband, R. D., DeRouchey, J. M. y Nelssen, J. L. 2004. Swine Day 2004. pp. 17-22.
- Mitchell, A. D., Scholz, A. M., Wang, P. C. y Song, H. 2001. Journal Animal Science 79: 1800–1813.
- NRC. 2012. Nutrients requirements of swine. Animal Nutrition Review.
- Observatori del Porci, 2015. Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació. Generalitat de Catalunya.
- Theil, P.K. 2015. Wageningen Academic Publishers. pp. 147-172.

#### SOW BODY WEIGHT LOSSES ALONG LACTATION: EVOLUTION AND CONSEQUENCES

**ABSTRACT:** Eighty Large White x Landrace sows were used to measure the live weight total losses and to predict their evolution along the 28 days of lactation. Sow's live weight and heart girth (HG) were registered when entering to the farrowing barn and at weaning and the HG was also measured two times a week during the whole lactation. Sow's live weight may be predicted from HG with a determination coefficient of 0.85 and each cm of HG stands for 3.8 kg of live weight. As expected, most of the sows (<90%) decreased live weight in lactation and up to 75% of sows reduce live weight in a linear or concave shape. Furthermore, those sows appear to be more long-lived.

**Keywords:** heart girth, lactating sow, live weight evolution.

## ALIMENTACIÓN DE CERDAS EN LACTACIÓN: ¿PIENSO SECO O DIETA LIQUIDA?

Gelinne, A., Fabà, LI, Solà-Oriol, D. 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, 08193 Bellaterra. gelinne17@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

La alimentación líquida es una alternativa a la alimentación en seco, muy utilizada en Europa pero poco en España. En su forma más simple se define como la mezcla de una parte de alimento con varias partes de agua que posteriormente se distribuye de forma automatizada (Plumed-Ferrer y Von Wright, 2009). La alimentación líquida, comparada con el pienso seco, mejora los rendimientos productivos de cerdos de engorde, suele aumentar la digestibilidad de los nutrientes y reducir el desperdicio de pienso (Sol, 2016), mejorando la salud intestinal y reduciendo la necesidad de medicación (Canibe y Jensen, 2003).

Durante la lactación, la cerda entra en un estado de balance energético negativo y por ello es importante maximizar la ingestión en este periodo. De hecho, un exceso de movilización energética puede incluso repercutir negativamente en el siguiente ciclo productivo (Koketsu *et al.*, 1997; Eissen *et al.*, 2003).

El objetivo del presente estudio es comparar los rendimientos productivos de los lechones i el desgaste materno durante la lactación utilizando dos formas de administrar el mismo pienso; alimentación en seco y alimentación líquida.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 34 cerdas multíparas (de segundo a sexto parto) en lactación (Landrace x Large White) y destetes a los 28 días. El estudio experimental se realizó en las instalaciones de una granja comercial (Unió Porcina Remolins, Alcarras, Lleida). Las cerdas se dividieron en dos grupos y se les administró el mismo pienso, compuesto mayoritariamente por cereales (65,3%) y suplementos proteicos de origen vegetal (23,0%). La composición química y nutritiva declarada fue de 3,08 Mcal de energía metabolizable/kg y 0,96% de lisina total. Un grupo de cerdas (n=14) recibió el pienso en seco y otro (n=14) en forma líquida. La dilución utilizada en la mezcla líquida fue de 1:2,7, pienso en materia fresca:agua.

Los lechones se pesaron a los 2 días de vida, tras realizar las adopciones, y al destete. Las adopciones se realizaron el día siguiente al parto igualando las camadas a 11,0-12,0 lechones por cerda. En las cerdas se registró la oferta de pienso diaria desde el parto hasta el destete siguiendo una curva de ingestión preestablecida. La inmensa mayoría de las cerdas no presentaron rechazos. También se midió, la condición corporal (CC), el espesor de grasa dorsal (EGD) y el perímetro torácico el día del parto y al destete. Para evaluar la CC se utilizó una escala del 1 al 5 con una apreciación máxima de ¼ de punto. El EGD se registró utilizando el diagnóstico por imagen (Renco Lean meter, Renco Corporation, EEUU) y para predecir el peso vivo (PV) a partir del perímetro torácico se utilizaron las ecuaciones publicadas por Iwasawa *et al.* (2004).

Los resultados se sometieron a análisis de varianza con el tipo de alimentación, en seco o en líquido, como único factor de variación.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se refieren a un total de 28 cerdas (14 por tratamiento); las seis restantes fueron eliminadas del ensayo bien por baja productividad (menos de 8 lechones destetados) o por problemas de ingestión. Ninguno de los parámetros registrados mostró significación estadística ( $P > 0,05$ ), probablemente como consecuencia del bajo número de cerdas utilizadas y también del hecho de trabajar en condiciones comerciales que contribuyen a aumentar la magnitud del error. Ello no significa que los resultados no tengan interés comercial dado el notable porcentaje de diferencia obtenido entre algunas medias.

Con independencia del tratamiento, se destetaron una media de 9,66 lechones por cerda y se registró una mortalidad media del 16,6% durante la lactación. La Tabla 1 muestra los

principales resultados productivos. La ingestión media diaria de pienso muestra una tendencia ( $P=0,09$ ) a ser ligeramente superior (8,2%) con el pienso seco. El PV de la camada al destete y el aumento de PV total y medio diario de la camada fue numéricamente superior ( $P>0,60$ ) en un 4,8, 6,7 y 6,0%, respectivamente con la alimentación líquida que con el pienso seco. Ello equivale a destetar lechones de 6,73 frente a 7,04 kg que supone una mejora de 6,2% en favor de la alimentación líquida.

La pérdida de CC no resultó significativa ( $P>0,8$ ) pero fue un 16,6% inferior en las cerdas que consumieron el pienso en líquido. Por otra parte, partiendo de PV y EGD semejantes entre tratamientos, el desgaste corporal de la cerda durante la lactación, medido como pérdida de PV y de EGD, es aparentemente menor ( $P>0,80$ ) para la alimentación líquida, con porcentaje de mejora entre 6,4 y 8,3%, respectivamente. Cuando se utilizan ambos valores para predecir la pérdida o movilización de energía, empleando las ecuaciones publicadas por Dourmad *et al.*, (2008), se observa un error standard muy elevado (25,0, equivalente aproximadamente a un 30% de la media) pero de nuevo las cerdas en alimentación líquida pierden un 6,7% menos de energía corporal que las que consumen el pienso en seco.

**Tabla 1.** Resultados productivos de los lechones y desgaste corporal de las cerdas alimentadas con pienso seco o en líquido durante la lactación.

	Pienso	Alim.	e.e.m.	P-valor	% mejora
nº cerdas	14	14			
Nº medio de partos inicial/cerda	3,14	3,86	0,38	0,20	
Ingestión pienso (kg/d)	5,30	4,87	0,17	0,09	-8,18
Peso camada destete (kg)	65,78	68,91	4,86	0,65	4,75
$\Delta$ peso camada (total kg)	46,04	48,88	4,29	0,64	6,71
$\Delta$ peso camada (kg/d)	1,67	1,77	0,15	0,64	5,96
CC inicial	3,45	3,19	0,18	0,31	
Pérdida de CC	0,32	0,27	0,21	0,86	16,7
PV inicial (kg)	275,4	271,3	7,81	0,71	
Pérdida total PV (kg)	-21,26	-19,90	5,45	0,86	6,38
EGD inicial (mm)	18,07	17,21	0,77	0,44	
Pérdida total EGD (mm)	-1,71	-1,57	1,06	0,92	8,33
Balance EN (total Mcal)*	-87,41	-81,58	25,00	0,87	6,68

CC: condición corporal; PV: peso vivo; EGD: espesor de grasa dorsal; EN: energía neta.

\* Calculado a partir de las pérdidas de PV y del EGD utilizando las ecuaciones de Dourmad *et al.* (2008).

Aun cuando no se han obtenido diferencias estadísticamente significativas, si las cerdas alimentadas en líquido consumen un 8% menos de pienso, supuestamente ingieren menos energía, y producen camadas aproximadamente un 6% más pesadas, deberían perder más CC, PV y/o EGD y consecuentemente movilizar mayor cantidad de energía corporal. Contrariamente, los resultados indican que las cerdas alimentadas en líquido no solamente no movilizan más sino que pierden un 6-8% menos de reservas. En ningún caso es descartable que parte de esta diferencia en la pérdida de reservas corporales pueda ser atribuida a que los valores iniciales de CC, EGD o PV eran ligeramente superiores para el grupo que consumía el pienso en seco (ver Tabla 1); de hecho, existe una correlación positiva entre el estado de reservas al parto y la movilización durante la lactación (King, 2000). Sin embargo, la explicación más probable para estos resultados sería doble; por una parte el pienso en seco genera mayor desperdicio que su administración en forma líquida (en este experimento no se ha registrado la ingestión sino el consumo que incluye la ingestión más una fracción de desperdicio) y, por otra, está demostrado (Canibe y Jensen, 2003) que el mismo pienso administrado en forma líquida se aprovecha mejor (mayor digestibilidad) que en forma seca.

Partiendo de los resultados obtenidos, se ha computado el posible impacto económico de la alimentación líquida comparada con la administración del pienso en seco. Se han considerado las mejoras en el peso de la camada (2,84 kg/camada) y el ahorro de pienso (0,43 kg/cerda y día) (ver Tabla 1) y no se han computado los resultados derivados de la movilización de reservas. Partiendo del precio total del lechón en lonja se calcula que el precio por kg de lechón destetado es de 2,34 € y por tanto 6,65 €/camada o cerda destetada. El ahorro en pienso será de 2,83 €/cerda, suponiendo una diferencia media de 12,04 kg/cerda y lactación, entre alimentación líquida y pienso en seco, y un precio del pienso de 0,235 €/kg.

El ahorro total medio sería de entre casi 3 (2,83) y más de 9 (9,48) €/cerda destetada. El valor más bajo correspondería a una situación, muy común actualmente, en que el lechón destetado tan solo se paga por número y no por calidad (ej: por PV al destete). Finalmente señalar que se utilizó una curva de ingestión preestablecida de antemano, cercana a “ad libitum” pero no estrictamente “ad libitum”; el hecho de forzar la ingestión o modificar la curva podría hacer variar los resultados.

En conclusión, aunque no se han obtenido resultados estadísticamente significativos ( $P>0,05$ ), comparado con el pienso en seco, la alimentación líquida de cerdas durante 28 días de lactación podría ofrecer una reducción del consumo de pienso (8%) y mejorar un 6% el crecimiento de la camada, sin perjudicar la movilización de reservas (incluso se predijeron mejoras del 6-8%). Los resultados obtenidos en las condiciones del estudio supondrían una ventaja económica para la alimentación líquida que varía entre casi 3 y más de 9 €/cerda destetada.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Canibe, J. y Jensen, B.B. 2003. *J. Anim. Sci.* 81:2019-2031 • Dourmad, J.Y., Étienne, M., Valancogne, A., Dubois, S., Van Milgen, J., Noblet, J., 2008. *Animal Feed Science and Technology* 143: 372-386 • Eissen, J.J., Apeldoorn, E.J., Kanis, E., Verstegen, M.W.A., De Greef, K.H., 2003. *Journal of Animal Science* 81: 594-603. • Iwasawa, T., Young, M.G., Keegan, T.P., Tokach, M.D., Dritz, S.S., Goodband, R.D., Derouchey, J.M., Nelssen, J.L., 2004. *Swine Day*. King, R.H. 2000 *Journal of Animal Science* 78, 19-25 • King, R.H., 2000. *Journal Animal Science* 78: 19-25 • Koketsu, Y., Dial, G., Pettigrew, J., King, V., 1997. *Livestock Production Science* 49: 217-225. • Plumed-Ferrer, C. y Von Wright, A., 2009. *Journal of Applied Microbiology* 106: 351-368 • Sol, C. 2016. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.

#### FEEDING LACTATING SOWS: DRY FEED OR LIQUID FEED?

**ABSTRACT:** The aim of the present study was to compare sows and piglet performance during lactation by using two different ways of feeding the same feed; dry and liquid feeding. Thirty-four sows were distributed in two experimental groups. The following measurements were performed: a) litter weight at day two of lactation, just after cross-fostering, and at weaning, b) daily feed offered to the sows, following a pre-established feeding curve, c) body condition score, heard girt (to predict sow's body weight) and back fat thickness of the sows at farrowing and at weaning. Finally, small economic analysis was performed. Although none of the evaluated parameters showed statistical significance ( $P>0.05$ ), the results have commercial interest. Compared to the dry feed, liquid feeding brought about an apparent lower feed consumption (8%), improved the litter growth (6%) and reduced the mobilization sow's body reserves (6-8%). Those results are probably due to an improvement of feed digestibility together with a reduction on feed wasting when the feed was offered in liquid. Liquid feed would could have an economic impact ranging from almost 3 up to more than 9 €/weaned sow.

**Keywords:** liquid feed, lactation, sow.

## EFFECTO DEL TIPO DE GRASA ADICIONADA EN LA DIETA DE LAS CERDAS REPRODUCTORAS SOBRE EL METABOLISMO LIPÍDICO DEL LECHÓN BAJO CONDICIONES TROPICALES

De Gasperín<sup>1</sup>, L.I., Vicente<sup>1</sup>, J.G., Loeza<sup>1</sup>, L.R., Isabel<sup>2</sup>, B., Ángeles<sup>1</sup>, M.A. y Pinos<sup>1</sup>, J.M.

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana, México CP 91710. Isaac\_14@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidad Complutense de Madrid, España.

### INTRODUCCIÓN

Los lechones al nacimiento cuentan con muy pocas reservas energéticas, lo que los hace susceptibles a factores estresantes como el frío y el suministro insuficiente de leche, disminuyendo su viabilidad y eventualmente pudiendo causar su muerte. Estos factores son la principal causa de pérdidas en la industria porcina (Lauridsen y Danielsen, 2004). Diversos autores mencionan que, al suplementar las dietas de las cerdas reproductoras con grasas y aceites durante la última parte de la gestación y durante la lactancia, se logra incrementar la producción de leche y calostro, así como sus concentraciones de grasa (Pettigrew, 1981). Además, si se utilizan grasas poliinsaturadas, es posible incrementar la ganancia de peso y mejorar la supervivencia, al proporcionarles ácidos grasos esenciales de las series n-3 y n-6, que son básicos para el desarrollo del sistema inmune y nervioso. Mediante el tipo de grasa añadida en las dietas es posible modificar el perfil de ácidos grasos en el calostro y en la leche de las cerdas ya que estos pasan directamente sin modificación, o con modificaciones mínimas, y son depositados en los tejidos de los lechones para posteriormente ser movilizados durante la fase del destete (Vicente *et al.*, 2011). Según López Bote *et al.* (2011), durante los primeros días post-destete, los lechones suelen consumir muy poco alimento y debido a esto deben utilizar las reservas de glucógeno y lípidos para obtener energía. Por eso, resulta importante estudiar la forma en que son movilizadas estas reservas energéticas durante el ayuno del destete así como determinar si es posible mejorar los parámetros productivos de la camada, evaluando un sistema de alimentación para cerdas que incluyen grasas con diferente grado de saturación bajo condiciones tropicales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio en la granja comercial "Porcícola Platanar" ubicada en el municipio de Emiliano Zapata (Veracruz, México), donde se utilizaron 30 cerdas (Landrace x Large White) múltiparas (de dos a seis partos) que fueron inseminadas. Una vez confirmada la gestación (a 42 días post-inseminación), fueron asignadas al azar a dos tratamientos isoenergéticos: para el primer grupo (T1), se elaboró una dieta suplementada con 3,6% de manteca de cerdo (n=15), y para segundo grupo (T2) la dieta fue suplementada con 3,6% de aceite de soja (n=15) (Tabla 1). Ambas dietas contenían 2,88 Mcal de energía metabolizable (EM)/kg, proporcionaban la misma cantidad de aminoácidos esenciales digestibles y se suministraron desde el inicio del estudio (42 días post-inseminación) hasta una semana antes del parto. En ese momento se reformularon para que T1 incluyera un 4% de manteca de cerdo y T2 un 4% de aceite de soja (ambas con 3,15 Mcal EM/kg), con el fin de cubrir la demanda energética de las cerdas durante la lactancia, y fueron ofrecidas hasta el destete (con 21 días de edad). Todos los lechones fueron pesados al nacimiento y al destete. En el momento del destete y 7 días después se sacrificaron al azar 16 lechones de cada tratamiento acorde a la Normativa NOM-033-SAG/ZOO-2014. Se tomaron muestras del músculo *Longissimus dorsi*, que se liofilizaron para posteriormente realizar una extracción de grasa y cromatografía de gases mediante la técnica de Bligh y Dyer (1959) con el fin de obtener el porcentaje de grasa total presente en 0,20 g de liofilizado y su composición en ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI). Para analizar el efecto de la dieta sobre el porcentaje de grasa intramuscular, perfil de ácidos grasos y parámetros productivos de los lechones, se realizó un análisis de varianza mediante el paquete estadístico Estadística V.10.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los datos del sacrificio en el momento del destete (21 días de vida), se obtuvo una mayor concentración en grasa intramuscular en el lomo del grupo tratado con aceite de soja que en

el lomo del tratado con manteca de cerdo (14,51 vs 10,57%;  $P < 0,001$ ) por lo que puede confirmarse que la dieta que incorporó aceite de soja logró una mayor acumulación de reservas lipídicas en los lechones (Tabla 2). Además, en la grasa de los lechones provenientes de cerdas suplementadas con manteca de cerdo se detectó mayor concentración de AGS y menor de AGMI y AGPI ( $P < 0,001$ ). Estos resultados pueden ser explicados por el trabajo de Amri *et al.* (1994) donde se señala que, en los animales jóvenes, los ácidos grasos poliinsaturados actúan como pseudo-hormonas sobre las células adiposas estimulando su proliferación, de modo que al contar con un mayor número de adipocitos, la capacidad de almacenamiento de grasas es mayor. Quiniou *et al.* (2008) también encontraron un mayor número de adipocitos en los cerdos al sacrificio cuyas madres habían sido recibidos 5% de aceite de soja en comparación con el grupo que no recibió ninguna fuente lipídica, evidenciando un efecto a largo plazo del uso de aceites con alto grado de poliinsaturación sobre el desempeño de la progenie.

Las diferencias entre tratamientos en cuanto a grasa intramuscular al destete se mantuvieron 7 días después y así lo demuestran los resultados de los lechones del segundo sacrificio (13,22 vs 9,14%;  $P < 0,001$ ). Del mismo modo, los lechones provenientes de las cerdas que recibieron manteca presentaron mayor cantidad de AGS ( $P < 0,01$ ) y menor de AGPI ( $P < 0,001$ ), no detectándose en este caso diferencias en el total de AGMI ( $P > 0,05$ ). Se observaron diferencias en la pérdida de grasa intramuscular con el tiempo (durante los 7 días postdestete) siendo menor en el grupo tratado con aceite de soja (1,29%) en comparación con el grupo tratado con manteca de cerdo (1,42%). Vicente (2011) detectaron una disminución del contenido de grasa intramuscular tras el destete que fue mayor en el grupo tratado con aceite de girasol (4,4%) que en el grupo tratado con manteca de cerdo (1,6%). Olivares (2009) menciona que el uso de aceites con mayor cantidad de ácido linoleico provoca una mayor movilización de los mismos, en comparación con las grasas saturadas de forma que se acumulan en menor proporción.

En cuanto a los parámetros productivos de los lechones (Tabla 3), solo se observaron diferencias en el peso de los lechones al nacimiento, que fue mayor para el grupo tratado con manteca de cerdo (1,387 vs 1,488 kg;  $P < 0,05$ ). Sin embargo, esta diferencia no supuso ningún beneficio durante la lactación ya que no lograron mantener esta ventaja hasta el momento del destete.

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que, bajo condiciones tropicales, es posible modificar la proporción en que son acumuladas las reservas grasas, así como el perfil de ácidos grasos del lechón durante la lactancia y en la primera semana postdestete al suplementar a las cerdas con diferentes grados de saturación de grasas y aceites.

**Tabla 1. Ingredientes de las dietas experimentales.**

Ingredientes (g/kg)	Dieta de gestación		Dieta de lactación	
	Manteca	Aceite	Manteca	Aceite
Sorgo	536	536	606	606
Soja	113	113	200	200
Salvado	293	293	120	120
Manteca	36	-	40	-
Aceite de soja	-	36	-	40
Carbonato cálcico	8	8	12	12
Fosfato Bicálcico	5	5	10	10
Corrector vitamínico mineral	5	5	3	3
Cloruro sódico	4	4	4	4
Lisina- 50%	-	-	5	5
DL-Metionina	-	-	3	3
Energía (Kcal EM/kg)	2,88	2,88	3,15	3,15

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amri, E.Z., Ailhaud, G., Grimaldi, P.A. 1994. *J. Lipid Res.* 35: 930–937.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. 1959. *J. Biochem. Phys.* 37: 911-917.
- Lauridsen, C., Danielsen, V. 2004. *Livest. Prod. Sci.* 91: 95–105.
- López-Bote, C.J., Menoyo Luque, D., Rey, A.I., Isabel, B. 2011. *Actas del*

15th Congreso del ESVCN, Zaragoza, España. • Pettigrew, J. 1981. J. Anim Sci. 531: 107-117. • Quiniou, N., Richard, S., Mourot, I., Etienne, M. 2008. Anim. 2: 1633-1644. • Vicente, J.G., López-Bote, C.J., Isabel, B. 2011. Tesis Doctoral, UCM, España, 176 pp.

**Agradecimientos:** A la Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria. Al Programa de Mejoramiento del Profesorado (UV-EXB-478 PROMEP/103.5/13/6998).

**Tabla 2.** Efecto de la fuente de grasa añadida en la dieta de las cerdas sobre la concentración de la grasa intramuscular de los lechones y su perfil de ácidos grasos (media porcentual  $\pm$  desviación típica sobre producto liofilizado).

	Aceite de soja	Manteca	P
Grasa intramuscular al destete (%)	14,51 $\pm$ 1,136	10,57 $\pm$ 0,856	***
Grasa intramuscular post-destete (%)	13,22 $\pm$ 0,499	9,14 $\pm$ 0,454	***
Pérdida de grasa intramuscular (%)	1,29 $\pm$ 0,597	1,43 $\pm$ 0,398	**
Ácidos grasos al destete (% del total)			
$\Sigma$ AGS	41,35 $\pm$ 0,586	48,28 $\pm$ 1,526	***
$\Sigma$ AGMI	44,57 $\pm$ 0,416	41,57 $\pm$ 1,156	***
$\Sigma$ AGPI	14,08 $\pm$ 0,219	10,15 $\pm$ 0,793	***
Ácidos grasos a 7 d postdestete (% del total)			
$\Sigma$ AGS	43,53 $\pm$ 0,743	49,41 $\pm$ 1,984	***
$\Sigma$ AGMI	40,74 $\pm$ 0,576	39,65 $\pm$ 1,478	NS
$\Sigma$ AGPI	15,73 $\pm$ 0,486	10,93 $\pm$ 0,516	***

Nivel de significación: NS no significativa; \*\*P<0,05; \*\*\*P<0,005.

AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

**Tabla 3.** Efecto de la fuente de grasa añadida en la dieta de las cerdas sobre el peso al nacimiento, al destete y la ganancia media diaria en lactación (media  $\pm$  desviación típica).

	Aceite de soja	Manteca	P
Peso de los lechones al nacimiento (Kg)	1,387 $\pm$ 0,342	1,488 $\pm$ 0,339	**
Peso de los lechones al destete (Kg)	5,948 $\pm$ 1,226	6,193 $\pm$ 1,382	NS
Ganancia media diaria en lactación (Kg)	0,217 $\pm$ 0,059	0,223 $\pm$ 0,068	NS

Nivel de significación: NS no significativa; \*\*P<0,05; \*\*\*P<0,005.

#### EFFECT OF THE TYPE OF FAT ADDED IN THE DIET OF REPRODUCTIVE SOWS ON THE LIPID METABOLISM OF PIGLETS UNDER TROPICAL CONDITIONS

**ABSTRACT:** Two types of fats in the sows diet were compared; soy oil: a polyunsaturated fat source, and pork lard: a very saturated fat, those diets were offered to a total of 30 sows during pregnancy and lactation, 15 sows received soy bean oil diets and the other 15 pork lard diets. After weaning of piglets (21 days) in both groups, 16 piglets from each group were sacrificed to obtain samples of the longissimus dorsi muscle, in the same way, one week after weaning another 16 piglets were sacrificed and same samples were taken, all the samples were analyzed by the technique of Bligh and Dyer (1959) to determine the concentration of fat in the muscle. The results shows highest determinations of muscle fat in the piglets from soy bean oil diets (14.511%) compared with those from pork lard (10.574%), Samples taken from piglets on week after weaning showed higher fat concentrations in soybean oil diets (13.221%), fat concentrations in samples from pork lard was 9.144% also highest concentrations of SFA were observed in samples of the animals treated whit pork lard and in the ones treated whit soy bean oil the MUFA and PUFA were highest at weaning and one week later, concluding that it is possible to modify the proportion in piglet fat reserves accumulated during lactation and in the first week of weaning when supplementing the sows with different types of fats and oils.

**Keywords:** sows nutrition, fat metabolism, and tropical swine production.



## EVALUACIÓN DE PREFERENCIAS INNATAS EN LECHONES POST-DESTETE FRENTE A DIFERENTES COMPUESTOS FITOGÉNICOS SUPLEMENTADOS EN DIETAS DE INICIACIÓN

Reyes, D., Villodre, C., Pérez, J.F. y Solá-Oriol, D.  
Universidad Autónoma de Barcelona. Edifici V, 08193 Bellaterra, Barcelona, España.  
dreyes\_85@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN

Los aditivos alimentarios derivados de plantas (fitogénicos) se caracterizan, dentro de la producción animal, por sus propiedades organolépticas y medicinales (Durmic y Blache, 2012). El uso de estos compuestos botánicos en la industria porcina es interesante en el desarrollo de estrategias alimentarias (Karásková *et al.*, 2015), especialmente en los periodos más críticos de la producción porcina, como es el destete. Durante este periodo, la presencia de altos niveles de estrés en el lechón y los cambios bruscos en la alimentación pueden determinar bajos consumos de alimento y enteropatías, que afectan directamente su productividad e incluso elevan los índices de mortalidad (Bolhuis *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2014). La suplementación post-destete con fitogénicos, como aditivos sensoriales, podría representar una alternativa prometedora. Sin embargo, los lechones presentan habitualmente neofobia ante nuevos ingredientes (Figueroa *et al.*, 2013), por lo que es importante conocer la preferencia alimentaria que el lechón presenta ante diversos compuestos botánicos. El objetivo de este estudio fue diseñar un protocolo que permitiera evaluar simultáneamente la preferencia innata del lechón post-destete, para diversos fitogénicos, mediante un procedimiento de doble elección en condiciones comerciales, y explorar sus posibles efectos sobre los parámetros productivos de los animales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se planteó la evaluación de un total de 6 compuestos fitogénicos (T1-T6) en una granja comercial porcina mediante el diseño de un test de doble elección en periodos comprendidos por dos semanas consecutivas, siendo la primera semana (S1, d 1 – 7 post-destete) de adaptación y la segunda semana (S2, d 8 – 14 post-destete) cuando se realizó el test de preferencia. Se emplearon 1.656 lechones ([Large White x Landrace] x Pietrain) destetados con 21 días de edad y  $6 \pm 0,5$  kg de peso vivo (PV), distribuidos homogéneamente por peso y sexo en 12 corrales por tratamiento (6 corrales machos enteros y 6 corrales hembras; 23 lechones/corral), siendo el corral la unidad experimental. Durante la lactación y en S1, los lechones recibieron una dieta comercial, en forma de harina, sin adición de compuestos saborizantes/fitogénicos. En S2 se ofreció una dieta en harina, empleada como referencia (R) sin adición de aditivo fitogénico, así como, la misma dieta basal suplementada a razón de (2 kg/Tn) con uno de los compuestos fitogénicos a evaluar (T1-T6). Los tratamientos fueron ofrecidos *ad libitum* mediante la introducción en los corrales de dos comederos tipo tolva, que fueron alternados de posición dentro del mismo corral al cuarto día del test. Para cada corral se registró el consumo de las dietas R y T, así como el peso de los lechones al inicio y fin del periodo con objeto de registrar: PV inicial (PVi) y PV final (PVf); se calculó la ganancia media diaria (GMD), consumo medio diario de la dieta referencia (CMD-R), consumo medio diario de la dieta suplementada (CMD-T), consumo medio diario total (CMD-Tot) e índice de conversión (IC). El consumo estandarizado de cada dieta (Cstd-R o Cstd-T = g pienso consumido/kg PV) se utilizó para determinar el porcentaje de preferencia sobre el 50% del consumo total como valor neutro para la dieta suplementada (Pref-T), aplicando la fórmula:  $[\text{Cstd-T} / (\text{Cstd-T} + \text{Cstd-R})] \times 100$ . Los resultados fueron analizados usando el test ANOVA ( $P \leq 0.05$ ) mediante el GLM del paquete estadístico SAS® (v 9.4).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

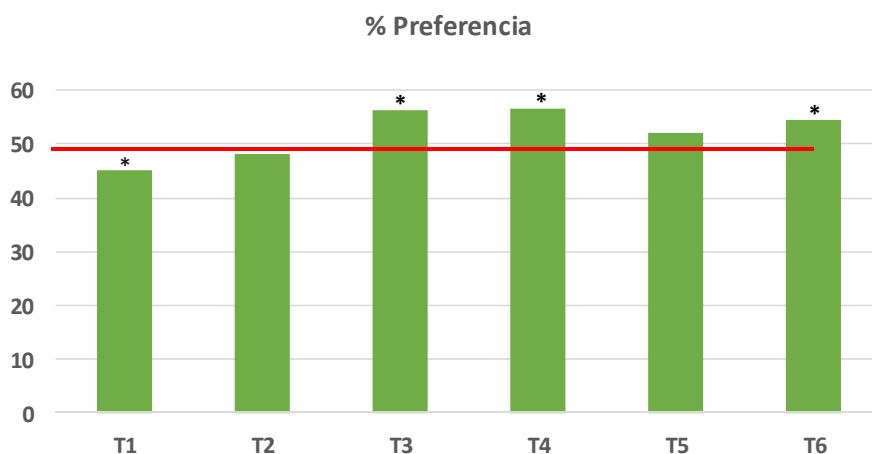
Los resultados (Figura 1, Tabla 1) mostraron que el modelo experimental permitió evidenciar diferencias en los valores de preferencia observados (aversión o preferencia) tras la

incorporación de compuestos fitogénicos al pienso, así como su capacidad para promover cambios significativos en los rendimientos productivos. Tres de las dietas suplementadas (T3, T4 y T6) mostraron valores de preferencia mayores ( $P \leq 0.05$ ) al valor neutro del 50% sobre la dieta R. Además, la presencia de los compuestos T3, T4, T5 y T6 en una de las dos tolvas logró mejorar el IC ( $P \leq 0.05$ ) e incrementar la GMD. También se observó un mayor CMD de T3, T4 y T6, en detrimento del CMD-R, aunque esto no influyó sobre el CMD-Tot. En contraste, la preferencia para T1 fue menor del 50% ( $P \leq 0.05$ ), lo que indica que los lechones presentaron cierta aversión hacia la dieta suplementada, además, estos animales fueron los que mostraron menor GMD y mayor IC. No se detectaron cambios significativos respecto a la preferencia con T2 y T5; asimismo, los parámetros productivos para estos tratamientos se correspondieron con valores intermedios. En relación a la influencia del sexo de los lechones sobre la preferencia, se observó que las hembras presentaron mayor sensibilidad ante los compuestos fitogénicos suplementados, efecto manifestado por un mayor CMD-T en comparación con los machos, aunque el consumo relativo entre tratamientos no fue diferente entre sexos.

En conclusión, estos resultados muestran que mediante el empleo de un método de doble elección los lechones, y particularmente las hembras en mayor medida, son capaces de manifestar preferencia, indiferencia y/o aversión por algunos compuestos fitogénicos suplementados como aditivos sensoriales. Los valores de preferencia observados también indican cierta correlación con los parámetros productivos, que podrían estar asociados a la preferencia innata que muestran los lechones ante la presencia de ciertos compuestos fitogénicos suplementados.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bolhuis, J., Oostindjer, M., Van Den Brand, H., Gerrits, W. & Kemp, B. 2009. En: Voluntary feed intake in pigs. Torrallardona, D. y Roura, E. pp 35-58. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Países Bajos.
- Durmic, Z. y Blache, D. 2012. J. Anim. Sci. and Tech. 176: 150-162.
- Figueroa, J., Solà-Oriol, D., Manteca, X. & Pérez, J.F. 2013. J. App. Anim. Beha. Sci. 148: 120-127.
- Hu, H., Xiao, K., Luan, S. & Song, J. 2013. J. Anim. Sci. 91: 1094-1101.
- Karáskova, K., Suchy, P. & Straková, E. 2015. Czech. J. Anim. Sci. 60: 521-530.



**Figura 1.** Efecto de la suplementación del pienso con distintos aditivos fitogénicos (T1 a T6) en lechones post-destete sobre el 50% de preferencia como valor neutro del consumo total.

(\*) = valores de preferencia significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ) del 50% como valor neutro del consumo total de alimento.

**Tabla 1.** Parámetros productivos de lechones post-destete por efecto de la presencia de pienso suplementado con distintos aditivos fitogénicos (T1 a T6) en un modelo de doble elección.

TRATAMIENTO	<sup>2</sup> PVi (kg)	PVf (kg)	GMD (g/d)	CMD-R (g/d)	CMD-T (g/d)	CMD-Tot (g/d)	IC	Pref-T (%)
T1	6,30	7,69	0,200 <sup>b</sup>	0,142 <sup>a</sup>	0,118 <sup>b</sup>	0,260	1,31 <sup>a</sup>	45,26 <sup>c</sup>
T2	6,29	7,86	0,224 <sup>ab</sup>	0,141 <sup>a</sup>	0,132 <sup>ab</sup>	0,273	1,21 <sup>a</sup>	48,10 <sup>bc</sup>
T3	6,30	7,77	0,245 <sup>ab</sup>	0,110 <sup>b</sup>	0,141 <sup>ab</sup>	0,251	1,02 <sup>b</sup>	56,42 <sup>a</sup>
T4	6,42	8,05	0,271 <sup>a</sup>	0,121 <sup>ab</sup>	0,155 <sup>a</sup>	0,276	1,01 <sup>b</sup>	56,50 <sup>a</sup>
T5	6,14	7,85	0,244 <sup>ab</sup>	0,125 <sup>ab</sup>	0,135 <sup>ab</sup>	0,260	1,06 <sup>b</sup>	52,00 <sup>abc</sup>
T6	6,14	7,86	0,255 <sup>a</sup>	0,121 <sup>ab</sup>	0,143 <sup>ab</sup>	0,264	1,03 <sup>b</sup>	54,50 <sup>ab</sup>
Media	6,26	7,84	0,240	0,126	0,137	0,264	1,11	52,13
<sup>1</sup> EEM (n=72)	0,851	1,007	0,042	0,026	0,022	0,036	0,107	6,340
Hembras	6,22	7,80	0,240	0,125	0,143	0,268	1,13	53,57
Machos	6,31	7,90	0,240	0,128	0,131	0,260	1,10	50,69
<sup>1</sup> EEM (n=36)	0,147	0,174	0,007	0,004	0,003	0,006	0,018	1,096
P-Tratamiento	ns	ns	0,004	0,036	0,007	ns	<,001	<,001
P-Sexo	ns	ns	ns	ns	0,038	ns	ns	ns
P-Trat*Sexo	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>1</sup>EEM: error estándar de la media; <sup>2</sup>Letras diferentes en la misma fila indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ); ns: no significativo; PVf: peso vivo final; GMD: ganancia media diaria; CMD-R, CMD-T, CMD-Tot: consumo medio diario dieta referencia, suplementada y total, respectivamente; IC: índice de conversión; Pref-T: % preferencia dieta suplementada.

## EVALUATION OF INNATE PREFERENCE IN POST-WEANING PIGLETS TO DIFFERENTS PHYTOGENIC COMPOUNDS SUPPLEMENTED IN STARTER DIETS

**ABSTRACT:** In order to evaluate the innate preference of post-weaning piglets to phytogetic compounds as sensory additive and their influence on performance, a double choice test was used in commercial conditions. Six different phytogetics (T1-T6) were compared to a reference diet during two weeks. 6 pens male and 6 of females (23 piglets each), balanced in body weight, were used per treatment (n=12). After 1 week adaptation without phytogetics, piglets were fed two different starter diets (reference and test diet) during 7 days by using two different pan-hoppers per pen. The initial and final body weight and total feed intake per pen was recorded during the experimental period to calculate preference for the test diet and performance parameters. Piglets showed a positive preference ( $P \leq 0.05$ ) for supplemented diet with T3, T4 and T6, and accordingly showed the best performance. Contrarily, piglets that showed aversion for supplemented phytogetic T1 had lower performance. Also, females seemed to be more sensitive in detecting the phytogetics than males. Double choice test may be a useful tool to evaluate preference in swine, moreover sensible relationship with performance parameters can also be observed in post-weaning piglets.

**Keywords:** Phytogetics, piglets, double-choice test, preference, performance.

## EFFECTO DEL GENOTIPO Y DE LA DEFICIENCIA DE LISINA EN LA DIETA SOBRE EL PERFIL DE AMINOÁCIDOS DEL MÚSCULO Y PLASMA EN LECHONES

Palma-Granados, P., Lara, L, Seiquer, I., Aguilera, J.F. y Nieto, R.  
Departamento de Fisiología y Bioquímica de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Camino del jueves s/n, 18100 Armilla, Granada.  
rosa.nieto@eez.csic.es

### INTRODUCCIÓN

La lisina (Lys) es el primer aminoácido (AA) limitante en las dietas basadas en cereales para el ganado porcino. En trabajos anteriores (Rivera-Ferre *et al.*, 2006), observamos que el cerdo Ibérico es menos sensible a la deficiencia de Lys en la dieta cuando se consideran parámetros de crecimiento y de utilización y retención de proteína corporal. Por otra parte, aunque se asume que el perfil de AA de la proteína corporal permanece constante, estudios recientes describen una alteración de su composición en lechones alimentados con dietas deficientes en AA azufrados (Conde-Aguilera *et al.*, 2010, 2014). Otros factores, como el genotipo, pueden afectar a la composición de la proteína corporal aunque sobre este aspecto la información existente es muy escasa. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto que el genotipo y la deficiencia de Lys en la dieta pueden ejercer sobre el perfil de AA del músculo esquelético y del plasma de cerdos Ibéricos y Landrace × Large-White, de edad y peso similar, mantenidos en idénticas condiciones experimentales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 14 animales Ibéricos puros y 14 Landrace × Large-White (LDW) de edad y peso similares. Los cerdos fueron alojados en parques individuales de 2 m<sup>2</sup> en condiciones de termoneutralidad. El peso vivo (PV) inicial fue 10,3 ± 0,3 kg. Los animales de ambas razas fueron asignados al azar a una de las dos dietas experimentales siguiendo un diseño factorial 2 × 2 (2 razas × 2 dietas) con 7 cerdos por cada combinación de tratamientos. Las dietas, isonitrogenadas e isoenergéticas, contenían 200 g de proteína bruta (PB)/kg de materia seca (MS) y 14,7 MJ de energía metabolizable/kg MS. La dieta adecuada en Lys (Lys Adecuada) contenía, además, cantidades suficientes en el resto de AA y en otros nutrientes (1,09 % Lys; NRC, 1998), mientras que la dieta deficiente en Lys (Lys Deficiente) se formuló con una composición idéntica a la anterior excepto para el contenido en dicho AA (0,52 % Lys). Los animales fueron alimentados al 85% de la ingesta *ad libitum* del genotipo Ibérico, que presenta mayor capacidad de ingestión. La ración diaria fue calculada semanalmente en función del peso vivo individual (Nieto *et al.*, 2012). A los 25 kg PV, los cerdos fueron sacrificados por exsanguinación previa electronarcosis. Se tomaron rápidamente muestras de los músculos *Longissimus dorsi* y *Biceps femoris* de la canal izquierda que se congelaron a -20°C hasta su análisis, previa liofilización. Se recogieron muestras de sangre en tubos con EDTA, se centrifugaron a 1400 g a 4°C durante 20 min, y conservaron a -80° C. La concentración de proteína en los músculos (N × 6,25) se determinó por el método Dumas. La concentración de AA se determinó tras la hidrólisis ácida en HCl 6N mediante cromatografía líquida de alta eficacia (Rivera-Ferre *et al.*, 2006). Cisteína y metionina fueron determinados como ácido cisteico y metionina sulfona, respectivamente. Los efectos debidos al genotipo, la dieta y sus interacciones fueron analizados mediante ANOVA usando el procedimiento GLM de SAS.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A pesar de su menor tamaño, los músculos de los cerdos Ibéricos presentaron una concentración de proteína superior (+10% y +13% para *Longissimus dorsi* y *Biceps femoris*, respectivamente, P < 0,05, resultados no mostrados). El perfil de AA de la proteína del *Longissimus dorsi* (g AA/kg proteína) se vio alterado tanto por el genotipo como por la deficiencia de Lys en la dieta (Tabla 1), presentando concentraciones mayores de Lys, arginina, fenilalanina, isoleucina y valina (P < 0,05) y menores de metionina (P < 0,001) en los cerdos Ibéricos. En ambos genotipos, los AA esenciales Lys, treonina y metionina se

vieron afectados por la deficiencia en Lys, con reducciones de 3, 1 y 19% respectivamente. También este tratamiento dio lugar a un aumento en la concentración de arginina ( $P < 0,05$ ). La proporción de histidina se redujo sólo en los músculos de los cerdos Ibéricos cuando se alimentó a los animales con la dieta deficiente en Lys (interacción genotipo  $\times$  dieta,  $P < 0,059$ ).

**Tabla 1.** Efectos del genotipo (Gen) y el contenido en lisina en la dieta sobre la concentración de aminoácidos en la proteína muscular (g AA/kg proteína) y los aminoácidos plasmáticos (mmol/L) de cerdos Ibéricos y Landrace  $\times$  Large-White (LDW) de 25 kg PV.

	Ibérico		LDW		SEM	Valor de P <sup>1</sup>		
	Lys Adecuada	Lys Deficiente	Lys Adecuada	Lys Deficiente		Gen	Dieta	Gen $\times$ Dieta
<i>Longissimus dorsi</i>								
Lisina	83,6	80,2	79,6	78,0	1,1	**	*	NS
Treonina	43,3	42,8	43,8	42,3	0,3	NS	**	NS
Metionina	19,2	14,3	20,7	17,9	0,7	***	***	NS
Arginina	73,1	79,0	69,5	72,8	1,1	***	***	NS
Histidina	50,1 <sup>bc</sup>	45,4 <sup>c</sup>	54,5 <sup>ab</sup>	57,4 <sup>a</sup>	1,6	***	NS	*
Isoleucina	43,1	41,3	40,7	39,7	0,9	*	NS	NS
Fenilalanina	36,5	35,6	34,9	33,8	0,5	***	*	NS
Leucina	76,9	76,4	77,1	74,0	0,9	NS	NS	NS
Valina	48,6	47,1	45,2	44,4	0,8	***	NS	NS
$\Sigma$ AA esenciales	475	462	466	460	4	NS	NS	NS
<i>Biceps femoris</i>								
Lisina	87,3	84,1	86,1	85,4	1,1	NS	0,084	NS
Treonina	44,5	44,4	44,5	44,5	0,4	NS	NS	NS
Metionina	24,9	23,6	23,8	24,4	0,9	NS	NS	NS
Arginina	84,0	85,0	80,4	80,3	1,2	**	NS	NS
Histidina	49,6	48,6	51,7	53,4	1,1	**	NS	NS
Isoleucina	43,1	43,8	44,2	43,4	1,0	NS	NS	NS
Fenilalanina	38,4	39,2	39,8	39,7	0,7	NS	NS	NS
Leucina	70,8	71,1	74,1	72,5	1,2	0,057	NS	NS
Valina	46,9	47,1	47,4	46,3	0,0	NS	NS	NS
$\Sigma$ AA esenciales	490	487	492	490	3	NS	NS	NS
Plasma								
Lisina	0,126 <sup>a</sup>	0,048 <sup>b</sup>	0,068 <sup>bc</sup>	0,037 <sup>c</sup>	0,007	***	***	**
Treonina	0,182	0,286	0,558	0,708	0,103	***	NS	NS
Metionina	0,033	0,037	0,061	0,053	0,005	***	NS	NS
Arginina	0,117	0,080	0,097	0,107	0,012	NS	NS	NS
Histidina	0,088	0,072	0,075	0,099	0,010	NS	NS	NS
Isoleucina	0,175	0,141	0,189	0,135	0,010	NS	***	NS
Fenilalanina	0,055	0,079	0,064	0,091	0,007	NS	**	NS
Leucina	0,284	0,205	0,333	0,206	0,025	NS	***	NS
Valina	0,401	0,347	0,399	0,303	0,029	NS	*	NS
Triptófano	0,049 <sup>a</sup>	0,032 <sup>b</sup>	0,039 <sup>b</sup>	0,033 <sup>b</sup>	0,002	0,064	***	*
$\Sigma$ AA esenciales	1,51	1,32	1,88	1,77	0,18	*	NS	NS

<sup>1</sup>NS = no significativo, \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$ .

<sup>a-c</sup>Dentro de una fila, los valores medios con superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

En el *Biceps femoris* se observaron concentraciones mayores de arginina ( $P < 0,01$ ) y menores de histidina ( $P < 0,01$ ) y leucina ( $P = 0,057$ ) en los cerdos Ibéricos. La restricción de Lys en la dieta no afectó a la concentración de AA esenciales, lo que parece indicar que los efectos del genotipo y la deficiencia de Lys sobre el perfil proteico de este músculo son más atenuados que los observados en *Longissimus dorsi*. En este sentido, las diferencias en composición de los músculos pueden estar relacionadas con la distinta función, propiedades contráctiles y capacidades oxidativas de los mismos (Spangenburg y Boot, 2003). El músculo *Biceps femoris* tiene una importante función locomotriz y el animal podría priorizar el preservar su composición en detrimento de otros músculos en condiciones de ayuno o restricción en nutrientes. Otros autores también han descrito la influencia de la deficiencia de AA esenciales (azufrados) en la dieta sobre la composición de las proteínas musculares, con distinta intensidad sobre músculos diferentes (Conde-Aguilera *et al.*, 2014).

En cuanto a los AA plasmáticos, destacar el descenso en la concentración de Lys en los animales alimentados con dietas deficientes, mucho más acusada en el caso del genotipo Ibérico (interacción genotipo  $\times$  dieta,  $P < 0,01$ ). En estas condiciones, se observa en ambos genotipos descensos en las concentraciones de AA de cadena ramificada (isoleucina, leucina y valina,  $P < 0,05$ ) y triptófano ( $P < 0,01$ ). En general, la respuesta observada en plasma al tratamiento deficiente en Lys coincide con la señalada por otros autores (Katsumata *et al.*, 2008).

Los resultados encontrados indican que el genotipo y la deficiencia en Lys de la dieta pueden afectar a la composición en AA de la proteína corporal y que la intensidad de este efecto puede ser distinta en músculos con funciones diferentes. Asimismo, nos muestran la plasticidad del organismo animal para hacer frente a condiciones de restricción de nutrientes.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Conde-Aguilera, J. A., Barea, R., Le Floch, N., Lefaucheur, L., van Milgen, J. 2010. *Animal* 4, 1349-1358.
- Conde-Aguilera, J. A., Cobo-Ortega, C., Mercier, Y., Tesseraud, S., Van Milgen, J. 2014. *Animal* 8, 401-409.
- Katsumata, M., Matsumoto, M., Kobayashi, S, Kaji, Y. 2008. *Anim. Sci. J.* 79: 347-353.
- Nieto, R., Lara, L., Barea, R., García-Valverde, R., Conde-Aguilera, J. A., Aguilera J. F. 2012. *J. Anim. Sci.* 90, 3809-3820.
- NRC. 1998. *Nutrient Requirements of Swine*. 10th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Rivera-Ferre, M.G., Aguilera, J.F., Nieto, R. 2006. *J. Anim. Sci.* 84, 3346-3355.
- Spangenburg, E. E., Booth, F. W. 2003. *Acta Physiol. Scand.* 178, 413-424.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el MICINN (Ref. AGL2011-25360)

#### GENOTYPE AND DIETARY LYSINE DEFICIENCY CHANGE AMINO ACID PROFILE OF MUSCLE PROTEIN AND PLASMA IN IBERIAN AND LANDRACE X LARGE WHITE PIGS

**ABSTRACT:** The aim of this work was to assess the effect of genotype and dietary Lys deficiency on the amino acid profile of muscle and plasma of IB and LDW pigs. We used 28 castrated male pigs of 10 kg of initial BW, 14 from each breed, randomly assigned to 2 experimental diets in a factorial arrangement (2 breed  $\times$  2 diets). Diets were isoenergetic and with identical composition (200 g CP/kg DM; 14.7 MJ ME/kg DM) except for their Lys content (1.09 % Lys, diet *a* and 0.52 % Lys, diet *DL*). The pigs were slaughtered at 25 kg BW. The amino acid profile of *Longissimus dorsi* muscle protein was widely affected by genotype and lysine deficiency. Lysine, threonine and methionine were reduced by lysine deficiency in both genotypes; meanwhile the *Biceps femoris* muscle amino acid profile was not affected by lysine deficiency. Plasma amino acid profile was responsive to differences in lysine intake in both genotypes. Muscles responded differently when pigs were fed lysine deficient diets, in line with other findings which show that animal possesses some flexibility to cope with nutritional challenges.

**Keywords:** lysine deficiency, Iberian pigs, amino acid profile, muscle, plasma.

## EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO Y EL SEXO EN EL DESARROLLO POSTNATAL EN EL CERDO IBÉRICO

Vázquez-Gómez<sup>1</sup>, M., García-Contreras<sup>2</sup>, C., Segura<sup>1</sup>, J., Ayuso<sup>1</sup>, M., Fernández-Moya<sup>3</sup> E., Astiz<sup>2</sup>, S., González-Bulnes<sup>2</sup>, A., Óvilo<sup>2</sup>, C. e Isabel<sup>1</sup>, B.

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid.  
martavazgomez@gmail.com

<sup>2</sup>SGIT-INIA. Madrid. <sup>3</sup>Ibéricos de Arauzo 2004 S.L. Zorita de la Frontera, Salamanca.

### INTRODUCCIÓN

La restricción de crecimiento intrauterino (RCIU) es consecuencia de un aporte insuficiente de nutrientes y/u oxígeno al feto, debido a una inadecuada nutrición materna o eficiencia placentaria, que genera lechones con bajo peso al nacimiento (BPN; Wu *et al.*, 2006). En producción porcina, el bajo peso al nacimiento se relaciona con pérdidas económicas por la mayor mortalidad y morbilidad que tienen estos animales, en especial en el periodo perinatal. Además, estos cerdos presentan un patrón de desarrollo diferente al resto de la camada que conlleva un menor crecimiento y rendimiento de la canal, un mayor consumo de pienso y un exceso de tejido adiposo (González-Bulnes *et al.*, 2016; Rehfeldt y Kuhn, 2006). Estas diferencias causan pérdidas de homogeneidad en los lotes, lo que acarrea una penalización para los productores a la hora de comercializar sus canales. El cerdo ibérico es una raza importante dentro del sector cárnico en España por sus productos cárnicos de calidad. Según la escasa bibliografía actual disponible del cerdo ibérico sobre la restricción de crecimiento intrauterino, los lechones de bajo peso al nacimiento en esta raza pueden ser un problema mayor que para las razas de cerdo blanco (Arévalo y Palomo, 2008). El objetivo de este estudio fue evaluar el patrón de crecimiento de los animales con bajo peso al nacimiento en el cerdo ibérico y la influencia del sexo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente estudio se utilizaron 349 cerdos de cruce Ibérico x Duroc al 50%, seleccionados al nacimiento de una población total de 47 camadas de cerdas de tercer ciclo, alojados en las instalaciones de Ibéricos de Arauzo 2004 S.L. (Zorita de la Frontera, Salamanca). Al nacimiento, los lechones fueron pesados y crotalados para su posterior seguimiento. Se registró el peso vivo de los animales realizándose pesadas al destete (24 días), a los 110 días y a los 210 días de edad. A partir de estos datos se calculó la ganancia media diaria (GMD) de peso de cada periodo. Para poder estudiar el efecto de la restricción de crecimiento intrauterino se consideraron como lechones con bajo peso al nacimiento, a los animales cuyo peso fue menor a la media de peso menos una desviación estándar de la población total (< 1,00 kg; González-Bulnes *et al.*, 2015). De la población total sólo se han considerado para este estudio los datos de los cerdos con BPN (64 cerdos; peso medio 0,80±0,16 kg) y de los cerdos con normopeso al nacimiento (NPN), estando en este grupo los cerdos con peso al nacimiento superior al percentil 30 (285 cerdos; peso medio 1,48±0,19 kg). La población estudiada es representativa tanto de hembras (H) como de machos (M) con un 49% y 51% de los animales, respectivamente. Respecto a los lechones con BPN un 43% fueron hembras y un 57% machos.

Para evaluar el efecto de la restricción de crecimiento intrauterino y el sexo sobre el peso y la GMD en las diferentes fases se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y el test de Duncan para establecer diferencias significativas entre grupos, con el paquete estadístico SAS 9.4 (PROC GLM; SAS Inst. Inc., EEUU). Los valores medios se representaron acompañados del error estándar de la media (EEM) y se consideraron valores estadísticamente significativos a partir de  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al principio y al final del periodo de lactación, los cerdos con NPN presentaron pesos mayores que los cerdos con BPN (Tabla 1;  $P < 0,0001$ ). Tras el periodo de transición, los cerdos con NPN tuvieron peso medio superior sin ser estadísticamente significativo; siendo las hembras con BPN el grupo con mayor peso. A los 210 días de vida, este mismo grupo es

el que presentó el peso medio más bajo ( $P<0,005$ ). En ese mismo periodo, el peso de los NPN fue mayor que el peso de los BPN.

La GMD de peso del periodo de lactación fue superior en los cerdos NPN que en los BPN ( $P<0,0001$ , Figura 1). Sin embargo, durante el periodo de transición y entrada a cebo los cerdos con BPN presentaron una mayor GMD que los con NPN ( $P<0,0005$ ), siendo superior en las hembras que en los machos ( $P<0,05$ ), por la GMD en las hembras con BPN. Durante la fase de cebo se produjo la situación contraria, presentando una GMD superior los cerdos con NPN ( $P<0,01$ ) y los machos ( $P=0,06$ ); diferenciándose otra vez las hembras con BPN, pero esta vez por tener la GMD menor.

Tanto al nacimiento como en el destete los lechones NPN presentaron mayores pesos que los BPN, lo que está relacionado con la también mayor GMD de peso que tuvieron los lechones con NPN en este periodo. Esta situación ya se ha observado en otros estudios sobre lechones con restricción de crecimiento intrauterino (Gondret *et al.*, 2006). Además, los datos medios de los cerdos con NPN obtenidos al destete y en la fase de transición y entrada a cebo se encuentran en consonancia con lo publicado hasta ahora sobre el crecimiento del cerdo ibérico cruzado (Sánchez-Esquiliche, 2012; Usero *et al.*, 2016). En la fase de cebo se encuentran más diferencias al comparar los datos del estudio con la bibliografía, posiblemente debido a una alimentación diferente. A los 110 días de vida los cerdos con BPN, en especial las hembras, mostraron unos pesos similares a los cerdos con NPN, lo que concuerda con las GMD superiores de los cerdos BPN observadas en este periodo de transición y precebo; este mayor aumento de peso puede estar relacionado un incremento de la expresión de genes involucrados en el desarrollo y la proliferación celular (Ayuso *et al.*, 2016). En el último periodo estudiado se observó un cambio, los nacidos con NPN continuaron teniendo mayores pesos que sus compañeros de lote, pero las GMD también fueron mayores. Además, la GMD de los machos resultó mayor que en las hembras, debido a que las hembras con BPN que al contrario que en el anterior periodo, fueron las que menos crecieron. Con estos datos podríamos esperar un retraso para alcanzar el peso mínimo a matadero marcado por el RD 4/2014 (Norma del Ibérico) por parte de las hembras de BPN.

En conclusión, los cerdos nacidos con NPN presentaron mejor crecimiento postnatal y más homogéneo que los cerdos de BPN. Se observó en este estudio, el efecto del sexo en la fase de crecimiento, principalmente en las hembras de BPN que presentaron un crecimiento asimétrico respecto a los otros grupos. Estos datos son preliminares y el estudio se completará hasta la fase de matadero para evaluar el efecto sobre los parámetros zootécnicos y de calidad de la carne y productos cárnicos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arévalo, R., Palomo, A. 2008. *Avanc. Tecnol. Porcina*. 5(12): 34-38.
- Ayuso, M., Fernández, A., Núñez, Y., Benítez, R., Isabel, B., Fernández, A.I., *et al.* 2016. *PLoS ONE*. 11(12)
- Gondret, F., Lefaucheur, L., Juin, H., Louveau, I., Lebret, B., 2006. *J. Anim Sci*. 84(1): 93-103.
- González-Bulnes, A., Astiz, S., Óvilo, C., López-Bote, C.J., Torres-Rovira, L., Barbero, A., *et al.* 2016. *Theriogenology* 86(1): 110-119.
- Gonzalez-Bulnes, A., Torres-Rovira, L., Astiz, S., Óvilo, C., Sánchez-Sánchez, R., Gómez-Fidalgo, E., *et al.* 2015. *PLoS ONE*. 10(11)
- Rehfeldt, C., Kuhn, G. 2006. *J. Anim Sci*. 84(13): 113-123.
- Sánchez-Esquiliche, F. 2012. Trabajo Fin de Máster.
- Usero, G., Ferreres, M., Galván, M., Velasco, A., *et al.* 2016. *Sólo Ibérico*. 36:16-36
- Wu, G., Bazer, F., Wallace, J., Spencer, T. 2006. *J. Anim Sci*. 84(9): 2316-2337.

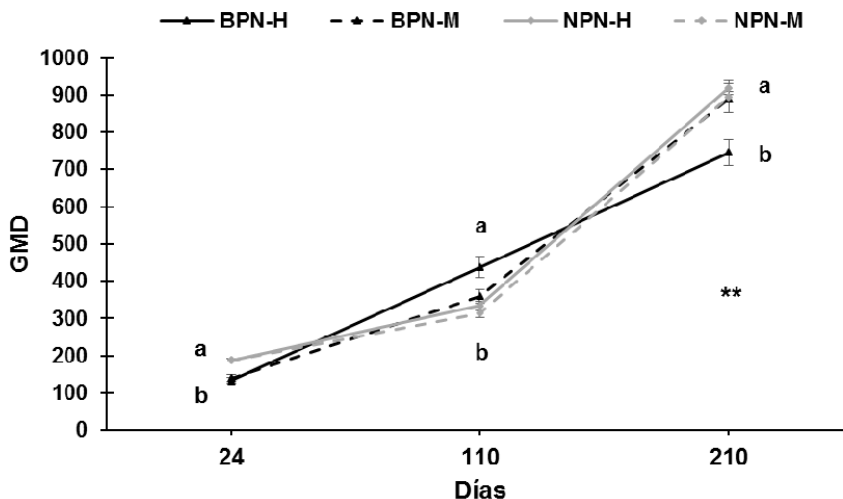
**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto AGL2013-48121-C3-R del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (MINECO), cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). M. Vázquez-Gómez y C. García-Contreras disfrutaron de un contrato FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (FPU014/01285) y un contrato FPI del MINECO (BES-2014-070464), respectivamente.



**Tabla 1.** Pesos (kg) en los diferentes periodos del estudio (0, 24, 110 y 210 días) respecto a la restricción de crecimiento intrauterino (RCIU) y el sexo.

Días	BPN-H	BPN-M	NPN-H	NPN-M	EEM	Significación		
						RCIU	Sexo	RCIU*Sexo
0	0,82 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	1,47 <sup>b</sup>	1,49 <sup>b</sup>	0,19	<0,0001	ns	ns
24	4,16 <sup>a</sup>	4,16 <sup>a</sup>	5,88 <sup>b</sup>	5,82 <sup>b</sup>	1,27	<0,0001	ns	ns
110	36,7	34,3	36,4	36,5	7,1	ns	ns	ns
210	94,5 <sup>a</sup>	114,2 <sup>b</sup>	113,1 <sup>b</sup>	115,1 <sup>b</sup>	13,3	0,0007	0,0002	0,002

BPN: bajo peso al nacimiento. NPN: normo peso al nacimiento. H: hembras. M: machos. ns: no significativo. El superíndice (a y b) señala diferencias estadísticamente significativas entre grupos.



**Figura 1.** Ganancia media diaria de peso (g/día) entre los diferentes periodos del estudio (0-24, 24-110 y 110-210 días) respecto a la restricción de crecimiento intrauterino (RCIU) y el sexo. Se muestra con asteriscos la significancia de la interacción (\*\*: P<0.01). BPN: bajo peso al nacimiento. NPN: normo peso al nacimiento. H: hembras. M: machos. La letra (a y b) señala diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

### EFFECTS OF INTRAUTERINE RESTRICTION GROWTH AND SEX ON THE POSTNATAL DEVELOPMENT OF THE IBERIAN PIG

**ABSTRACT:** Intrauterine growth restriction (IUGR) is a problem for Animal Production because of the economic losses on farms due to low-birth-weight (LBW) offspring. In pig production, LBW pigs have a deficient growth potential, which causes a lack of homogeneity in the feedlot. There is scarce data regarding this problem in the Iberian pig. The aim of this experiment was to study the growth pattern of LBW Iberian pigs and the sex-related effect. A total of 349 pigs were weighed individually from the birth to 210 days-old and their average daily weight gains (ADWG) calculated. Sixty-four pigs were representative of the LBW ( $0.80 \pm 0.16$  kg) and 285 pigs of the normal-birth-weight (NBW;  $1.48 \pm 0.19$  kg). LBW piglets showed lower birth and weaning weight and ADWG during the suckling period than their NBW littermates. At 110 days-old, LBW pig and females had a higher ADWG ( $P < 0.0005$  and  $P < 0.05$ ), but there was not a significant different weight. However, at 210 days-old NBW pig and male pigs showed greater weight and ADWG, because LBW females grew less. In conclusion, the development was generally higher for NBW pig than for their LBW littermates and the sex related effect affected the growth pattern during the postnatal development.

**Keywords:** IUGR, Postnatal growth, Iberian, ADWG.

## FLUJO NETO PORTAL DE METABOLITOS EN CERDOS IBÉRICOS ALIMENTADOS CON BELLOTAS

Fernández-Fígares<sup>1</sup>, I., Rodríguez-López<sup>2</sup>, J.M., González-Valero<sup>1</sup>, L. y Lachica<sup>1</sup>, M.

<sup>1</sup> Departamento de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Camino del Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada. ifigares@eez.csic.es

<sup>2</sup> Department Sciences Agronomiques et Animales, Institut Polytechnique LaSalle Beauvais-Esitpa, 19 rue Pierre Waguet-BP 30313-F-60026 Beauvais Cedex, Francia.

### INTRODUCCIÓN

La alimentación del cerdo Ibérico durante la montanera es el factor que más influye en la calidad de la canal. Se alimentan exclusivamente con la bellota y el pasto que encuentran en la dehesa, teniendo una menor ganancia de peso, así como de rendimiento de la canal y del jamón en comparación con cerdos de cebo. La bellota es rica en energía pero su contenido en proteína es muy bajo y el perfil aminoácido desequilibrado (Nieto *et al.*, 2002). Al llegar la montanera, los animales afrontan un cambio drástico en su nutrición al pasar de una dieta equilibrada a otra pobre en proteína que además es deficitaria en lisina, lo que forzosamente debe producir cambios a nivel metabólico para adaptarse a la nueva situación. El objeto de nuestro estudio fue determinar el flujo neto portal (FNP) de metabolitos a través de las vísceras que drenan al sistema porta (VDP) en cerdos Ibéricos alimentados con bellota de encina y evaluar si se producía una adaptación a este desafío nutricional tras una semana.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron 6 cerdas Ibéricas ( $25 \pm 0.4$  kg de peso vivo) puras de la estirpe Silvela (Sánchez Romero Carvajal, Jabugo S.A., Sevilla) alimentadas *ad libitum* con una dieta equilibrada de cebada y harina de soja con un perfil de aminoácidos acorde con la proteína ideal (145 g de proteína bruta (PB)/kg de materia seca (MS) y 14.3 MJ de energía metabolizable (EM)/kg MS). Al alcanzar los 26 kg, a los animales se les implantaron 3 catéteres (Rodríguez-López *et al.*, 2013): en arteria carótida y en vena porta para muestreo de sangre, y en vena mesentérica para la infusión de un marcador (ácido para-aminohipúrico, pAH) para determinar el flujo sanguíneo portal. Tras la recuperación de la cirugía las cerdas eran restringidas (2,5 x EM mantenimiento (EMm)) y la ración diaria ofrecida en dos porciones, 0.25 a las 09.00 y 0.75 a las 15.00 h. A los 34 kg los animales eran alimentados exclusivamente con 2,4 kg de bellota (1,150 kg MS, 54,7 g PB, 18,86 MJ EM) simulando lo que sería la entrada en montanera. Al día siguiente se infundió pAH por vena mesentérica y realizó un primer muestreo (periodo I) seriado de sangre simultáneo en carótida y vena porta durante 6 h tras la ingestión por los animales de 600 g de bellota (0.25 de su ración). Tras el primer muestreo, las cerdas continuaron alimentándose con bellota, 2,4 kg/d en dos porciones como se ha indicado, durante 7 días, en que se realizó un segundo muestreo (periodo II) en condiciones idénticas al primero. Se determinó el hematocrito, mientras que en plasma se analizó la concentración del pAH, glucosa, lactato, albúmina, creatinina, amonio, urea, triglicéridos y colesterol. El flujo sanguíneo portal y el FNP de metabolitos se realizó según el principio de Fick de concentraciones arterio-venosas (Rodríguez-López *et al.*, 2013). En el análisis estadístico consideramos el cerdo como la unidad experimental. Las medidas fueron secuenciales en la misma unidad experimental. Los datos postprandiales se sometieron a un análisis ANOVA usando el procedimiento MIXED del SAS. Los efectos principales del modelo fueron el periodo de muestreo, la hora de muestreo y la interacción. Las diferencias se consideraron significativas con  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La glucosa es la fuente principal de carbono para la lipogénesis *de novo*. En este sentido, el aumento de glucosa arterial tras una semana de consumo de bellota puede reflejar una menor captación de la misma para la síntesis de grasa en tejidos. El FNP de glucosa no se alteró entre periodos, no habiendo así cambios en disponibilidad de glucosa para el hígado y tejidos periféricos. La digestión de los carbohidratos de la bellota es más lenta que la de carbohidratos de cebada y maíz (pico de glucosa a las 1,5 y 0,5 h para bellota y cebada-soja, respectivamente; Rojas-Cano *et al.*, 2016). El hecho de que el almidón de la bellota

sea resistente a la hidrólisis (Morales *et al.*, 2002) podría explicar el menor FNP de glucosa en comparación con dietas con cebada y soja (Rojas-Cano *et al.*, 2016) o almidón de guisante o maíz (van der Meulen *et al.*, 1997). El mayor FNP de lactato (216%) tras una semana de consumo de bellota podría indicar glucólisis (a pesar de que el FNP de glucosa no varió) a nivel del enterocito, como indicaría el mayor FNP de alanina (Lachica *et al.*, comunicación personal) como resultado de la transaminación del glutamato con piruvato; también podría deberse a una mayor fermentación de carbohidratos en el lumen intestinal. El FNP de lactato fue mucho menor que en cerdos Ibéricos alimentados con una dieta de cebada y soja más rica en proteína, probablemente por la menor disponibilidad de aminoácidos gluconeogénicos en la dieta de bellota. De hecho el mayor FNP de lactato y aminoácidos (Lachica, comunicación personal) tras una semana de consumo de bellota daría lugar a más precursores para la gluconeogénesis hepática y una mayor ureagénesis, pero esto no concuerda con los menores niveles de urea sistémica.

El FNP de amonio representa la tasa máxima de catabolismo de aminoácidos por lo que debe ser verificado determinando la contribución de la hidrólisis de la urea intestinal al flujo de amonio. La reducción del FNP de amonio tras una semana de consumo de bellotas debe explicarse por un menor catabolismo de aminoácidos en la mucosa intestinal quedando más aminoácidos disponibles para fines productivos. En efecto, el mayor FNP de aminoácidos mencionado anteriormente proporcionaría más precursores gluconeogénicos al hígado, de acuerdo con el ligero aumento de glucosa arterial, operando en el mismo sentido que el mayor FNP de lactato.

Los niveles plasmáticos de triglicéridos en cerdos alimentados con bellota (6-9% extracto etéreo) fueron mayores que en cerdos alimentados con una dieta de cebada-soja con 2% de aceite de girasol (Rojas-Cano *et al.*, 2016) aunque el FNP fue comparable. El similar FNP de triglicéridos en ambos periodos concordaría con una actividad lipogénica *de novo* a partir de glucosa parecida, ya mencionada, y puede reflejar actividad lipoproteinlipasa y nivel de lipoproteínas de muy baja densidad, ricas en triglicéridos, análogos.

Aunque la adaptación al consumo de bellota no alteró el FNP de albúmina, el valor negativo señala que las VDP la usan como fuente de aminoácidos o antioxidante, aunque la importancia del tracto gastrointestinal en el catabolismo de la albúmina es un asunto controvertido.

La mayor concentración de creatinina tras una semana de consumo de bellotas estaría en consonancia con una mayor masa muscular de los animales tras una semana de crecimiento, ya que el músculo es su fuente principal (Kim *et al.*, 2008). Tras una semana de consumo de bellotas no se produjeron cambios en el metabolismo de la creatinina en las VDP, pero es interesante el que el FNP sea menor que en cerdos Ibéricos alimentados con dietas de cebada-soja con un nivel de proteína mucho mayor (Rojas-Cano *et al.*, 2016).

En conclusión, tras una semana de consumo de bellotas se produjo una menor utilización de la glucosa en los tejidos periféricos y una mayor oxidación en las VDP. El menor FNP de amonio sugiere un menor catabolismo de aminoácidos en el enterocito, hecho que debería confirmarse mediante el estudio del flujo neto de aminoácidos en las VDP.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kim, J.C., Mullan, B.P., Hampson, D.J. & Pluske, J.R. 2008. *Brit. J. Nutr.* 99: 1217-1225.
- Morales, J., Perez, J.F., Baucells, M.D., Mourot, J. & Gasa, J. 2002. *Livest. Prod. Sci.* 77: 195-205.
- Nieto, R., Rivera, M., Garcia, M.A. & Aguilera, J.F. 2002. *Livest. Prod. Sci.* 77: 227-239.
- Rodríguez-López, J.M., Lachica, M., Gonzalez-Valero, L. & Fernandez-Figares, I. 2013. *J. Agric. Sci.* 151: 434-443.
- Rojas-Cano, M., Fernández-Figares, I., Lara, L. & Lachica, M. 2016. *J. Anim. Sci.* 94: 207-210.
- van der Meulen, J., Bakker, J.G.M., Smits, B. & DeVisser, H 1997. *Brit. J. Nutr.* 78: 533-544.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado por los proyectos AGL 2006-05937/GAN y AGL 2009-08916, Ministerio de Educación y Ciencia.

**Tabla 1.** Concentración arterial y portal y flujo neto portal (FNP) de metabolitos en cerdas ibéricas (n=6) tras 1 y 8 días, periodos I y II, respectivamente, de alimentación con bellotas<sup>1</sup>

	Periodo I	Periodo II	EEM <sup>2</sup>	Valor de P	
				Periodo	Tiempo
<b>Arteria</b>					
Glucosa, mg/dl	84	89	1,2	**	ns
Lactato, mmol/l	1,09	1,05	0,048	ns	***
Albúmina, g/dl	3,54	3,33	0,045	**	ns
Creatinina, mg/dl	0,61	0,70	0,011	***	ns
Amonio, µmol/l	240	355	15	***	ns
Urea, mg/dl	31	7	1,6	***	ns
Triglicéridos, mg/dl	3,4	3,3	0,22	ns	ns
Colesterol, mmol/l	2,13	2,33	0,044	**	ns
<b>Vena porta</b>					
Glucosa, mg/dl	106	107	30	ns	***
Lactato, mmol/l	1,18	1,32	0,058	ns	**
Albúmina, g/dl	3,5	3,3	0,31	**	ns
Creatinina, mg/dl	0,7	0,8	0,15	***	ns
Amonio, µmol/l	0,42	0,41	0,012	ns	ns
Urea, mg/dl	31	7	1,80	***	ns
Triglicéridos, mg/dl	3,4	3,4	0,19	ns	ns
Colesterol, mmol/l	2,13	2,34	0,043	**	ns
<b>FNP</b>					
Glucosa, mg/min	159	156	9,6	ns	***
Lactato, mmol/h	4	14	1,0	***	*
Albúmina, mg/min	-306	-265	83	ns	ns
Creatinina, mg/min	0,42	0,41	0,090	ns	ns
Amonio, mmol/h	5,2	2,8	0,30	***	ns
Urea, mg/min	4	2	4,3	ns	ns
Triglicéridos, mg/dl	11	17	12	ns	ns
Colesterol, mmol/h	0,2	0,9	0,44	ns	ns

<sup>1</sup>Media de 11 medidas durante 6 h. La interacción Periodo x Tiempo fue siempre no significativa. <sup>2</sup>Error estándar de la media.

#### FLUX OF METABOLITES ACROSS PORTAL DRAINED VISCERA IN IBERIAN GILTS FED ACORNS

**ABSTRACT:** The shift from an equilibrated diet to an acorn diet is a challenge faced by Iberian pigs in the final grazing period in montanera. The aim of the study was to determine net portal-drained viscera (PDV) flux of metabolites in gilts fed acorns. At 26 kg, 3 catheters were placed in 6 gilts: in carotid artery and portal vein, for blood sampling and in mesenteric vein for blood flow marker infusion. After surgery, pigs were fed an equilibrated diet (2.5 × MEm) until the day previous to first sampling (34 kg), when pigs were fed 2.4 kg acorns. Blood was taken for 6 h after feeding 0.25 of daily acorn ration. After 1 week of acorns consumption, a second sampling was performed. Plasma was analysed for marker and metabolites. Adaptation to acorns consumption decreased net PDV flux of ammonia (47%;  $P<0.001$ ). There was a transfer of urea from the gastrointestinal tract to the circulation. No differences in net PDV flux of urea, albumin and glucose was found between periods ( $P>0.05$ ). Net PDV flux of lactate was greatly increased (216%;  $P<0.001$ ). Arterial and portal cholesterol increased (9-10%;  $P<0.01$ ). In conclusion, acorn feeding represents a nutritional challenge that acutely affects the protein metabolism of pigs changing PDV flux of metabolites to provide more N to liver and peripheral tissues.

**Keywords:** Iberian pig, portal-drained viscera, fluxes, metabolites.

## APARICIÓN NETA PORTAL DE AMINOÁCIDOS EN CERDOS IBÉRICOS ALIMENTADOS CON BELLOTA

Lachica<sup>1</sup>, M., González-Valero<sup>1</sup>, L., Rodríguez-López<sup>2</sup>, J.M. y Fernández-Figares<sup>1</sup>, I.

<sup>1</sup> Departamento de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Camino del Jueves s/n, Armilla, 18100 Granada. ifigares@eez.csic.es

<sup>2</sup> Department Sciences Agronomiques et Animales, Institut Polytechnique LaSalle Beauvais-Esitpa, 19 rue Pierre Waguet-BP 30313-F-60026 Beauvais Cedex, Francia.

### INTRODUCCIÓN

Los cerdos Ibéricos sufren un cambio radical de dieta cuando son trasladados a la dehesa para comenzar la fase de montanera. En esta fase, la alimentación se basa casi exclusivamente en bellota: recurso muy apetecible para los cerdos, de alta energía (rica en almidón y lípidos) pero pobre en proteína tanto cuantitativa como cualitativamente, donde la lisina es en primer aminoácido (AA) limitante. El objetivo de este trabajo fue determinar la aparición neta portal (ANP) de AA y si se afectaba por el periodo de adaptación a la bellota. También se determinó la proporción de AA ingeridos con la bellota que aparecía en porta.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 6 cerdos Ibéricos puros alojados individualmente y alimentados  $2,5 \times$  energía metabolizable de mantenimiento ( $EM_m$ ) ( $422 \text{ kJ/kg}^{0,75}$  de peso vivo (PV)/día; Nieto *et al.*, 2012) con una dieta estándar (145 g de proteína bruta (PB)/kg de materia seca (MS) y 14,3 MJ  $EM/kg$  MS) a las 09:00 (0,25) y 15:00 h (el 0,75 restante). Los cerdos fueron implantados con 3 catéteres (Rodríguez-López *et al.*, 2013): en la arteria carótida y vena porta para un muestreo sanguíneo simultáneo, y en la vena ileal para la infusión de ácido para-aminohipúrico (PAH) para determinar el flujo sanguíneo portal. A los 34 kg PV la dieta fue cambiada a bellota exclusivamente (2,4 kg que correspondían a una ingesta de 54,7 g PB y 18,9 MJ EM) y siguiendo el mismo patrón de alimentación descrito. Tras 24 h, se realizó el primer muestreo (M-I) sanguíneo 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5 y 6 h después de ingerir 0,25 de la ración diaria. Tras 8 días ingiriendo bellota, el muestreo (M-II) fue repetido. En el plasma se analizó PAH y AA libres para calcular el flujo plasmático portal y ANP de AA (González-Valero *et al.*, 2012). La ingesta de AA de la bellota fue calculada de acuerdo con los valores obtenidos por Nieto *et al.* (2002). Los datos fueron agrupados y analizados según un ANOVA de una vía. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 1. Stoll *et al.* (1998) obtuvieron, en cerdos lactantes, que 64% de la proteína ingerida aparecía como AA libres en la porta, concluyendo que 1/3 de los AA esenciales eran consumidos por el intestino. Yin *et al.* (2010) obtuvieron un valor similar (69%) en cerdos de 25 kg PV alimentados con una dieta estándar. En nuestro estudio el valor obtenido fue 83 y 110% para el M-I y M-II, respectivamente; este aumento proveería al hígado vía porta de más precursores para la gluconeogénesis lo que estaría en concordancia con el aumento arterial de glucosa y con la baja ANP de urea y amonio (datos no presentados) encontrados en M-II, que implicaría un aumento en la eficiencia en la utilización y retención de N como respuesta a un recurso alimenticio tan pobre en proteína como la bellota. Una relación ANP/AA ingeridos mayor a 1 probablemente implica una síntesis neta del AA en el intestino o una reducción en el metabolismo intestinal (Yen *et al.*, 2004). Se produjo un incremento (45%;  $P < 0,05$ ) en ANP de AA en M-II vs. M-I. Este incremento fue acompañado por un incremento en el consumo de  $O_2$  de las vísceras que drenan al sistema porta del 29% (datos no presentados) lo que indicaría, junto con lo mencionado anteriormente, un aumento en la síntesis de AA en detrimento del catabolismo de AA por parte del intestino, principalmente. En cerdos bien alimentados, los AA esenciales pueden ser una importante fuente de energía para la mucosa del intestino delgado (Stoll *et al.*, 1998).

La ANP es particularmente baja para arginina, isoleucina, metionina y triptófano, pudiéndose considerar como AA limitantes para el depósito intestinal de proteína (Stoll *et al.*, 1998). Este consumo de AA por el intestino podría indicar síntesis de proteína (Rérat, 1993). El incremento (118%;  $P < 0,05$ ) de ANP de alanina es más que notable en M-II vs. M-I seguramente debido a un incremento de la síntesis neta de la misma por el tejido intestinal (Stoll *et al.*, 1998). La síntesis de alanina procede del metabolismo de glutamato y glutamina, y probablemente también del metabolismo de AA ramificados y piruvato (Rérat, 1993). La ANP de alanina y glicina fue alta, lo que también fue observado por Lenis *et al.* (1996). En la misma línea Yin *et al.* (2010) encontraron que el intestino delgado sintetiza *de novo* y libera grandes cantidades de alanina, citrulina y prolina.

La ANP de arginina es muy baja debido a su metabolización durante el transporte intestinal para originar citrulina y ornitina (Dudée *et al.*, 1995).

La tirosina, además de proceder del alimento, puede derivar de fenilalanina e hidroxiprolina (Stoll *et al.*, 1998).

Glutamato y glutamina son AA muy importantes en el suministro de energía al epitelio intestinal (Stoll *et al.*, 1998) dependiendo su concentración del balance entre su síntesis y degradación. El intestino es el único órgano donde tanto el glutamato como la glutamina son precursores para la síntesis de prolina (Watford, 2008).

Bacterias en el lumen del intestino delgado usan activamente AA para la síntesis proteica y oxidación (Dai *et al.*, 2010), lo que puede explicar los valores negativos de ANP respecto a los AA ingeridos con la bellota (Stoll *et al.* 1998), o su utilización para síntesis de proteína intestinal. Rérat (1993) señaló la existencia de un "factor tiempo" en la relación entre el uso digestivo y metabólico de los nutrientes.

En conclusión, tras una semana de alimentación exclusivamente con bellota la ANP de AA se incrementó. Este hecho junto con que la relación ANP/AA ingeridos también se incrementó superando incluso el 100%, implicaría que los cerdos experimentan una adaptación a un recurso muy pobre en proteína, aumentando la eficiencia de utilización de la misma.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dai, Z.L., Zhang, J., Wu, G & Zhu, W.Y. 2010. *Amino Acids*. 39: 1201-1215.
- Duée, P.H., Darcy-Vrillon, B., Blanchier, F. & Morel, M.T. 1995. *Proc. Nutr. Soc.* 54: 83-94.
- González-Valero, L., Rodríguez-López, J.M., Lachica, M. & Fernández-Fígares, I. 2012. *J. Anim. Sci.* 90, 110-112.
- Lenis, N.P., Bikker, P., van der Meulen, J., van Diepen, J.T., Bakker, J.G. & Jongbloed, A.W. 1996. *J. Anim. Sci.* 74: 2687-2699.
- Nieto, R., Lara, L., Barea, R., García-Valverde, R., Aguinaga, M.A., Conde-Aguilera, J.A. & Aguilera, J.F. 2012. *J. Anim. Sci.* 90: 3809-3820.
- Nieto, R., Rivera, M., García, M.A. & Aguilera, J.F. 2002. *Livest. Prod. Sci.* 77: 227-239.
- Rérat, A. 1993. *Proc. Nutr. Soc.* 52: 335-344.
- Rodríguez-López, J.M., Lachica, M., González-Valero, L. & Fernández-Fígares, I. 2013. *J. Agr. Sci.* 151: 434-443.
- Stoll, B., Henry, J., Reeds, P.J., Yu, H., Jahoor, F. & Burrin, D.G. 1998. *J. Nutr.* 128: 606-614.
- Watford, M. 2008. *J. Nutr.* 138: 2003S-2007S.
- Yen, J.T., Kerr, B.J., Easter, R.E. & Parkhurst, A.M. 2004. *J. Anim. Sci.* 82:1079-1090.
- Yin, Y., Huang, R., Li, T., Ruan, Z., Xie, M., Deng, Z., Hou, Y. & Wu, G. 2010. *Amino Acids*. 39: 1581-1587.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2006-05937/GAN y AGL2009-08916, Ministerio de Economía y Competitividad.

**Tabla 1.** Aparición neta portal (ANP;  $\mu\text{mol}/\text{min}$ ) de aminoácidos (AA), AA ingeridos (mmol) durante el muestreo (6 h) y proporción de AA de la bellota que aparecen en la porta de cerdos Ibéricos (34 kg PV; n=6) alimentados con bellota en el primer (M-I) y segundo (M-II) muestreo.

	ANP		EEM <sup>1</sup>	P-valor	AA ingeridos	ANP/AA ingeridos	
	M-I	M-II				M-I	M-II
Arginina	-9,67	-13,1	3,858	0,524	3,79	-0,918	-1,244
Histidina	1,61	4,66	0,542	<0,001	1,17	0,497	1,437
Isoleucina	-1,08	-1,48	1,174	0,825	3,67	-0,106	-0,145
Leucina	3,91	6,86	1,064	0,056	4,79	0,294	0,515
Lisina	3,76	8,72	2,477	0,161	2,96	0,457	1,061
Metionina	-0,28	-0,36	0,570	0,925	1,46	-0,069	-0,089
Fenilalanina	3,03	5,00	0,712	0,054	2,32	0,470	0,775
Treonina	70,0	57,8	7,51	0,257	2,72	9,270	7,654
Triptófano	-1,74	-0,95	0,853	0,513	-	-	-
Valina	-0,77	6,42	2,789	0,073	4,11	-0,067	0,562
Ácido aspártico	2,07	1,35	0,845	0,547	15,7	0,048	0,031
Ácido glutámico	-17,9	-21,0	7,78	0,778	9,82	-0,656	-0,770
Alanina	34,8	75,7	6,31	<0,001	5,26	2,381	5,180
Asparagina	10,1	20,6	3,28	0,028	-	-	-
Cisteína	8,15	-0,93	3,402	0,187	1,86	1,574	-0,180
Citrulina	4,41	5,49	0,556	0,176	-	-	-
Glutamina	-9,05	-0,16	3,574	0,085	-	-	-
Glicina	43,1	63,3	7,49	0,064	5,76	2,693	3,956
Hidroxiprolina	1,82	4,07	0,568	0,007	-	-	-
Ornitina	20,8	30,3	2,97	0,028	-	-	-
Prolina	21,4	35,2	2,88	0,001	5,74	1,343	2,209
Serina	1,43	3,74	2,39	0,497	4,07	0,126	0,330
Taurina	4,02	5,34	0,908	0,310	-	-	-
Tirosina	2,21	4,41	0,776	0,050	1,45	0,550	1,098
AA total	206	299	32,4	0,048	76,7	0,825 <sup>2</sup>	1,099 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Error estándar de la media.

<sup>2</sup> Calculado exclusivamente en base a los AA de bellota analizados (Nieto *et al.*, 2002).

## NET PORTAL APPEARANCE OF AMINO ACIDS IN IBERIAN PIGS FEED ACORN

**ABSTRACT:** The aim of this study was to determine the net portal appearance (NPA) of amino acids (AA) in Iberian pigs fed with acorn from evergreen oak, and to ascertain if there is an effect of acorn feeding over the time. In addition, potential contribution of acorn AA to the NPA was determined. Six gilts were fitted with three catheters: in carotid artery and portal vein for blood sampling, and in ileal vein for para-aminohippuric acid (PAH) infusion to measure portal blood flow (PBF). Pigs were on metabolic cages and fed a commercial diet ( $2.5 \times$  metabolizable energy for maintenance ( $ME_m$ )) in two portions, at 09:00 (0.25) and 15:00 h (the remaining 0.75), during the whole study. The day previous to first sampling period, pigs (34 kg BW) were fed 2.4 kg of acorn (54.7 g CP and 18.9 MJ ME intakes). Blood was taken simultaneously from carotid artery and portal vein 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 0.25 of total daily acorn ration. Plasma was stored until PAH and AA analysis. Pigs continued having 2.4 kg of acorn in the same portions for one week after which the second sampling period was done following identical protocol. The PBF and NPA of AA were based on Fick principle. NPA of AA was greater (45%,  $P < 0.05$ ) in sampling period II compared to I. After one week of acorn feeding, NPA of AA increased as well as the ratio NPA/AA intake which could be an adaptation to a very poor protein source increasing the efficiency of protein utilization.

**Keywords:** amino acid, acorn, pig, portal-drained viscera.

## APARICIÓN NETA PORTAL DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES Y SU APORTACIÓN A LAS NECESIDADES ENERGÉTICAS DE CERDOS IBÉRICOS ALIMENTADOS CON BELLOTA

Lachica<sup>1</sup>, M., González-Valero<sup>1</sup>, L., Rodríguez-López<sup>2</sup>, J.M., Lara<sup>1</sup>, L. y Fernández-Figares<sup>1</sup>, I.

<sup>1</sup> Departamento de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Camino del Jueves s/n, Armilla, 18100 Granada. ifigares@eez.csic.es

<sup>2</sup> Department Sciences Agronomiques et Animales, Institut Polytechnique LaSalle Beauvais-Esitpa, 19 rue Pierre Waguet-BP 30313-F-60026 Beauvais Cedex, Francia.

### INTRODUCCIÓN

Los cerdos Ibéricos puros son criados en régimen intensivo (100 kg de peso vivo (PV)) con una dieta comercial que cambia drásticamente al pasar al periodo final de engorde en la dehesa -montanera-, donde pastan libremente consumiendo principalmente bellota (*Quercus suber* y *Q. ilex rotundifolia*). El cambio en la calidad y tipo de alimentación puede suponer un estrés nutricional ya que a pesar de que para ellos la bellota es muy sabrosa, su contenido proteico es muy bajo y su perfil de aminoácidos desequilibrado; contrariamente, es rica en almidón (resistente) y lípidos. El objetivo de este trabajo fue determinar la aparición neta portal (ANP) de ácidos grasos volátiles (AGV: ácido acético, propiónico y butírico) y si se afectaba por el periodo de adaptación a la bellota. Asimismo, determinar la aportación potencial de los AGV a la energía metabolizable de mantenimiento (EM<sub>m</sub>) de los animales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 6 cerdos Ibéricos puros alojados individualmente e implantados quirúrgicamente con 3 catéteres: en la arteria carótida y vena porta para el muestreo sanguíneo, y en la vena ileal para la infusión de ácido para-aminohipúrico (PAH) para la determinación del flujo sanguíneo portal (FSP; Rodríguez-López, *et al.*, 2013). Los animales eran alimentados con una dieta elaborada a partir de cebada y harina de soja (145 g proteína bruta (PB)/kg materia seca (MS) y 14,3 MJ EM/kg MS) a  $2,5 \times EM_m$  (422 kJ/kg<sup>0,75</sup> PV/d; Nieto *et al.*, 2012), a las 09:00 (0,25) y 15:00 h (el 0,75 restante). Cuando los animales se recuperaron totalmente de la cirugía, se realizaron 2 muestreos bajo idénticas condiciones. El día previo al primer muestreo (M-I), los cerdos (34 kg PV) fueron alimentados exclusivamente con 2,4 kg de bellota siguiendo el mismo esquema descrito, lo que correspondió a una ingesta de 1,15 kg, 18,86 MJ y 54,7 g de MS, EM y PB, respectivamente (Nieto *et al.*, 2002). Un segundo muestreo (M-II) fue realizado a los 8 días de iniciarse la alimentación con bellota. Las muestras se tomaban simultáneamente de la arteria carótida y vena porta (-5 min, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5 y 6 h tras ingerir 0,25 del total diario de la ración de bellota) en tubos heparinizados y el plasma se conservó a -20°C hasta su posterior análisis de PAH y AGV. La concentración plasmática de ácido acético, propiónico y butírico fue determinada mediante el método de Remesy y Demigne (1974) modificado. FSP fue determinado a partir de la concentración plasmática de PAH y el hematocrito. FSP y ANP de los AGV fueron calculados según el principio de Fick de diferencias arterio-venosas de concentración y la tasa de flujo (Zierler, 1961). La contribución de los AGV a la EM<sub>m</sub> fue calculada asumiendo valores para el acético, propiónico y butírico de 874, 1527 and 2180 kJ/mol, respectivamente (CRC, 1985), y para la EM<sub>m</sub> del cerdo Ibérico de 422 kJ/kg<sup>0,75</sup> PV/d (Nieto *et al.*, 2012). Los valores preprandiales fueron analizados mediante ANOVA-I utilizando PROC GLM (SAS Institute, 2002) para determinar el efecto del periodo de muestreo sobre el parámetro analizado. Los postprandiales lo fueron mediante ANOVA multivariante utilizando PROC MIXED (SAS Institute, 2002) para medidas repetidas. Los efectos principales en el modelo fueron el periodo de muestreo, tiempo de muestreo y su interacción. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando  $P < 0,05$ .



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 1. La ANP pre y postprandial de AGV fue similar. Michel y Rérat (1998) no encontraron un efecto significativo en el periodo de adaptación a la dieta sobre la absorción de AGV. Ácido acético, propiónico y butírico representaron, respectivamente, 0,52 vs. 0,71, 0,43 vs. 0,24 y 0,07 vs. 0,04 de la ANP de AGV durante el periodo preprandial, y 0,58 vs. 0,67, 0,38 vs. 0,27 y 0,04 vs. 0,06 durante las 6 h postprandiales, para el muestreo I vs. II. Yen *et al.* (1991) reportaron valores preprandiales, respectivamente, de 0,51, 0,35 y 0,11, y 0,43, 0,38 y 0,14 durante 12 h postprandiales. Una baja ANP de AGV fue también encontrada por Serena *et al.* (2007, 2009) al comparar cerdos alimentados con dietas con bajo vs. alto contenido de fibra. Al alimentar con dietas ricas en almidón resistente se incrementó la ANP de AGV (van der Meulen *et al.*, 1997), en especial el butírico, ya que la fermentación de almidón en el intestino grueso genera altos niveles del mismo. El butírico fue el único AGV cuya ANP fue significativamente diferente entre los dos muestreos.

**Tabla 1.** Valores medios pre y postprandiales de aparición neta portal (ANP), mmol/h, de ácidos grasos volátiles (AGV), producción de calor (PC) AGV, kJ/h, y su contribución potencial a la EM<sub>m</sub> en cerdos Ibéricos (34 kg PV; n=6) alimentados con bellotas a un nivel idéntico de ingesta en el primer (M-I) y segundo (M-II) muestreo.

	M-I	M-II	EEM <sup>c</sup>	P valor		
				Muestreo (M)	Tiempo (T)	M × T
ANP AGV (mmol/h)						
Preprandial <sup>a</sup>	20,0	26,7	2,838	0,2874		
Postprandial <sup>b</sup>	22,7	23,8	1,680	0,7667	0,8938	0,2301
Ácido acético						
Preprandial <sup>a</sup>	10,4	19,0	1,236	0,0132		
Postprandial <sup>b</sup>	13,2	16,0	1,149	0,2645	0,7865	0,2223
Ácido propiónico						
Preprandial <sup>a</sup>	8,66	6,38	1,911	0,5732		
Postprandial <sup>b</sup>	8,62	6,35	0,608	0,1106	0,9962	0,6507
Ácido butírico						
Preprandial <sup>a</sup>	1,31	1,15	0,091	0,1351		
Postprandial <sup>b</sup>	0,906	1,40	0,082	0,0247	0,9105	0,0394
PC AGV (kJ/h) <sup>f</sup>						
Preprandial <sup>a</sup>	24,5	29,2	3,764	0,5541		
Postprandial <sup>b</sup>	26,7	26,7	1,905	0,9869	0,9333	0,2428
Ácido acético						
Preprandial <sup>a</sup>	9,08	16,6	1,080	0,0132		
Postprandial <sup>b</sup>	11,5	14,0	1,004	0,2645	0,7865	0,2223
Ácido propiónico						
Preprandial <sup>a</sup>	13,2	9,75	2,918	0,5732		
Postprandial <sup>b</sup>	13,2	9,69	0,928	0,1106	0,9962	0,6507
Ácido butírico						
Preprandial <sup>a</sup>	2,16	2,85	0,199	0,1351		
Postprandial <sup>b</sup>	1,98	3,04	0,179	0,0247	0,9105	0,0394
PC AGV/EM <sub>m</sub>						
Preprandial <sup>a</sup>	0,104	0,113				
Postprandial <sup>b</sup>	0,113	0,104				

<sup>a</sup>Valores medios de 1 medida preprandial (5 min antes de la ingestión).

<sup>b</sup>Valores medios de 10 medidas postprandiales (0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5 and 6 h después de la ingestión).

<sup>c</sup>Error estándar de la media.

La energía aportada por la absorción de AGV fue mayor en dietas con hidratos de carbono de baja digestibilidad (Rérat, 1978, 1981). La contribución potencial de los AGV a la EM<sub>m</sub> fue similar al valor (0,12) obtenido por Giusi-Perier *et al.* (1989) con una dieta de bajo contenido en celulosa. García-Valverde *et al.* (2007) obtuvieron que la proporción de energía aportada por bellotas digeridas en el intestino grueso de cerdos Ibéricos fue sólo 0,12 y, por tanto, la

mayoría de la EM venía de nutrientes digeridos y absorbidos precalmente. La contribución postprandial de los AGV a la EM<sub>m</sub> fue de 0,16 con dietas bajas en fibra y 0,40 utilizando dietas ricas en fibra de alta solubilidad (Serena *et al.*, 2009). Yen *et al.* (1991) encontraron una contribución de 0,20 a la ME<sub>m</sub>. Yen *et al.* (1991, 2004) obtuvieron prácticamente idénticos valores (0,238 y 0,242) para los AGV absorbidos para cubrir las necesidades energéticas en cerdos durante los periodos pre y 12 h postprandial. Ambos estudios concuerdan con nuestros resultados donde la contribución potencial pre y postprandial de los AGV a la EM<sub>m</sub> fue muy similar independientemente del periodo de muestreo. En los cerdos Ibéricos alimentados exclusivamente con bellota, la ANP de AGV no se ve afectada por el periodo de adaptación a la ingestión de ésta. La contribución potencial de los AGV a la EM<sub>m</sub> es relativamente baja, indicando que otros nutrientes son los responsables de cubrir las necesidades de EM<sub>m</sub>.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRC. 1985. 65th ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- García-Valverde, R., *et al.* 2007. *Livest. Sci.* 112: 63-77.
- Giusi-Perier, A., *et al.* 1989. *J. Anim. Sci.* 67: 386-402.
- Michel, P. & Rérat, A. 1998. *Reprod. Nutr. Dev.* 38: 49-68.
- Nieto, R., *et al.* 2012. *J. Anim. Sci.* 90: 3809-3820.
- Nieto, R., *et al.* 2002. *Livest. Prod. Sci.* 77: 227-239.
- Remesy, C. & Demigne, C. 1974. *Biochem. J.* 141: 85-91.
- Rérat, A. 1978. *J. Anim. Sci.* 46: 1808-1837.
- Rérat, A., 1981. *Reprod. Nutr. Dev.* 21: 815-849.
- Rodríguez-López, J.M., *et al.* 2013. *J. Agr. Sci.* 151: 434-443.
- Serena, A., *et al.* 2007. *Livest. Sci.* 109: 118-121.
- Serena, A., *et al.* 2009. *J. Anim. Sci.* 87: 136-147.
- SAS Institute. 2002. SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU.
- van der Meulen, J., *et al.* 1997. *J. Anim. Sci.* 75: 2697-2704.
- Yen, J.T., *et al.* 1991. *J. Anim. Sci.* 69: 2001-2012.
- Yen, J.T., *et al.* 2004. *J. Anim. Sci.* 82: 1740-1755.
- Zierler, K.L. 1961. *J. Clin. Invest.* 40: 2111-2125.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2006-05937/GAN y AGL2009-08916, Ministerio de Economía y Competitividad.

### NET PORTAL APPEARANCE OF VOLATILE FATTY ACIDS AND ITS CONTRIBUTION TO ENERGY REQUIREMENTS FOR MAINTENANCE IN IBERIAN PIGS FEED ACORN

**ABSTRACT:** The aim of this study was to determine the net portal appearance (NPA) of volatile fatty acids (VFA) in Iberian pigs fed with acorn from evergreen oak, and to ascertain if there is an effect of acorn feeding over the time. In addition, potential contribution to the energy budget of the animal was calculated. Six gilts were fitted with three catheters: in carotid artery and portal vein for blood sampling, and in ileal vein for para-aminohippuric acid (PAH) infusion to measure portal blood flow (PBF). Pigs were on metabolic cages and fed a commercial diet (2.5 × metabolizable energy for maintenance (ME<sub>m</sub>)) in two portions, at 09:00 (0.25) and 15:00 h (the remaining 0.75), during the whole study. The day previous to first sampling period, pigs (34 kg BW) were fed 2.4 kg of acorn (54.7 g CP and 18.86 MJ ME intakes). Blood was taken simultaneously from carotid artery and portal vein 5 min before and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 0.25 of total daily acorn ration. Plasma was stored until PAH and VFA (acetic, propionic and butyric acids) analysis. Pigs continued consuming 2.4 kg of acorn in the same portions for one week after which the second sampling period was done following identical protocol. The PBF and NPA of VFA were based on Fick principle. Postprandial NPA of VFA was only slightly greater (5%, P>0.1) in sampling period II compared to I. Potential contribution of VFA to ME<sub>m</sub> was almost identical in both sampling periods representing 0.109 (as average). Pigs adapted for one week to an acorn diet had no increase in the NPA of VFA. Apparently, nutrients other than VFA were responsible of most of the ME<sub>m</sub>.

**Keywords:** acorn, pig, portal-drained viscera, volatile fatty acids.

## **INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN PREVIA AL DESTETE SOBRE LOS RENDIMIENTOS TÉCNICO-ECONÓMICOS DURANTE LA LACTACIÓN Y LA TRANSICIÓN AL CEBO INTENSIVO EN VACUNO DE CARNE**

Casasús I.<sup>1</sup>, Yuste S.<sup>2</sup>, de Vega A.<sup>2</sup>, Ferrer J.<sup>1</sup>, Fondevila M.<sup>2</sup>, Blanco M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CITA de Aragón - Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. <sup>2</sup> Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza - Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. [icasasus@aragon.es](mailto:icasasus@aragon.es)

### **INTRODUCCIÓN**

La provisión de alimentos sólidos a los terneros en la fase de lactación es una estrategia utilizada para mejorar su crecimiento y bienestar, así como para favorecer una adecuada transición a las dietas que recibirán tras el destete. El tipo de suplemento más adecuado (forraje o pienso) dependerá de los rendimientos esperados, tanto en relación al crecimiento de los animales como al desarrollo de la capacidad fermentativa de los pre-estómagos (Berends et al., 2014), y también del precio relativo de los distintos alimentos (Mollenhorst et al., 2016). Aunque estos aspectos han sido ampliamente estudiados en vacuno de leche (Khan et al., 2011), los trabajos en vacuno de carne son más escasos (Blanco et al., 2008). Por ello, el objetivo de este ensayo fue determinar el efecto de la suplementación durante la lactación sobre los rendimientos técnicos y económicos de terneras de razas cárnica durante la lactación y la adaptación al cebo intensivo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 30 terneras nacidas en otoño de 2015 en la Finca Experimental “La Garcipollera” (CITA-Aragón), en un diseño factorial 2x3, con efectos de la raza (Parda de Montaña, PM vs. Pirenaica, PIR) y la suplementación durante la lactación (sin suplementar vs. con pienso vs. con heno). Durante la lactación las vacas recibían una dieta que cubría sus necesidades de producción. La suplementación a las terneras se aportó desde los 2 meses de edad hasta el destete a los 5 meses. Tras el destete, las terneras se alimentaron con pienso a voluntad y paja durante 1 mes (transición).

Durante la lactación, las terneras se alojaron en corrales (2 réplicas por tipo de alimentación y raza) con cama de viruta de madera, con acceso a la madre durante 30 min 2 veces al día. Durante la transición, todas las terneras de una misma raza se alojaron en un único corral. El consumo de leche se estimó mediante doble pesada de las terneras a los 2, 3, 4 y 5 meses de lactación. Se tomaron muestras semanales de los alimentos para determinar su contenido en materia seca (MS) y su valor nutritivo. Se registró el consumo diario de heno (8,1% PB y 9,4 MJ EM/kg) y de pienso de iniciación (16,3% PB y 13,7 MJ EM/kg) por corral durante la fase de lactación. El consumo diario de pienso de cebo (15,5% PB y 13,7 MJ EM/kg) durante la transición se registró individualmente mediante un sistema automático (ALPRO, DeLaval). Las vacas y terneras se pesaron quincenalmente desde el parto, y su ganancia media diaria (GMD) se estimó por regresión. El índice de conversión (IC) en la transición se estimó como consumo diario de pienso/GMD.

Para el análisis económico se realizó un análisis de presupuestos parciales considerando los aspectos diferentes entre tratamientos: costes de los distintos alimentos y los precios de venta de las terneras en función de su peso a los 5 y 6 meses de vida, según los datos reales de mercado. El margen económico en lactación se calculó como [precio de venta 5 meses – coste de suplementación], y en la transición como [precio de venta 6 meses – (coste de compra 5 meses + coste de alimentación)].

Los pesos, crecimientos y consumos de alimentos en cada fase se analizaron mediante un modelo mixto con medidas repetidas (PROC MIXED, SAS), considerando la raza, la dieta, su interacción y el mes o la fase como efectos fijos, y la ternera o la réplica en el caso del consumo de alimentos sólidos en lactación como efecto aleatorio. El índice de conversión y los parámetros económicos se analizaron mediante ANOVA (PROC GLM). Se presentan las medias mínimo cuadráticas y el error estándar de la media (e.e.m.).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los efectos principales se presentan por separado, ya que no se observaron interacciones entre tipo de alimentación en lactación y raza para ninguna de las variables estudiadas. Ni la raza ni el tipo de suplementación afectaron a la variación de peso de las vacas durante

la lactación (-0,071±0,144 kg/d), al crecimiento de las crías en los 2 primeros meses de vida (0,913±0,180 kg/d) o a su peso a los 2 meses (si bien tendió a ser mayor en las PM). La suplementación en lactación influyó en el crecimiento en ambas fases (Tabla 1). Durante la lactación, la GMD fue superior en las terneras que recibieron pienso, intermedia en las que recibieron heno, y menor en las no suplementadas ( $P<0,001$ ). Estas diferencias persistieron en la fase de transición, aunque fueron más moderadas. Consecuentemente, los pesos al destete y al final de la transición fueron diferentes en el mismo orden ( $P<0,001$ ).

**Tabla 1.** Peso y crecimiento de las terneras durante las fases de lactación y transición, en función de la suplementación durante la lactación y de la raza.

	Suplementación (S)			Raza (R)		e.e.m.	Significación	
	Sin	Heno	Pienso	PM	PIR		S	R
Peso, kg								
Inicial (2 meses)	87 <sup>x</sup>	91 <sup>x</sup>	92 <sup>x</sup>	96 <sup>x</sup>	83 <sup>x</sup>	1,1	NS	0,09
destete (5 meses)	138 <sup>c,y</sup>	178 <sup>b,y</sup>	196 <sup>a,y</sup>	181 <sup>s,y</sup>	159 <sup>t,y</sup>	1,2	***	**
final (6 meses)	168 <sup>c,z</sup>	211 <sup>b,z</sup>	236 <sup>a,z</sup>	218 <sup>s,z</sup>	192 <sup>t,z</sup>	1,5	***	**
GMD, kg/d								
Lactación	0,582 <sup>c,y</sup>	0,988 <sup>b</sup>	1,184 <sup>a</sup>	0,966 <sup>s,y</sup>	0,870 <sup>t,y</sup>	0,011	***	***
Transición	0,961 <sup>b,x</sup>	1,067 <sup>ab</sup>	1,275 <sup>a</sup>	1,156 <sup>x</sup>	1,045 <sup>x</sup>	0,029	**	0,09

PM: Parda de Montaña; PIR: Pirenaica. \*\*\*:  $P<0,001$ , \*\*:  $P<0,01$ , \*:  $P<0,05$ . En una misma fila <sup>a,b,c</sup> indican diferencias entre tipos de suplementación y <sup>s,t</sup> entre razas; en una misma columna <sup>x,y,z</sup> denotan diferencias entre tiempos ( $P<0,05$ ).

El consumo de leche no dependió de la suplementación (Tabla 2), y sólo se relacionó con el crecimiento en lactación en las terneras sin suplementar ( $r=0,62$ ,  $P<0,001$ ). La ingestión de MS de heno y pienso durante la lactación fue similar. Sin embargo, la ingestión de energía y proteína procedentes de los alimentos sólidos fue menor con heno que con pienso (12,4 vs. 19,7 MJ EM/d, e.e.m. 1,39,  $P<0,05$  y 107 vs. 235 g PB/d, e.e.m.=15,3,  $P<0,01$ ), lo que motivó un menor crecimiento. En la transición, las terneras sin suplemento previo ingirieron menos pienso de cebo que las que habían sido suplementadas ( $P<0,001$ ). El IC fue superior en las terneras que habían recibido heno, debido quizá al distinto desarrollo proporcional de las vísceras, lo que afectaría a su eficiencia de utilización de la energía (Mader et al., 2009).

**Tabla 2.** Consumo de alimentos de las terneras durante las fases de lactación y transición, en función de la suplementación durante la lactación y de la raza.

	Suplementación (S)			e.e.m.	Raza (R)		e.e.m.	Significación	
	Sin	Heno	Pienso		PM	PIR		S	R
Lactación									
Leche, kg/d	6,07	6,68	6,06	0,370	7,03 <sup>s</sup>	5,87 <sup>t</sup>	0,302	NS	*
Sólidos, kg MS/d	-	1,33	1,44	0,122	1,58	1,19	0,122	NS	0,07
Transición									
Pienso, kg MS/d	2,77 <sup>b</sup>	3,82 <sup>a</sup>	3,88 <sup>a</sup>	0,194	3,81 <sup>s</sup>	3,16 <sup>t</sup>	0,158	***	**
IC	2,95 <sup>b</sup>	3,59 <sup>a</sup>	3,02 <sup>b</sup>	0,235	3,29	3,08	0,157	**	NS

El coste de la alimentación durante la lactación difirió según la suplementación aportada, pero también lo hizo el precio de venta al destete, generando un mayor margen económico las terneras suplementadas con heno y pienso que las no suplementadas (Tabla 3), tal y como se ha observado en terneras de leche (Mollenhorst et al., 2016) y en terneros de carne destetados a una edad similar (Blanco et al., 2008). Este manejo sería el más adecuado en las granjas de vacas nodrizas con los precios considerados. Durante la transición, los costes de alimentación fueron menores en las terneras sin suplementación previa, por su menor consumo de pienso, mientras que el margen económico fue mayor con la suplementación con pienso, intermedio sin suplemento y menor con la suplementación de heno por el peor IC de los animales. Por ello, esta última opción tendría menor interés para los cebaderos.

**Tabla 3.** Costes, precio de venta y margen económico (€) generado en las fases de lactación y transición, en función de la suplementación durante la lactación y de la raza.

	Suplementación (S)			Raza (R)			Significación		
	Sin	Heno	Pienso	e.e.m.	PM	PIR	e.e.m.	S	R
<b>Lactación</b>									
Coste alimentación	0 <sup>c</sup>	18 <sup>b</sup>	54 <sup>a</sup>	3,4	27	21	2,3	***	NS
Precio venta	389 <sup>c</sup>	456 <sup>b</sup>	488 <sup>a</sup>	7,9	464 <sup>s</sup>	425 <sup>t</sup>	5,3	**	***
Margen económico	389 <sup>d</sup>	438 <sup>a</sup>	434 <sup>a</sup>	8,4	437 <sup>s</sup>	404 <sup>t</sup>	5,6	**	*
<b>Transición</b>									
Coste alimentación	29 <sup>a</sup>	41 <sup>b</sup>	42 <sup>b</sup>	2,0	41 <sup>s</sup>	34 <sup>t</sup>	1,3	**	*
Precio venta	439 <sup>c</sup>	512 <sup>b</sup>	554 <sup>a</sup>	10,0	524 <sup>s</sup>	479 <sup>t</sup>	6,7	**	***
Margen económico	20 <sup>b</sup>	14 <sup>c</sup>	25 <sup>a</sup>	1,4	19	20	1,0	**	NS

Con respecto al efecto de la raza, las terneras PM presentaron mayores ganancias durante la lactación (Tabla 1), ligadas al mayor consumo de leche materna (Tabla 2). La tendencia al mayor consumo de sólidos por las PM se debió a su mayor tamaño y peso, ya que cuando la ingestión se expresó en relación al peso metabólico no se observaron diferencias (36,6 vs. 29,3 g MS/kg PV<sup>0,75</sup>/d, e.e.m.=2,78, NS). Igualmente ocurrió con el consumo de pienso de cebo durante la transición (71,9 vs. 65,7 g MS/kg PV<sup>0,75</sup>/d, e.e.m.=2,47, P=0,08). En esta segunda fase, el IC fue similar entre razas (Tabla 2). Al final de la lactación, el mayor peso al destete de las terneras PM originó un mayor precio de venta y mejor margen económico (Tabla 3). Sin embargo, en la transición los mayores costes de compra y alimentación de las terneras PM contrarrestaron su mayor precio de venta, generando un margen similar.

En conclusión, con las razas descritas y en la actual coyuntura de precios, suplementar a los terneros lactantes permite mejorar sus crecimientos en lactación y el beneficio económico al destete, aunque considerando también los rendimientos técnico-económicos en la transición al cebo parece más interesante la suplementación previa con pienso que con heno.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Berends H. et al. 2014. J Dairy Sci 97: 6475-84
- Blanco M. et al. 2008. Animal 2: 779-89
- Khan M.A. et al. 2011. J Dairy Sci 94: 1071-81
- Mader C.J. et al. 2009. J Anim Sci 87: 1548-57
- Mollenhorst H. et al. 2016. J Dairy Sci 99: 2180-89

**Agradecimientos:** Al personal técnico del CITA. Financiación procedente de Gobierno de Aragón, INIA-FEDER (RZP2012-02), MINECO (AGL2013-46820P), INIA-FSE (Contrato de M. Blanco) y MECED (beca FPU de S. Yuste, Ref.15/01960).

#### EFFECT OF PRE-WEANING SUPPLEMENTATION OF BEEF CALVES ON TECHNICAL AND ECONOMIC PERFORMANCE DURING LACTATION AND TRANSITION TO INTENSIVE FATTENING

**ABSTRACT:** This study aimed to assess the optimal feeding strategies in the pre-weaning period for an adequate adaptation of beef calves to the high-concentrate diets used during fattening. Thirty calves were used, combining two beef breeds (Parda de Montaña, PM and Pirenaica, PIR) and three diets (milk only, MO; milk + hay, MH; milk + concentrate, MC; supplements offered *ad libitum*) from 2 mo until weaning at 5 mo (Lactation). Then calves received *ad libitum* concentrates + straw for 1 mo (Transition). During lactation, milk intake did not differ among diets. Solid DM intake was similar with both supplements, but gains and weights were MC>MH>MO. During transition, concentrate intake was lower in the lighter MO calves, but feed:gain was the highest in MH calves. Economic margin during lactation was higher for the supplemented animals, but at the end of transition they ranked MC>MO>MH. Concerning breed, gains during lactation were higher in PM calves due to their higher milk intake, which provided a better economic margin in this phase. In the transition, concentrate intake was higher in PM, but economic margin was similar. Providing supplements prior to weaning improves performance during lactation, but considering also performance during the transition phase, concentrates are a more interesting option under the current market prices.

**Keywords:** beef calves, concentrate/forage supplementation, lactation, transition.

## **EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN OFRECIDA ANTES DEL DESTETE SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y LA CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS SANGUÍNEOS EN TERNEROS DE CARNE**

Yuste, S.<sup>1</sup>, Amanzougarene, Z.<sup>1</sup>, Blanco, M.<sup>2</sup>, de Vega, A.<sup>1</sup>, Fondevila, M.<sup>1</sup> y Casasús, I.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza-Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2). Facultad de Veterinaria, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España. <sup>2</sup>CITA - Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. [syuste@unizar.es](mailto:syuste@unizar.es)

### **INTRODUCCIÓN**

El consumo de alimentos sólidos (forrajes o pienso) durante la lactación es vital para alcanzar una correcta transición de pre-rumiante a rumiante adulto (Coverdale et al., 2004). La naturaleza de estos alimentos juega un papel importante en el desarrollo del rumen, provocando una mejor adaptación del animal a la posterior dieta de cebo, con altos niveles de carbohidratos rápidamente fermentables, y ayudando a prevenir la posterior aparición de problemas de acidosis (Khan et al., 2011). El objetivo de este experimento fue determinar el manejo nutricional más adecuado durante la lactación para conseguir una buena adaptación al posterior período de cebo en ganado vacuno de carne.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 30 terneras (15 de raza Parda de Montaña (PM) y 15 de raza Pirenaica (PIR)) nacidas en otoño en la Finca Experimental 'La Garcipollera' (CITA), y separadas al nacimiento en tres lotes homogéneos de 10 animales (cinco de cada raza) cada uno. Se aplicó un diseño factorial de dos razas (PM y PIR) y tres dietas pre-destete (sin suplementar vs. con pienso vs. con heno de pradera). El ensayo tuvo una duración de seis meses. Desde el nacimiento y hasta el segundo mes, a todas las terneras se les aplicó el mismo manejo; desde el tercer mes de vida se ofrecieron los distintos suplementos hasta el momento del destete (mes 5). Durante la lactación, las terneras se alojaron en corrales (con dos réplicas por tipo de alimentación y raza) con cama de viruta de madera, y tuvieron acceso a las madres dos veces al día durante 30 minutos. Los suplementos ofrecidos fueron heno de pradera (*Festuca elatior*, *Dactylis glomerata*, *Trifolium repens*, *Lolium perenne* y *Poa pratensis* como principales especies) (62% de fibra neutro detergente (FND) y 8,1% de proteína bruta (PB)), y pienso de iniciación (31,2 % de FND y 16,3 % de PB), ambos ofrecidos a voluntad, y cuya ingestión por corral se registró diariamente. Durante el sexto mes (período de transición), todas las terneras de la misma raza se alojaron en un único corral en condiciones de cebo, con pienso de crecimiento (34% de FND y 15,5 % de PB) y paja *ad libitum*. La ingestión de pienso se registró, individualmente, con un sistema automático (ALPRO, DeLaval).

Un día antes del destete, y tres semanas después de comenzar la fase de transición, se procedió a la extracción de líquido ruminal 2 h tras la oferta de alimento (2 h tras la primera tetada en lactación, y aproximadamente 2 h después de la primera toma de comida de la mañana en transición). Tras el filtrado se midió el pH con un pH-metro portátil, y se tomaron sub-muestras por duplicado para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV), ácido láctico y amoníaco (NH<sub>3</sub>). A partir del segundo mes, se tomaron muestras de sangre mensuales para determinar los niveles plasmáticos de metabolitos relacionados con el estado nutricional. Mediante un analizador automático (GernonStar) se determinaron las concentraciones de glucosa, β-hidroxibutirato (β-OH-B) y urea. A efectos de esta comunicación, se consideraron sólo las concentraciones de los metabolitos obtenidos a los 5 y 6 meses, coincidiendo con los muestreos de líquido ruminal. La concentración de metabolitos plasmáticos, y los parámetros de fermentación ruminal, se analizaron con el procedimiento GLM (SAS, 9.2) considerando la dieta, la raza, la interacción de ambas, y el día (final de lactación o tres semanas después de comenzar la transición) y sus interacciones como efectos fijos. En todos los casos el efecto animal se consideró aleatorio. Probabilidades menores de 0,05 y 0,10 se consideraron significativas o con tendencia a la significación, respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los efectos de la suplementación sobre los rendimientos de los animales se presentan en Casasús et al. (2017). El efecto de la raza o de su interacción con otros factores sobre la fermentación ruminal y la concentración de metabolitos sanguíneos no fue significativo, por lo que los valores que se ofrecen en las Tablas son los medios de las dos razas.

Los parámetros de fermentación ruminal se vieron afectados por la interacción dieta x día de muestreo (Tabla 1). La suplementación afectó a la mayoría de los parámetros de fermentación ruminal medidos al final de la lactación, aunque no afectó al pH, que presentó un valor promedio de 7,44. Sin embargo, durante la transición sí se vio afectado ( $P<0,01$ ). Las terneras que recibieron pienso durante la lactación presentaron un pH en el período de transición similar al registrado antes del destete, a diferencia de las no suplementadas y de las que recibieron heno, cuyo pH ruminal en la transición fue menor que al final de la lactación. Esto podría indicar una mejor adaptación al cebo posterior cuando se suplementa con pienso durante la lactación. Los animales que no recibieron suplementación presentaron una mayor concentración de  $\text{NH}_3$  durante la lactación ( $P<0,001$ ), que disminuyó en la fase de transición hasta valores similares a los de las terneras de los otros grupos ( $P=0,68$ ). Esta mayor concentración durante la lactación podría ser indicativa de la ausencia de bacterias utilizadoras de  $\text{NH}_3$  (Beharka et al., 1998), y por tanto de un mayor reciclado de urea al rumen. Como era de esperar, cuando se suplementó con pienso durante la lactación se encontró una mayor concentración al final de la misma de ácido láctico, una mayor proporción de propiónico, y una menor relación Acético:Propiónico. En la transición, la concentración de AGV fue menor en las terneras que recibieron pienso durante la lactación ( $P=0,02$ ), debido probablemente a un mayor grado de desarrollo del epitelio ruminal que favorecería su absorción.

**Tabla 1.** Efecto de la suplementación recibida antes del destete (S), y del momento del muestreo (fin de la lactación o durante la transición; d), sobre el pH, las concentraciones de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), ácido láctico y ácidos grasos volátiles (AGV), las proporciones molares de acético (A), propiónico (P) y butírico, y la ratio A:P en el rumen en terneras de carne.

		S			DRE <sup>1</sup>	P-valor		
		Sin	Heno	Pienso		S	d	S x d
pH	Lactación	7,62 <sup>x</sup>	7,58 <sup>x</sup>	7,16	0,610	0,524	0,001	0,005
	Transición	6,43 <sup>b,y</sup>	6,83 <sup>ab,y</sup>	7,30 <sup>a</sup>				
$\text{NH}_3$ , mg/l	Lactación	105 <sup>a,x</sup>	35,7 <sup>b</sup>	21,1 <sup>b</sup>	22,69	0,001	0,001	0,001
	Transición	32,2 <sup>y</sup>	31,0	24,1				
Ác. Láctico, mmol/l	Lactación	0,130 <sup>b,y</sup>	0,273 <sup>b,y</sup>	0,813 <sup>a,x</sup>	0,1925	0,001	0,001	0,001
	Transición	0,584 <sup>x</sup>	0,646 <sup>x</sup>	0,563 <sup>y</sup>				
AGV totales, mmol/l	Lactación	30,6 <sup>b,x</sup>	65,0 <sup>a</sup>	65,5 <sup>a,x</sup>	21,07	0,012	0,70	0,001
	Transición	60,5 <sup>a,y</sup>	66,8 <sup>a</sup>	40,4 <sup>b,y</sup>				
Acético,%	Lactación	77,4 <sup>a,x</sup>	65,5 <sup>b,x</sup>	62,3 <sup>b,x</sup>	8,38	0,003	0,001	0,036
	Transición	47,6 <sup>y</sup>	48,8 <sup>y</sup>	43,7 <sup>y</sup>				
Propiónico,%	Lactación	13,0 <sup>b,x</sup>	17,7 <sup>b,x</sup>	29,5 <sup>a,x</sup>	6,67	0,001	0,001	0,003
	Transición	40,3 <sup>y</sup>	40,7 <sup>y</sup>	41,7 <sup>y</sup>				
Butírico,%	Lactación	5,10 <sup>b</sup>	13,82 <sup>a,x</sup>	5,28 <sup>b,x</sup>	2,381	0,001	0,14	0,001
	Transición	6,61 <sup>b</sup>	5,84 <sup>b,y</sup>	8,99 <sup>a,y</sup>				
Ratio A:P	Lactación	5,35 <sup>a,x</sup>	3,97 <sup>b,x</sup>	2,70 <sup>c,x</sup>	0,988	0,001	0,001	0,003
	Transición	1,25 <sup>y</sup>	1,34 <sup>y</sup>	1,10 <sup>y</sup>				

<sup>1</sup> Desviación residual estándar de la media del análisis de varianza. En una misma fila <sup>a,b,c</sup> indican diferencias entre dietas ( $P<0,05$ ); en una misma columna y variable <sup>x,y</sup> denotan diferencias entre muestreos ( $P<0,05$ ).

Las concentraciones de metabolitos en plasma se presentan en la Tabla 2. La dieta no afectó a la concentración plasmática de glucosa y  $\beta$ -OH-B, que sí se vio afectada por el día de muestreo, siguiendo una pauta fisiológica con una disminución de glucosa plasmática en transición con respecto a lactación (113,7 vs. 103,9 mg/dl,  $P<0,01$ ) y un aumento de los valores de  $\beta$ -OH-B (0,09 vs. 0,12,  $P<0,001$ ). Un cambio en la fuente de energía utilizada por

el animal (metabolismo glucolítico durante la lactación y glucogénico durante la transición) es la causa probable de estas diferencias (Baldwin et al., 2004). La concentración de urea se vio afectada por la interacción entre la suplementación durante la lactación y el día de muestreo ( $P < 0,001$ ). Las terneras suplementadas con heno presentaron la menor concentración de urea durante la lactación, mientras que las terneras no suplementadas durante la lactación presentaron la menor concentración de urea en la transición. Los mayores valores al destete en las terneras que consumieron solo leche o leche y pienso son compatibles con un mayor reciclaje de urea en las primeras, debido a la ausencia de bacterias que capturen el  $\text{NH}_3$  y lo desvíen a las heces en forma de proteína microbiana, y a un mayor consumo de proteína en las segundas (Rodríguez-Sánchez et al., 2015). En conclusión, suplementar con pienso a las terneras de razas cárnicas durante la lactación permite un mayor desarrollo ruminal y una mejor capacidad de adaptación a las dietas de cebo.

**Tabla 2.** Efecto de la suplementación recibida antes del destete (S) y del momento del muestreo (fin de la lactación o durante la transición; d) sobre las concentraciones sanguíneas de glucosa,  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ -OH-B) y urea en terneras de carne.

		S			DRE <sup>1</sup>	P-valor		
		Sin	Heno	Pienso		S	d	S x d
Glucosa, mg/dl	Lactación	118 <sup>x</sup>	108	114 <sup>x</sup>	13,0	0,314	0,006	0,573
	Transición	106 <sup>y</sup>	104	102 <sup>y</sup>				
$\beta$ -OH-B, mmol/l	Lactación	0,084 <sup>y</sup>	0,101	0,092 <sup>y</sup>	0,0325	0,483	0,001	0,195
	Transición	0,121 <sup>x</sup>	0,110	0,137 <sup>x</sup>				
Urea, mg/dl	Lactación	24,0 <sup>a,x</sup>	17,7 <sup>b,y</sup>	22,7 <sup>a</sup>	3,95	0,006	0,382	0,001
	Transición	16,8 <sup>b,y</sup>	24,4 <sup>a,x</sup>	25,9 <sup>a</sup>				

<sup>1</sup> Desviación residual estándar de la media del análisis de varianza. En una misma fila <sup>a,b</sup> indican diferencias entre dietas ( $P < 0,05$ ); en una misma columna y variable <sup>x,y</sup> denotan diferencias entre muestreos ( $P < 0,05$ ).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baldwin, R. L. et al. 2004. J. Dairy Sci. 87: E55-E65
- Beharka, A. A. et al. 1998. J. Dairy Sci 81: 1946-55
- Casasús, I. et al. 2017. XVII Jornadas de Producción Animal AIDA
- Coverdale, J. A. et al. 2004. J. Dairy Sci. 87: 2554-62
- Khan, M. A. et al. 2011. J Dairy Sci. 94: 1071-81
- Rodríguez-Sánchez, J. A. et al. 2015. J Anim Sci. 93: 3871-85

**Agradecimientos:** Al personal técnico del CITA. Financiación procedente de Gobierno de Aragón, INIA-FEDER (RZP2012-02), MINECO (AGL2013-46820P), INIA-FSE (Contrato de M. Blanco) y MECED (beca FPU de S. Yuste, Ref.15/01960).

## EFFECT OF PREWEANING DIET ON RUMEN FERMENTATION AND BLOOD METABOLITES IN BEEF CALVES

**ABSTRACT:** Thirty calves of two breeds (Parda de Montaña and Pirenaica) were used to assess the most suitable feeding strategy (milk only, milk + grass hay or milk + concentrate) during lactation to achieve an adequate adaptation of beef calves to the fattening period, when a high-concentrate diet is offered. Rumen fermentation parameters were affected by supplementation, resulting in a more developed rumen when concentrate was offered. Glucose and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations in plasma were not influenced by diet but showed a shift in metabolic pathways and fuel used by the animal, except for animals supplemented with grass hay. Supplementing with concentrates during lactation seems a recommendable practice since it improves rumen fermentation with a carry-over effect during transition when cattle will be fed a high-concentrate diet.

**Key words:** beef calves, solid supplementation, transition, rumen fermentation



## **EL SISTEMA DE LACTANCIA AFECTA A LA EFICIENCIA DE ALIMENTACIÓN Y AL PERFIL METABOLÓMICO DEL PLASMA DE CORDEROS EN LA ETAPA DE CEBO**

Santos<sup>1</sup>, A., Giraldez<sup>1</sup>, F.J., Trevisi<sup>2</sup>, E., Lucini<sup>3</sup>, L., Valdés<sup>1</sup>, C., Frutos<sup>1</sup>, J., Alonso<sup>1</sup>, M. y Andrés<sup>1</sup>, S.

<sup>1</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León). Finca Marzanas E-24346, Grulleros, León, España. <sup>2</sup>Faculty of Agriculture, Food and Environmental Science – Institute of Zootechnics, UCSC. Via Emilia Parmense 84, 29122, Piacenza, Italia. <sup>3</sup>Research Centre for Proteomics and Nutrigenomics, UCSC. Via Emilia Parmense 84, 29122, Piacenza, Italia. [alba.santos@igm.csic.es](mailto:alba.santos@igm.csic.es)

### **INTRODUCCIÓN**

Por razones económicas, pero también debido a los recursos limitados de nuestro planeta, hoy en día es imprescindible mejorar la eficiencia de alimentación de los animales de abasto. Para ello, es necesario comprender sobre qué factores se puede actuar para inducir cambios que permitan mejorar la eficiencia de alimentación. En este sentido, diversos estudios realizados en el periodo de lactancia han puesto de manifiesto que en este momento es posible programar cambios a largo plazo en el metabolismo de los animales (Ruchat et al., 2014). Sin embargo, en estos estudios no se han llegado a esclarecer totalmente ni los mecanismos moleculares subyacentes ni el papel que la alimentación desempeña dentro de este marco, por lo que es necesario un conocimiento más profundo que permita desarrollar estrategias aplicables en las primeras etapas de la vida dirigidas a mejorar la eficiencia de producción de los animales en fases posteriores. Bajo este punto de vista, el perfil metabolómico puede ser una herramienta clave para identificar rutas metabólicas modificadas por la alimentación en las primeras etapas de la vida (Carrillo et al., 2016). Teniendo en cuenta lo expuesto, el presente estudio se realizó para estudiar, en corderos, el efecto del sistema de lactancia sobre la eficiencia productiva y el perfil metabolómico plasmático en la etapa postdestete, concretamente en la etapa de cebo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

En este estudio se utilizaron 40 corderos de raza merina que se asignaron a dos grupos experimentales de 20 animales cada uno, equilibrados por el peso vivo al nacimiento ( $4,77 \pm 0.213$  kg). Durante todo el periodo de lactancia, el primer grupo (*ad libitum*, ADL) se mantuvo permanentemente con las madres. Los animales del segundo grupo (restringido, RES) permanecieron separados de sus madres de 9 a 18 h, y las madres se ordeñaron cada día a las 17:00 p.m. Los corderos se pesaron dos veces a la semana a lo largo de todo el experimento. El destete progresivo de los animales comenzó cuando estos alcanzaron los 13,5 kg PV y finalizó a los 15 kg PV. Tras el destete, los animales se alojaron individualmente y se alimentaron con la misma ración completa granulada administrada de forma restringida (40 g/kg PV) para evitar diferencias en la ingestión durante el periodo de cebo. Se recogieron diariamente los restos de alimento y se calculó, una vez a la semana, la ingestión de materia seca (IMS) de cada animal. La extracción de sangre se realizó cuando los animales alcanzaron los 25 kg de peso y el plasma se almacenó a  $-80^{\circ}$  C. Los animales se sacrificaron con 27 kg PV, registrándose el peso de la canal (caliente y fría) y de todos los órganos. La ganancia diaria de peso (GDP) de los animales seleccionados para el estudio metabolómico se calculó mediante regresión lineal entre el peso corporal del cordero y el día.

El plasma de 12 de animales representativos de cada grupo se analizó por duplicado para cada muestra para obtener el perfil metabolómico. Para ello, se utilizó un equipo de cromatografía líquida acoplado a un detector de espectrometría de masas (UPLC/QTOF-MS) (Agilent Technologies Santa Clara, CA, EE. UU.). La identificación de los compuestos se basó en la masa exacta y el patrón isotópico, y se realizó utilizando las bases de datos KEGG y "Metlin" (Agilent Technologies). Tras la normalización ( $\log_2$ ) de las abundancias, se realizó un análisis ANOVA ( $P=0,1$ , test de corrección múltiple de Bonferroni) y se calculó la magnitud del cambio ("fold-change", cut-off = 3). Además, se realizó un análisis discriminante de las muestras mediante regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como cabría esperar, en el periodo de lactancia los animales del grupo RES presentaron una ganancia diaria de peso un 28% inferior a la registrada para los animales del grupo ADL (Tabla 1). Sin embargo, una vez alcanzado el peso al destete, los animales del grupo RES también manifestaron ganancias de peso inferiores y valores de índice de conversión (IC) superiores a las del grupo ADL a pesar de que a lo largo de este periodo el nivel de ingestión de materia seca fue similar en ambos grupos.

El grupo RES presentó una menor cantidad de grasa mesentérica y mayor cantidad de grasa omental y perirrenal, lo que indica diferencias en el patrón de deposición de grasa con respecto al grupo ADL. Por otro lado, cabe destacar que no hubo diferencias en el peso del intestino delgado ( $P>0,05$ ), si bien este representó una mayor proporción respecto al peso total del intestino ( $P<0,05$ ) en el grupo RES. Estos resultados no concuerdan, aparentemente, con los obtenidos por otros autores, en los que se observó un menor tamaño de dicho órgano en los corderos sometidos a un periodo de restricción de alimento, respecto al grupo control (Greenwood et al., 2004). Sin embargo, en nuestro estudio el sacrificio de los animales se realizó a los 27 kg, de modo que es factible que, de haber existido, las diferencias provocadas por la restricción de alimento durante la lactancia desapareciesen a lo largo del periodo de cebo, etapa en la que la ingestión de alimento fue similar para ambos grupos. Asimismo, es posible que el efecto sobre el tamaño de los diferentes órganos dependa también del nivel de restricción (Greenwood et al., 2004).

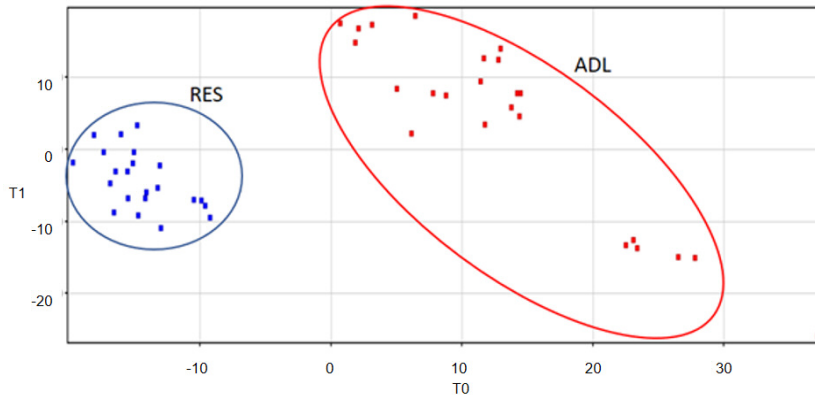
**Tabla 1.** Estadística resumen de los parámetros de crecimiento y eficiencia, así como parte de la composición de la no canal tras el sacrificio para los dos grupos experimentales.

	A voluntad	Restringido	DER <sup>a</sup>	Significación
<b>Caracteres de eficiencia</b>				
GDP durante la lactancia (g/día)	267	191	41,2	***
GDP durante el cebo (g/día)	202	165	25	**
Ingestión (g MS/día)	603	607	25,86	NS
Índice de conversión (IC)	3,05	3,69	0,369	***
<b>Depósitos de grasa (g)</b>				
Omental	101	129	92,2	†
Mesentérica	214	161	27,2	**
Perirrenal	86	141	44,5	**
<b>Intestino delgado</b>				
g	785	732	103,9	NS
g/g total intestino	0,69	0,66	0,037	*

<sup>a</sup> Desviación estándar residual. \* $P<0,05$ , \*\* $P<0,01$ , \*\*\* $P<0,001$ , †  $P<0,10$ ; NS:  $P>0,05$ .

Por otra parte, el estudio metabolómico permitió separar y cuantificar 4026 metabolitos en el plasma de los animales estudiados. El análisis PLS-DA permitió obtener varios *clusters* que ilustraron perfectamente las diferencias entre estos dos grupos experimentales (Figura 1).

De todos estos metabolitos, tan solo 198 presentaron diferencias en los niveles plasmáticos de los dos grupos ( $P<0,1$ ), y de entre éstos tan solo 51 pudieron ser identificados con las bases de datos empleadas. En cualquier caso, de los 51 metabolitos identificados, 14 de ellos estaban aumentados en el grupo ADL y 37 disminuidos con respecto al grupo RES. Es destacable que en el grupo RES se detectase una mayor cantidad de metabolitos relacionados con la oxidación mitocondrial de ácidos grasos por debajo de 18 átomos de carbono. Sin embargo, el ácido 3-oxo-tricosanoico, cuya oxidación tiene lugar en los peroxisomas, mostró niveles más elevados en el grupo ADL. Esos datos, en todo caso, parecen indicar diferencias en el metabolismo de las grasas provocadas por el nivel de alimentación en la lactancia, que podrían estar relacionadas, a su vez, con las diferencias observadas en los depósitos grasos (Tabla 1).



**Figura 1.** Análisis discriminante de las muestras de plasma utilizando el perfil metabolómico de los dos grupos experimentales (RES y ADL).

En conclusión, la restricción de alimento durante la fase de lactancia afecta al metabolismo lipídico de los corderos en la fase de cebo, lo que podría haber provocado las diferencias observadas en la ganancia diaria de peso y en la eficiencia de utilización de los alimentos de los corderos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carrillo, J.A. et al., 2016. Sci. Rep. 6: 25948.
- Greenwood, P.L. et al., 2004. J. Anim. Sci. 82: 422-428.
- Ruchat, S.M. et al., 2014. Curr. Nutr. Rep. 3: 281-288.

**Agradecimientos:** Este estudio ha sido apoyado por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte del Gobierno de España a través de sus becas de post-grado de Formación del Profesorado Universitario (ref: FPU15/01630), y se enmarca dentro del proyecto AGL2014-54124R.

#### THE SUCKLING REGIMEN AFFECTS FEED EFFICIENCY AND METABOLOMIC PROFILE OF LAMBS IN THE FATTENING PERIOD

**ABSTRACT:** The increment of world population increases the need of improving feed efficiency traits of livestock. However, the molecular mechanisms underlying different feed efficiency traits and their regulation by nutrition remain poorly understood. The present study was designed to identify plasmatic metabolites and metabolic pathways of fattening merino lambs caused by milk restriction during the suckling period. Forty male lambs were assigned randomly to two groups (n=20 per group) with different suckling regime: ADL (lambs were kept continuously with their dams) and RES (lambs were allowed to suck for 15 hours). When they reached 15 kg of live body weight (LBW), all the animals were offered the same complete pelleted diet at a restricted level (40 g DM/kg LBW). All the lambs were slaughtered with 27 kg of LBW and 12 representative animals from each group were selected for the analysis. Metabolomic analysis was carried out on a mass spectrometer coupled to an UHPLC chromatographic system (UHPLC/QTOF-MS). According to the data obtained in the present study, a restricted milk intake level during the suckling period of merino lambs promoted long term effects on efficiency traits and metabolic profile which might have modified fatty acids metabolism during the fattening period.

**Keywords:** feeding efficiency, lamb, fattening, metabolomics.

## **EFFECTO DE LA CANTIDAD DE LACTORREEMPLAZANTE SUMINISTRADA DURANTE LAS DOS PRIMERAS SEMANAS TRAS LA LLEGADA A GRANJA SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO Y CRECIMIENTO EN TERNEROS MAMONES FRISONES**

Verdú<sup>1</sup>, M., Solé<sup>2</sup>, A., Bach<sup>2,3</sup>, A. y Devant<sup>2</sup>, M.

<sup>1</sup>bonÀrea Agrupa, 25210 Guissona, Lleida, España. <sup>2</sup>Producció de Remugants, IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries), Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España. <sup>3</sup>ICREA (Institutió Catalana de Recerca i Estudis Avançats), 08010 Barcelona, Barcelona, España. [marsal.verdu@bonarea.com](mailto:marsal.verdu@bonarea.com)

### **INTRODUCCIÓN**

Un empeoramiento del 5% de los resultados productivos (consumo de pienso y crecimiento), junto con un aumento del 5% de la mortalidad durante los últimos 5 años (datos propios de Agropecuària de Guissona, S. Coop. Ltda.), evidenciaron un problema de vitalidad en la cría de terneros mamones (Svensson et al., 2006). El sistema de cría de terneros (mamones) consiste en criar terneros de 55 a 150 kg de PV durante 90 días, alimentados con lactorreemplazante las primeras 4-5 semanas, pienso, paja y agua ad libitum. Estos animales llegan a la granja de destino tras haber estado en un centro de recogida, donde son rehidratados con agua y solución electrolítica, para su posterior transporte por carretera. Estas circunstancias los predisponen al padecimiento de una anorexia transitoria como factor de mayor impacto sobre la vitalidad de estos animales una vez llegan a granja. Griebel et al. (1987) observó que una mala alimentación en un ternero lactante puede comprometer su salud intestinal y sistema inmunitario, e incluso, su estado de salud general. De entre las estrategias alimentarias posibles para estimular el consumo de pienso, el reajuste del programa de leche aumentando la cantidad de lactorreemplazante durante las dos primeras semanas tras la llegada a granja podría suponer una vía de aporte de alimento más eficaz que el pienso. Una experiencia similar (Devant et al., 2015), dando una toma de lactorreemplazante al día en lugar de dos, no resultó ser exitosa para incrementar el consumo de pienso. La llegada de alimento al tracto digestivo vía leche podría paliar la anorexia y estimular el consumo de pienso, ya que el nivel de ingesta puede ser determinante para la integridad y funcionalidad del tracto digestivo (Pluske et al., 1997), así como para la vitalidad de los animales. Así pues, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la cantidad de lactorreemplazante suministrada durante las dos primeras semanas tras la llegada a granja sobre el consumo de pienso y el crecimiento en terneros mamones criados en condiciones comerciales a lo largo del primer mes y medio de cría.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Un total de 350 terneros Frisones ( $56 \pm 1,5$  kg de PV y  $29 \pm 9,3$  d de edad), de dos crías consecutivas (175 terneros por cría), fueron alojados en 16 corrales de 11 animales, y distribuidos en 2 naves idénticas. Los corrales (5,3 m x 3,5 m) disponían de comederos de pienso y paja con 5 bocas, bebedero, y paja como cama. A su llegada, los terneros fueron distribuidos en cada uno de los corrales según su PV inicial. Cada corral fue asignado aleatoriamente a uno de los dos tratamientos de acuerdo con el programa de leche suministrado: un programa convencional (CON), y un programa con mayor aporte de lactorreemplazante las dos primeras semanas tras la llegada llamado Rescate (RES). En el programa CON, los animales recibieron lactorreemplazante a razón de 2 tomas de 360 g/d la semana 1, 330 g/d las semanas 2 y 3, 300 g/d la semana 4, y 1 toma de 210 g/d la semana 5. En función del consumo de pienso de la semana 2, el programa de leche se reajustaba: si el consumo de la semana 2 era  $\leq 800$  g/d, el destete se realizaba el día 35; en caso que el consumo fuera  $\geq 800$  g/d, el destete se realizaba el día 28 suprimiendo la semana 3. En el programa RES, se administró lactorreemplazante a razón de 2 tomas de 600 g/d la semana 1 y 500 g/d la semana 2, y 1 toma de 300 g/d la semana 3 y 150 g/d la semana 4. El destete se realizó el día 28. En ambos programas, después del destete, el estudio prosiguió 3 semanas más post-destete hasta el día 47. Todos los animales recibieron lactorreemplazante tipo spray [(1,37 unidad forrajera de carne (UFC), 22,0% proteína bruta (PB), 18,4% grasa bruta (GB) sobre materia fresca (MF)], dos piensos comerciales de formulación distinta, un estárter los primeros 30 días de estudio (1,02 UFC, 15,0% PB sobre MF), y un post-estárter los días restantes (1,02 UFC, 14,5% PB sobre MF), además de paja y agua a libre disposición. En cada corral, se registró a diario el consumo de lactorreemplazante y estado de

salud de los animales (tratamientos veterinarios, animales retirados del estudio y muertos), y, semanalmente, el consumo de pienso, paja y el PV. La unidad experimental fue el corral. Los datos se analizaron usando un modelo de efectos mixtos con medidas repetidas (SAS, Versión 9.2). El modelo estadístico incluyó el PV inicial como covariable, el tratamiento, el tiempo y su interacción como efectos fijos, y, el corral, la nave y la cría como efectos aleatorios. El tiempo se consideró como factor de repetición y, para cada variable, el corral anidado en el tratamiento (término de error) se sometió a una estructura de varianza-covarianza simétrica o auto-regresiva de primer orden. Los datos relativos al estado de salud de los animales se analizaron con un test Chi-cuadrado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales del tratamiento Convencional se destetaron el día 35. Se registraron 3 bajas en el programa CON (2 por neumonía y 1 por diarrea), y 7 bajas en RES (5 por neumonía y 2 por diarrea); además, se retiraron del estudio 4 animales en el tratamiento CON por neumonía, y 6 en RES (5 por neumonía y 1 por diarrea). No se hallaron diferencias significativas entre tratamientos en términos de estado de salud ( $P > 0,10$ ). Los terneros del programa RES tendieron a registrar mayor PV final que los CON después de 47 días de estudio ( $P = 0,09$ ; Tabla 1).

Tabla 1. Consumo de pienso y datos productivos de los terneros según el programa de lactorreemplazante suministrado.

	Lactorreemplazante <sup>1</sup>			P-valor		
	CON	RES	EEM <sup>2</sup>	Leche	Tiempo	Leche x Tiempo
PV inicial, kg	56,2	56,1	1,49	0,16		
Edad inicial, d	28,2	30,1	9,29	0,18		
PV final, kg	90,0	92,6	1,05	0,09		
Consumo						
Leche, kg MF/d	0,22	0,22	0,001	<0,01	<0,01	<0,01
Pienso, kg MF/d	1,38	1,44	0,071	0,32	<0,01	<0,01
Paja, kg MF/d	0,10	0,11	0,004	0,02	<0,01	0,97
Total, kg MF/d	1,69	1,77	0,070	0,24	<0,01	<0,01
GMD, kg/d	0,71	0,75	0,039	0,21	<0,01	<0,01
IC <sup>3</sup> , kg/kg	2,48	2,49	0,154	0,93	<0,01	0,03

<sup>1</sup>Programa de lactorreemplazante: CON = convencional; RES = rescate.

<sup>2</sup>Error estándar de la media.

<sup>3</sup>Índice de conversión.

Se observó una interacción entre el programa de lactorreemplazante suministrado y el tiempo en el consumo de leche, de pienso, en el consumo total, en la GMD, y en el índice de conversión ( $P < 0,05$ ; Tabla 1). Como era de esperar, las diferencias de consumo de lactorreemplazante fueron debidas al programa de lactorreemplazante suministrado establecido. Los terneros RES consumieron más pienso en comparación con los CON las semanas 5 y 6 de estudio ( $P < 0,01$ ; 1,96 vs. 1,62 y 2,46 vs. 2,29  $\pm$  0,078 kg/d, respectivamente). Los terneros RES registraron un mayor consumo total (leche, pienso y paja) que los CON las semanas 1, 5 y 6 de estudio ( $P < 0,01$ ; 0,80 vs. 0,61, 2,08 vs. 1,93 y 2,60 vs. 2,41  $\pm$  0,078 kg/d, respectivamente). Los terneros RES tuvieron mayor GMD que los terneros CON durante la semana 1 y 6 ( $P < 0,01$ ; 0,57 vs. 0,31 y 1,07 vs. 0,95  $\pm$  0,056 kg/d, respectivamente). Mientras que la semana 1, los terneros RES fueron más eficientes que los CON ( $P < 0,05$ ; 1,55 vs. 2,47  $\pm$  0,274 kg/kg); la semana 5, los terneros CON registraron mejor conversión que los RES ( $P < 0,05$ ; 2,90 vs. 3,75  $\pm$  0,274 kg/kg). En conclusión, el aumento de la cantidad de lactorreemplazante durante las dos primeras semanas tras la llegada a granja tuvo diversos efectos positivos sobre los resultados productivos: 1) mejoró 2,6 kg el PV final tras 47 días de estudio, 2) mejoró el crecimiento de los terneros y su eficiencia la semana 1, y 3) incrementó el consumo de pienso las semanas 5 y 6. Por lo

tanto, el programa de leche RES tiene un impacto económico beneficioso por el hecho de mejorar los resultados productivos y reducir los costes de producción en relación a la mano de obra, ya que se disminuyó una semana de leche. Sin embargo, aunque no resultó ser significativo, este programa también registró una mayor mortalidad, factor que en un futuro deberá ser abordado por su impacto en la rentabilidad de la producción.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Devant, M., Solé, A., Bach, A., Terré, M. 2015. Efecto del número de tomas (1 o 2) de leche sobre el consumo de pienso, crecimiento y el comportamiento en terneros mamones Frisones de más de 55 kg de peso vivo de entrada. AIDA. Tomo I: 242-244. ● Griebel, P.J., Schoonderwoerd, M., Babiuk, L.A. 1987. Ontogeny of the immune response: Effect of protein energy malnutrition in neonatal calves. Can. J. Vet. Res. 51: 428-435. ● Pluske, J.R., Hampson, D.J., Williams, I.H. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. Lives. Prod. Sci. 51:215-236. ● Svensson, C., Linder, A., Olsson, S.O. 2006. Mortality in Swedish dairy calves and replacement heifers. J. Dairy. Sci. 89: 4769-4777.

**Agradecimientos:** Este estudio ha sido realizado junto con la Agropecuària de Guissona, S. Coop. Ltda., y mediante la financiación del MAGRAMA (Proyecto 20150020003026, "VITA50: Mejora de la vitalidad de los terneros mamones").

#### EFFECT OF AMOUNT OF MILK REPLACER FOR FIRST TWO WEEKS AFTER FARM ARRIVAL ON CONCENTRATE CONSUMPTION AND PERFORMANCE IN MILK-FED HOSLSTEIN CALVES

**ABSTRACT:** The study aim was to evaluate the effect of amount of milk replacer for first two weeks after farm arrival on intake and performance in calves. A total of 350 calves, from two consecutive batches, were allocated in 16 pens of 11 animals. Each pen was randomly assigned to one of the 2 treatments according to milk replacer program: a Conventional program, and a program with large amounts of milk replacer for first two weeks after arrival called Rescue. Conventional program was 360 g/d week 1, 330 g/d weeks 2 and 3, 300 g/d week 4, twice daily, and 210 g/d week 5 once daily. Rescue program was 600 and 500 g/d weeks 1 and 2, twice daily, and 300 and 150 g/d weeks 3 and 4 once daily. Concentrate, straw and water were offered ad libitum. Pen health status and milk consumption were registered daily, concentrate intake and BW weekly. Data were analyzed using a mixed-effects model with repeated measures. In conclusion, the increase of amount of milk replacer for first two weeks after arrival had a positive impact on performance at mid-term, improving the final body weight and concentrate consumption; however, this program recorded a worse health status.

**Keywords:** amount of milk replacer, concentrate consumption, milk-fed calves, performance

## USO DE PROTEÍNA DE GIRASOL (SEMILLA Y HARINA) PROTEGIDA EN EL CEBO DE CORDEROS

Haro, A.N.<sup>1</sup>, Hernández, E.<sup>1</sup>, Añover, I.<sup>2</sup>, de la Fuente, J.<sup>2</sup>, González, J.<sup>1</sup> y Carro, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. <sup>2</sup> Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid, España. [an.haro@alumnos.upm.es](mailto:an.haro@alumnos.upm.es)

### INTRODUCCION

Los animales rumiantes tienen una baja eficiencia de utilización del nitrógeno (N), lo provoca a una elevada excreción de N al medio ambiente. Esta ineficiencia es parcialmente debida a pérdidas de amoníaco a nivel ruminal, por lo que trasladar el lugar de la digestión de la proteína del rumen al intestino delgado reduciría la contaminación y mejoraría la eficiencia nitrogenada. Para ello es necesario proteger la proteína frente a la degradación ruminal, siendo los ácidos y el calor los tratamientos más utilizados. La proteína del girasol se caracteriza por su alta velocidad de degradación, por lo que al aplicar ambos tratamientos se puede actuar sinérgicamente, reduciendo el coste del tratamiento térmico, las reacciones de Maillard y el impacto negativo del ácido sobre la actividad microbiana y el ambiente ruminal (González et al., 1999). En un trabajo previo se observó la eficacia del tratamiento con ácido málico y calor para proteger la degradación de la proteína de girasol y mejorar la fermentación ruminal *in vitro* (Vanegas et al., 2017), pero este tratamiento no se ha probado *in vivo*. El objetivo de este estudio fue analizar los efectos del tratamiento de la harina y semilla de girasol con ácido málico y calor en la ingestión y rendimiento productivo de corderos en cebo, la digestión de la dieta y la fermentación ruminal *in vitro* del pienso.

### MATERIAL Y METODOS

Para el estudio se utilizaron 24 corderos de raza Lacaune (14,2 ± 0,35 Kg) que se distribuyeron en dos grupos homogéneos según su peso vivo. Cada grupo se asignó al azar a uno de los dos tratamientos experimentales: pienso con proteína protegida y pienso control. La protección de la harina y semilla de girasol se realizó pulverizando una solución de ácido málico 2N (400 ml/kg) y secando posteriormente en una estufa a 150 °C durante 2 h. Los dos piensos se formularon con los mismos ingredientes y solo se diferenciaron en el tratamiento de la proteína de girasol. Los ingredientes fueron cebada (26,4%), maíz (26,3%), trigo (19,6%), harina de girasol (10,9%), semilla de girasol (8,9%), harina de soja (5,0%), carbonato cálcico (2,24%), sal (0,48%) y corrector vitamínico-mineral (0,2%). Los dos piensos contenían un 15% de PB (35% procedente del girasol) y 5,7% de grasa (66% procedente del girasol).

Para analizar la degradación *in vitro* de los piensos se pesaron 200 mg de cada uno en viales de 60 ml, a los que se añadieron 20 ml de una mezcla (1:4; vol/vol) de líquido ruminal y medio de cultivo (Goering y Van Soest, 1970). El líquido ruminal se obtuvo de cuatro ovejas fistuladas en el rumen que recibían una dieta de heno de gramíneas:concentrado en proporción 2:1. Los viales se incubaron a 39 °C y se midió la producción de gas a las 2, 4, 6, 9, 12, 16, 21, 25, 30, 35, 48, 60, 72, 96, 120 y 144 h. Asimismo, se incubaron otros viales durante 12 h, en los que únicamente se midió la concentración de amoníaco al final de la incubación. Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo exponencial:  $Y = PP(1 - e^{-c(t-Lag)})$  en el que *c* es el ritmo fraccional de producción de gas, *PP* su producción potencial, *Lag* el tiempo necesario para que comience la producción de gas y *t* es el tiempo de medida.

Durante todo el experimento los corderos permanecieron en jaulas individuales (1 m<sup>2</sup>) y dispusieron de pienso, paja y agua a voluntad. La ingestión de pienso y paja se controló dos veces por semana y los animales se pesaron semanalmente. En la semana 5 del experimento se determinó la digestibilidad en 10 corderos por tratamiento, para lo que se recogieron y pesaron las heces producidas durante 6 días y se tomó una muestra representativa (10%) para determinar su contenido en materia seca. El sacrificio de los animales se realizó en dos semanas consecutivas, al alcanzar los 26 kg de peso vivo. La canal se pesó inmediatamente después del sacrificio y a las 24 horas de oreo en una cámara fría (4°C). Además se midió el pH del músculo *Longissimus dorsi* a las 0 y 24 horas,

el pH del contenido ruminal y se tomó una muestra de la pared ruminal, a cuyo color se le asignó una puntuación de 1 a 5, correspondiendo el 5 al color más oscuro. Los resultados de la prueba *in vivo* se analizaron mediante análisis de varianza de una vía usando el paquete estadístico SAS. Los datos *in vitro* se analizaron con el mismo modelo, pero se incluyó el inóculo como efecto aleatorio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La degradación *in vitro* de los dos piensos fue muy similar y no hubo diferencias en los parámetros de producción de gas, a excepción de una tendencia ( $P=0,091$ ) a un mayor ritmo de producción de gas en el pienso tratado (Tabla 1). Se observó una tendencia ( $P=0,06$ ) a una menor concentración de amoniaco en el pienso Tratado que en el pienso Control, lo que demostraría que la protección de la proteína fue efectiva.

**Tabla 1.** *Parámetros de producción de gas y concentración de N-NH<sub>3</sub> in vitro a las 12 h de incubación*

Item	Control	Tratado	EEM <sup>1</sup>	P valor
Producción de gas potencial (ml/g materia seca)	270	266	30,9	0,47
Ritmo fraccional de producción de gas (c) (%/h)	0,056	0,059	10 <sup>-5</sup>	0,09
Tiempo para producción de gas (Lag) (h)	1,70	1,70	0,011	0,17
N-NH <sub>3</sub> (mg/l)	161	146	27,5	0,06

<sup>1</sup> error estándar de la media.

No se observaron diferencias en el consumo de pienso y paja de los corderos, su ganancia media diaria, el índice de conversión ni la digestibilidad de la materia seca (Tabla 2). Los corderos que consumieron el pienso tratado ingirieron un 5% más de pienso que los corderos control, lo que indica que el tratamiento de la proteína no redujo la palatabilidad del pienso. Los valores de la ganancia media diaria, índice de conversión y digestibilidad de la materia seca estuvieron dentro del rango de los obtenidos en corderos en cebo que recibían piensos de composición similar (Carro et al., 2006).

**Tabla 2.** *Peso vivo inicial, consumo de pienso y paja, ganancia media diaria (GMD), índice de conversión (IC) y digestibilidad de la materia seca de la dieta (DMS) en corderos en cebo que recibían un pienso control o con proteína de girasol protegida con ácido málico y calor (Tratado)*

Item	Control	Tratado	EEM <sup>1</sup>	P valor
Peso Inicial (kg)	14,2	14,2	0,31	0,98
Consumo de pienso (g/d)	873	915	21,6	0,18
Consumo de paja (g/d)	31,3	32,9	2,15	0,61
Consumo total (g)	904	948	2,1	0,18
GMD (g)	314	329	14,8	0,47
IC (g/g)	2,98	2,92	0,161	0,77
DMS (%)	79,9	81,2	0,66	0,22

<sup>1</sup> error estándar de la media.

La protección de la proteína en el pienso no afectó al peso de la canal caliente y fría, al rendimiento de la canal ni al pH del músculo *Longissimus dorsi* (Tabla 3). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Díaz-Royón et al. (2016), quienes administraron piensos tratados con ácido málico y calor a corderos en cebo y no observaron efecto alguno sobre la ingestión, el índice de conversión o el rendimiento de la canal. En nuestra prueba, los corderos que recibían el pienso Tratado presentaron un color más oscuro de la mucosa ruminal ( $P = 0,003$ ), que pudo ser debido a la acción corrosiva del ácido málico o a una mayor abrasión de la cascarilla de la semilla de soja al ser tratada con ácido y calor.



**Tabla 3.** Valores medios del rendimiento productivo, pH ruminal y de la carne y color de la pared ruminal de corderos en cebo que recibían un pienso control (Control) o con proteína de girasol protegida con ácido málico y calor (Tratado)

Item	Control	Tratado	EEM <sup>1</sup>	P valor
Peso al sacrificio (kg)	26,5	27,1	0,46	0,36
Peso canal caliente (kg)	12,7	13,7	0,21	0,21
Peso canal fría (kg)	12,4	12,8	0,21	0,20
Rendimiento canal (%)	47,7	47,9	0,88	0,74
pH <i>Longissimus dorsi</i> a las 0 h	6,76	6,77	0,042	0,95
pH <i>Longissimus dorsi</i> a las 24 h	5,68	5,64	0,033	0,37
pH rumen	5,17	5,26	0,060	0,51
Color pared rumen	1,71	2,78	0,171	0,003

<sup>1</sup> error estándar de la media.

En resumen, aunque la prueba *in vitro* indicó una protección efectiva de la proteína de girasol con ácido málico y calor, la inclusión de proteína protegida en el pienso de corderos en cebo no afectó a la ingestión, digestibilidad ni al rendimiento productivo de los animales.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Carro, M.D., Ranilla, M.J., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R. 2006. J. Anim. Sci. 84: 405-410.
- Díaz-Royón, F., Arroyo, J. M., Alvir, M. R., Sánchez, S., González, J. 2016. Small Rum. Res. 134: 58-61.
- Goering, H.K., Van Soest, P.J. 1970. USDA Agricultural Research Service. Agric. Handbook No. 379.
- González, J., Sánchez, L., Alvir, M.R. 1999. Reprod. Nutr. Develop. 39: 607-616.
- Vanegas, J.L., Carro, M.D., Alvir, M.R., González, J. 2017. J. Sci. Food Agric. (In press; DOI: 10.1002/jsfa.7743\_).

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2012-31064 (financiado por el MINECO) y MEDGAN ABI-2913 (financiado por la Comunidad de Madrid y cofinanciado con Fondos Estructurales de la UE).

#### USE OF RUMEN-PROTECTED SUNFLOWER PROTEIN (SEED AND MEAL) IN FATTENING LAMBS

**ABSTRACT:** The objective of this study was to examine the effects of the treatment of sunflower seed and meal with malic acid and heat on feed intake, growth rate, feed efficiency and diet digestibility in growing lambs. Twenty-four Lacaune lambs ( $14,2 \pm 0,35$  kg body weight) were distributed into two homogeneous groups. The lambs were fed either a control concentrate (untreated sunflower protein) and a concentrate containing sunflower seed and meal treated with malic acid and heat for protecting protein from ruminal degradation. In 12-h *in vitro* incubations, NH<sub>3</sub>-N concentrations tended to be lower ( $P = 0.064$ ) in the treated than in the control concentrate, indicating that the treatment was effective. Lambs were fed concentrate and straw *ad libitum*, and diet digestibility was determined on week 5. Lambs were slaughtered at 26 kg of body weight and the pH of the ruminal fluid was determined. There were no effects of protein protection on concentrate or straw intake, average daily gain, carcass yield, and apparent dry matter digestibility ( $P = 0.18$  to  $P = 0.95$ ). No differences among treatments were observed in ruminal pH ( $P > 0.05$ ), but rumen wall was darker ( $P = 0.003$ ) in the lambs fed the treated concentrate. The protection of sunflower protein with malic acid and heat under the conditions of the current study did not influence diet intake or digestion, and consequently did not improve lamb performance.

**Keywords:** sunflower protein, malic acid-heat treatment, *in vitro* gas production, fattening lambs

## REDUCCIÓN DE LA EXCRECIÓN Y LA VOLATILIZACIÓN DE NITRÓGENO EN TERNEROS DE ENGORDE DURANTE LA FASE DE ACABADO A TRAVÉS DE LA REDUCCIÓN DEL NIVEL DE PROTEÍNA DEL CONCENTRADO

Devant<sup>1</sup>, M., Quintana<sup>1</sup>, B., Solé<sup>1</sup>, Pérez<sup>2</sup>, A., Medinyà<sup>3</sup>, C., Riera<sup>4</sup>, J., Grau<sup>5</sup>, J., y Fernández<sup>6</sup>, B.

<sup>1</sup> Producció de Remugants, IRTA (Institut de Recerca i Tecnologies Agroalimentàries), Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España. <sup>2</sup> Corporación Alimentaria Guissona, S.A., Guissona, Lleida, España. <sup>3</sup> Nutrición Animal S.L., Sallent, Barcelona, España. <sup>4</sup> Nanta S.A., Tres Cantos, Madrid, España. <sup>5</sup> Setna Nutrición Animal SAU, Rivas Vaciamadrid, Madrid, España. <sup>6</sup> Gestió Integral Residus Orgànics, IRTA (Institut de Recerca i Tecnologies Agroalimentàries), Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España. [maria.devant@irta.cat](mailto:maria.devant@irta.cat)

### INTRODUCCIÓN

La producción ganadera es fuente de contaminación ambiental de nitrógeno (N); por un lado, el amoníaco derivado de sus deyecciones es precursor de N<sub>2</sub>O, un gas que contribuye al calentamiento global (Tamminga, 2003); por otro lado, contribuye a la eutrofización y acidificación del suelo (Erickson y Klopfenstein, 2010; Hristov et al., 2011), y forma partículas finas atmosféricas-PM<sub>2.5</sub> que contribuyen a la contaminación ambiental. Es por ello que las emisiones ganaderas están reguladas (DOGC 136/2009) con el objeto de prevenir y reducir la contaminación de las aguas debido a los nitratos de origen ganadero. A nivel sectorial se organizó un grupo operativo en Cataluña para reducir la contaminación ambiental de N durante la fase de acabado en terneros cebados intensivamente. Para dicho objetivo se puede actuar a tres niveles (Hristov et al., 2011): reducción de la excreción de N-amoniaco, reducción de la volatilización (alojamientos, almacenaje), y potenciar la captura y tratamiento de gases. El N urinario es la principal fuente de N-amoniaco y su principal forma de N es la urea (Erickson y Klopfenstein, 2010). El N de la orina se puede volatilizar en forma de amoníaco cuando entra en contacto con la ureasa de las heces y puede transformarse en N<sub>2</sub>O por la acción microbiana anaeróbica (el óxido nítrico es un intermediario en los procesos de nitrificación y desnitrificación; Reed et al., 2015). La reducción del N-amoniaco es el principal objetivo del presente trabajo, para ello la reducción de la proteína bruta (PB) de la dieta es una de las estrategias más efectivas (Hristov et al., 2011). En el presente estudio se evaluaron estrategias (reduciendo el nivel de proteína de la dieta) para reducir la excreción de N de terneros en engorde intensivo durante la fase de acabado, dichas estrategias no debían perjudicar al crecimiento e índice de conversión.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron dos tipos de pruebas: balance de nitrógeno y pruebas de crecimiento. Balance de N. Se eligió trabajar con terneros frisonos, por ser esta la raza más cebada en Catalunya. Para el balance de N, 24 hembras frisonas (310 ± 5,3 kg de peso vivo (PV) y 251 ± 1,4 d de edad) se alojaron en corrales individuales y se distribuyeron aleatoriamente según su PV inicial entre los 3 tratamientos (N1: 14,5% PB y 0,6 urea, N2: 12,5% PB y 0,3% urea, N3: 10,5% PB sin urea, sobre materia fresca (MF)). Las terneras se alimentaron con pienso (40% maíz, 8% cebada, 10-12% trigo, 13-18% segundas, 10-15% pulpa remolacha, 4,2-10,5% harina de soja, 2,6-3,1% aceite palma, 1,1% carbonato cálcico, 0,2% sal, 0,4% bicarbonato cálcico, 0,15% óxido magnésico, 0,2% premix, 0 - 0,6% urea), paja y agua *ad libitum*. En el pienso se añadió 1 g/kg de óxido crómico como marcador externo para estimar el volumen de heces y el balance de N. El consumo de pienso se registraba a diario y la paja semanalmente (excepto las semanas donde se estimaba el balance de N). Quincenalmente se pesaron las terneras. El día 30 y 58 se realizó el balance de N; durante estos períodos de digestibilidad se recolectaron diariamente muestras de oferta de pienso y paja para analizar su contenido en óxido crómico, materia seca (MS), PB, extracto etéreo (EE), fibra neutro detergente (FND), cenizas y almidón. Los tres últimos días de la semana se recolectaron diariamente muestras de orina (aproximadamente 100 ml para analizar su contenido en N y creatinina) y diariamente heces (300 g para analizar su

concentración de en óxido crómico, MS, PB, EE, FND, cenizas y almidón). Al día 57 se recolectó sangre 1, 5, 9 y 24 horas tras la oferta para la determinación de la concentración de urea. El día 64 se recolectó 1 kg de heces y 1 kg de orina por animal para realizar estudios de volatilización (emisiones de N, CO<sub>2</sub> y metano estimados a través de fermentadores anaerobios y aerobios). Se hizo una mezcla de orina y heces por tratamiento y en cada ensayo distribuyó cada mezcla en 3 fermentadores (3 réplicas por tratamiento), se colectaron muestras de gas para analizar la concentración de amoníaco los días 1, 3, 7 y semanalmente hasta el día 150 de estudio. El día 67 se sacrificaron los animales a la edad de 11 meses. La unidad experimental fue el animal. Los resultados se analizaron con un ANOVA, en el modelo el tratamiento fue considerado un efecto fijo y el PV como covariable. En el caso de la urea en sangre, el tiempo fue considerado la medida repetida, el animal se consideró como efecto aleatorio y la estructura de covarianza elegida fue la que tenía un menor valor del criterio Schwarz's Bayesian.

Pruebas de crecimiento. En el estudio para evaluar la reducción de PB los datos productivos un total de 150 machos frisones (344 ± 2,6 kg de PV y 252 ± 0,9 d de edad) fueron alojados en una nave de 8 corrales (18-19 animales por corral). Se estudiaron los dos tratamientos con menor concentración de PB (N2 y N3) que fueron distribuidos aleatoriamente a los corrales. Los animales se distribuyeron para que el PV inicial y su CV fuera homogéneo entre los corrales. El pienso y la paja se suministraron *ad libitum* y el consumo pienso por corral se registró diariamente, el de paja semanalmente, y el PV se registró quincenalmente. A partir del día 70 se trasladaron al matadero donde se registró el peso canal y su clasificación. La unidad experimental fue el corral, aunque en los casos que se manejaban registros individuales (consumo, urea) se introdujo la variable animal anidada al corral como efecto aleatorio. Los datos se analizaron con un ANOVA, en el modelo el tratamiento y el tiempo fueron considerados efectos fijos, el corral se consideró como efecto aleatorio y la estructura de covarianza elegida fue la que tenía un menor valor del criterio Schwarz's Bayesian.

En el caso de la volatilización del N los resultados se analizaron con un ANOVA, en el modelo el tratamiento fue considerado un efecto fijo, el tiempo fue considerado la medida repetida, la réplica se consideró como efecto aleatorio y la estructura de covarianza elegida fue la que tenía un menor valor del criterio Schwarz's Bayesian.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración de PB concentrados fue 17,1, 14,5 y 12,8 % de PB sobre MS para N1, N2, y N3, respectivamente. En el estudio de balance de N, una ternera (N3) fue eliminada del estudio de balance de N debido a una cojera y a un consumo muy bajo. No se observaron diferencias en el consumo de concentrado (7,3 ± 0,30 kg/d), paja (0,52 ± 0,025 kg/d), ni el la GMD (1,53 ± 0,750 kg/d). La reducción de la concentración de PB redujo la excreción de N urinario (P < 0,001); las diferencias fueron significativas sólo entre el N1 (91,5 ± 5,72 g/d) y el resto de tratamientos; pero no hubo diferencias entre N2 (63,1 ± 5,72 g/d) y N3 (50,4 ± 5,72 g/d). Probablemente la falta de diferencias entre N2 y N3 en la excreción de N se debió a que no hubo diferencias en el consumo de N entre N2 y N3 a pesar de que los niveles de PB fueran diferentes (N3 no llegó a alcanzar el objetivo de 10,5%, la media fue de 11,2%). No se observaron diferencias en la excreción de N fecal. Independientemente del momento del muestreo, al reducir la concentración de PB del pienso, la concentración de urea sérica se redujo (P < 0,001, 32,9, 26,4 y 19,9 ± 1,10 mg/ml para N1, N2, y N3, respectivamente.).

En el estudio de crecimiento, dos animales se enviaron a matadero antes de finalizar el estudio por lesiones en las patas. No se observaron diferencias en la GMD (1,67 ± 0,041 kg/d), ni en consumo de pienso (8,1 ± 0,06 kg MF/d) entre los dos tratamientos. Tampoco se observaron diferencias en el peso de la canal (257 ± 1,7 kg) ni en el rendimiento de la canal (52,3 ± 0,3 %) entre tratamientos. Se observó una tendencia (P = 0,10) en el engrasamiento de la canal; los animales del N3 tuvieron las canales más grasas que los del N2 (94,52 y 86,67% fueron clasificadas "3", respectivamente). La pérdida de N de la heces en el estudio de volatilización aerobia evolucionó en el

tiempo de forma diferente según el tratamiento (interacción tratamiento x tiempo,  $P < 0,01$ ); la volatilización de N del N3 fue siempre inferior ( $0,33 \pm 0,001$  g N/kg heces) que el N1 ( $0,37 \pm 0,001$  g N/kg heces), siendo la volatilización de N2 intermedia ( $0,35 \pm 0,001$  g N/kg heces). La reducción de la concentración de PB de 14,5 a 12,5 y 10,5% es una estrategia eficaz para reducir la excreción urinaria alrededor de un 20%, sin perjudicar el crecimiento animal ni a las características de la canal, y de reducir la volatilización de N.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Erickson, G., y T. Klopfenstein. 2010. J. Anim. Sci. 88 (E. Suppl.): E172.
- Hristov, A. N., et al. 2011. Can. J. Anim. Sci. 91: 1.
- Reed, K. F., et al. 2015. J. Dairy Sci. 98: 3025-3035.
- DOGC 136/ 2009m num 5457.
- Tamminga, S. 2003. Livest. Prod. Sci. 84: 101.

**Agradecimientos:** Este estudio ha sido realizado gracias a un Grupo Operativo titulado "ESTRATÈGIES PER REDUIR L'EXCRECIÓ DE NITROGEN EN VEDELLS D'ENGREIX DURANT LA FASE D'ACABAT" coordinado por l'Associació d'Empresaris Boví Alcarràs e integrado por Corporación Alimentaria Guissona S.A., Nutrición Animal S.L., Setna Nutrición SAU, Nanta S.A., Subdirecció General d'Agricultura-Servei de Sols i Gestió de la Producció Agrària, ASOPROVAC Catalunya, y ASFAC.

#### REDUCTION OF THE NITROGEN EXCRETION AND VOLATILIZATION OF FATTENING BULLS DURING THE FINISHING PHASE BY REDUCING THE CONCENTRATE CRUDE PROTEIN CONCENTRATION

**ABSTRACT:** The aim of this study was to evaluate the effects crude protein concentration on nitrogen excretion (Study 1), and performance (Study 2), and volatilization (Study 3) in Holstein beef animals fed high-concentrate diets during the finishing phase. In Study 1, 24 Holstein heifers ( $310 \pm 5.3$  kg of BW) were allocated in individual pens and distributed randomly depending on initial BW to 3 treatments (N1: 14.5% CP and 0.6% urea, N2: 12.5% CP and 0.3% urea, N3: 10.5% CP, as fed). In Study 2, 150 Holstein bulls ( $344 \pm 2.6$  kg de BW) were allocated in 8 pens. Treatments evaluated were N2 and N3. For Study 3, a fecal and urine samples were collected at d 58 of Study 1 for the ammonia volatilization study. In Study 1, the reduction of CP reduced ( $P < 0.001$ ) urinary N excretion. In Study 2 no differences among treatments were observed in performance and carcass quality. Nitrogen loss from manure estimated from aerobic ammonia volatilization changed significantly during storage with treatment ( $P < 0.001$ ). The reduction of CP from 14.5 to 12.5 and 10.5% is an efficient strategy to reduce urinary N excretion and manure ammonia volatilization without impairing performance and carcass quality.

**Keywords:** nitrogen, environmental pollution, beef, urinary excretion, performance

## EFFECTO DEL NIVEL DE ENERGÍA Y LA PRESENTACIÓN DE LA RACION SOBRE COMPORTAMIENTO ALIMENTICIO DE TERNEROS EN UN REGIMEN DE CEBO INTENSIVO

Mora<sup>1</sup>, J., Balcells<sup>1</sup>, J., Llanes<sup>2</sup>, N., Isla<sup>2</sup>, E. y Villalba<sup>1</sup>, D.

<sup>1</sup>Departament de Producció Animal ETSEA, Universidad de Lleida. 25198 Lleida. España. <sup>2</sup>Cooperativa d'Ivars d'Urgell SCCL - Plaça Bisbe Coll, 9 – 25260 Ivars d'Urgell (Lleida). España. [jmora@ca.udl.cat](mailto:jmora@ca.udl.cat)

### INTRODUCCIÓN

En la zona del mediterráneo la gran mayoría de terneros se engordan en sistemas intensivos con dietas basadas en pienso y paja, ambos *ad libitum*. Comúnmente los piensos se administran en forma granulada o en harina (Acedo-Rico, 2001). El coste de la alimentación supone un elevado porcentaje de los costes totales de producción (Boyles et al., 2001) y por tanto el incremento de precio de las materias primas (i.e soja) limita los beneficios del productor y la viabilidad del sistema de producción (Rengrati, 2015). Una optimización de la relación energía y proteína para cada tipo genético y fase de engorde permitiría la reducción del precio del pienso y por ende la optimización de beneficios. En el presente estudio se analiza el efecto de la concentración energética del concentrado y la forma de presentación sobre los rendimientos productivos y comportamiento alimentario de terneros de raza Montbeliard en régimen de cebo intensivo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 86 terneros machos de origen único y procedentes de Francia. Los terneros tuvieron un peso medio al inicio de la experiencia de 150 kg y fueron distribuidos al azar en 4 lotes y se equilibraron, dentro de cada lote por su peso vivo. Los animales se mantuvieron en 4 corrales contiguos. Cada lote experimental (corral) recibió diferentes tipos de tratamiento o tipos de concentrado: tres con una presentación granulada y tres concentraciones energéticas (Gr-Bajo, Gr-Medio, y Gr-Alto); adicionalmente el nivel medio (Ha-medio) se administró también en forma de harina y constituyó el cuarto tratamiento. El concentrado se formuló en base a maíz, tercerillas y DDGS (Dried Distillers Grains with Solubles, Subproductos de destilería) y durante el engorde se formularon, para cada tratamiento, dos tipos de pienso, fase crecimiento (entre 118-279 días de vida) y fase acabado (279-345 días de vida) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Concentración energética y proteica de los piensos utilizados

	Gr-Bajo	Gr-medio	Gr-Alto	Ha-Medio
Presentación	Granulado	Granulado	Granulado	Harina
Crecimiento (118-279 d)				
Energía, UFC/kg	1,0	1,02	1,05	1,02
PDI/UFC	93,5	93,5	93,5	93,5
Acabado (279-345 d)				
Energía UFC/kg	1,03	1,05	1,07	1,05
PDI/UFC	86	86	86	86

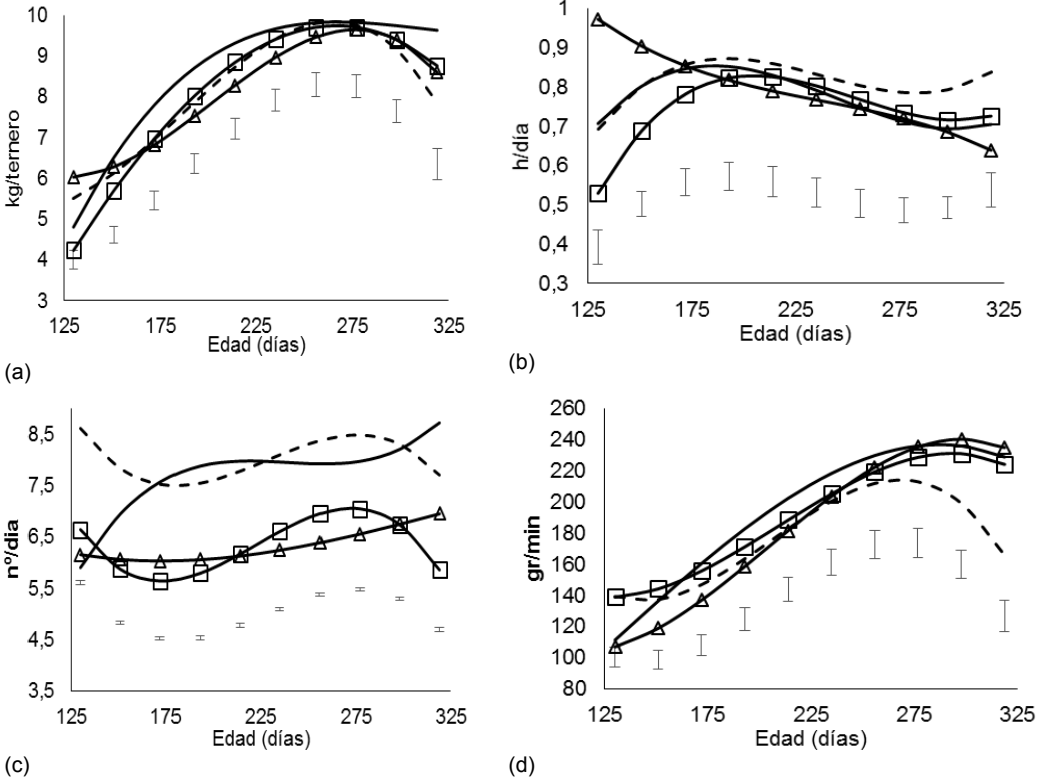
El experimento se realizó en la granja experimental Montsuà propiedad de la Cooperativa de Ivars de Urgell. Cada corral disponía de una estación de alimentación donde la plataforma situada bajo el túnel de alimentación era una báscula. A la entrada del ternero este era reconocido (chip individual) y se registraban automáticamente, el peso del ternero, el tiempo de la visita y la ingesta de concentrado. En la figura 1 se presentan los resultados entre los 130 días de vida (199 kg peso vivo) y 319 días (579 kg peso vivo).

En todas las variables el análisis estadístico se realizó a partir del valor medio por día y animal. Los datos se normalizaron y las variables se analizaron a partir de un modelo de regresión polinómico de grado tres con la edad con coeficientes aleatorios. Como efecto fijo del modelo se incluyó el tipo de pienso, y como efecto aleatorio el animal. Tanto el efecto fijo como los aleatorios afectaban a cada uno de los coeficientes de regresión. Para solucionar el modelo se usó el procedimiento MIXED (SAS). El efecto de la presentación se determina

con dos tipos de concentrados, ambos con nivel de energía, el efecto de la concentración energética se determinó a partir de las raciones que fueron administradas granuladas.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los datos correspondientes al nivel de ingestión (animal y día) se presentan en la Figura 1a. A la edad de 125 días, los terneros consumen aproximadamente 5 kg concentrado/día (2,5% de su peso vivo). Este consumo aumenta hasta los 250 días de vida donde llegan al máximo de consumo cerca de 10 kg/día y se mantiene hasta el final del engorde donde representa un 1,7% de su peso vivo. La presentación tiene un efecto inicial a favor de consumo en la harina (5,5± 0,23 en Ha-Medio y 4,8± 0,24 en Gr-Medio; P=0,04 a 135 días de edad) pero se invierte a partir de los 175 días donde el granulado medio consume más (6,95±0,23 en Ha-Medio y 7,79±0,22 en Gr-Medio; P=0,001 a 175 días de edad). A partir del día 225 las diferencias entre presentaciones desaparecen. La ausencia de diferencias relacionadas con el tipo de presentación coincide con trabajos previos en terneros de cebo (Verdú, 2015). No se pudieron observar diferencias entre la concentración energética en el nivel de consumo.



**Figura 1:** Evolución del consumo (a), tiempo (b), visitas (c) y tasa de ingestión(d) en raciones granuladas con diferente energía (Gr-Bajo  $\Delta$  , Gr-Medio — , Gr-Alto  $\square$ ) y en harina (Ha-Medio ---). Se muestra en el gráfico el Intervalo de confianza 95%.

El tiempo ingestión (Figura 1b), en la primera fase (125 a 175 días de edad) varió entre tratamientos, con valores máximos de 1 h/día y mínimos de 0,5 h/día. A partir de los 175 días el tiempo de ingestión se situó aproximadamente en 0,8 h/día para ir reduciéndose paulatinamente hasta los 0,6-0,7 h/día. Al analizar la relación entre tiempo de consumo y tipo de presentación se observó que los terneros que recibieron el concentrado en forma de harina mostraron mayores tiempos medios de consumo aunque las diferencias sólo alcanzaron significación en la parte final del cebo (0,79±0,04 en Ha-Medio y 0,69±0,04 en

Gr-Medio;  $P=0,01$  a 298 días de edad), y ello coinciden con los mayores niveles de ingestión (Verdú, 2015). El efecto de la concentración energética de la ración sobre los tiempos de consumo no fue constante, se pudo apreciar hasta el día 151, siendo las máximas diferencias las registradas a los 125 días de edad:  $0,97\pm 0,04$  kg/d;  $0,71\pm 0,04$  y  $0,53\pm 0,04$  para GR- Bajo, -Medio y -Alto, respectivamente, ( $P<0,001$ ).

El número de visitas totales (Figura 1c) se mantiene constante durante todo el periodo de cebo y se sitúa entre las 7 - 8 visitas diarias. Este valor es inferior al propuesto por (Verdú, 2015) que registró entorno a las 11,8 visitas, en su caso utilizando terneros de raza Holstein entre 216 y 328 días de edad.

Analizando el efecto del tipo de presentación sobre la frecuencia de visitas al comedero, entre los 125 y 150 días de edad se aprecia una mayor frecuencia en la presentación tipo harina que alcanzó su nivel máximo a los 125 d ( $8,61\pm 0,34$  vs.  $5,9\pm 0,34$   $P<0,001$ ), diferencias que paulatinamente disminuyeron hasta los 150 d. La concentración energética de la ración modificó también la frecuencia de visitas, así durante la totalidad del periodo experimental aquellos animales que ingirieron el nivel de concentración medio mostraron una mayor frecuencia que el resto ( $7,56\pm 0,33$  vs  $6,03\pm 0,34$ ,  $5,64\pm 0,34$  para los grupos Gr-Medio, -Bajo y -Alto, respectivamente;  $P<0,001$  a los 175 d edad) en este caso las diferencias se mantuvieron entre los 175 y 275 días de edad.

El ritmo o tasa de ingestión viene definido por el nivel de consumo y el tiempo de ingestión, (Figura 1d). Al analizar dicho parámetro al inicio del cebo, se detectaron diferencias significativas relacionadas con el nivel de energía aunque dichas diferencia desaparecieron rápidamente. No obstante, en la fase final el lote que recibió la ración harina mostró mayores tasas de ingestión que aquellos que ingirieron la presentación granulada ( $198,9\pm 9,15$  en Ha-Medio y  $236,1\pm 9$  en Gr-Medio;  $p=0,004$  a 298 días de edad).

Cuando se calculó el nivel de ingestión por visita, de acuerdo con los resultados previos, los lotes que consumieron la ración Gr-Medio consumieron menores cantidades cada visita al comedero. Señalar que el bajo consumo en los animales adscritos a Gr-alto podría estar relacionado con la palatabilidad de una ración con un alto contenido de grasa

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acedo-Rico, J. 2001, Publicaciones FEDNA.
- Boyles, S. et al. 2001. Feeding barley to cattle <http://beef.osu.edu/library/barley.html>.
- MacDonald, A.M. et al., 2000, Prairie Swine Centre Annual Report 2000 pp. 25-26
- Rengrati, 2015, [http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/caracterizaciodelsectorvacunodecarne2015\\_tcm7-267233.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/caracterizaciodelsectorvacunodecarne2015_tcm7-267233.pdf)
- Verdú, M. 2015, Tesis

**Agradecimientos:** A la Cooperativa de IVARS. Financiación de INIA (RTA2014-00039-C02). Jesús Mora disfruta de una beca Universidad de Lleida.

#### EFFECT OF THE PRESENTATION AND ENERGY LEVEL ON THE FEEDING BEHAVIOUR OF FINISHING BEEF CATTLE

**ABSTRACT:** This study was carried out to evaluate the feeding behaviour of 86 Montbeliard young bulls between 125 to 345 days of age. Automatic feeders were used to compare four batches, three of them feed with pelleted concentrate and different levels of energy and one with mash concentrate. Feed presentation affected feed intake and number of visits at the start of the fattening period (more intake and more visits for mash feed) but presentation effect was not detected in from 150 days of age. Level of energy did not affect feed intake, nor time of feeding from 175 days of age but medium energy levels presented more visits per day.

**Keywords:** mash, pellet, behaviour, beef cattle

## **USO DEL NITROGENO DE UREA EN SANGRE PARA EVALUAR EL NIVEL DE PROTEÍNA DE LAS RACIONES DE TERNEROS DE ENGORDE**

Costa, S., Ventura, G., Balcells, J., Mora, J., Cortes-Lacruz, X., de la Fuente, G. y Villalba, D. Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Lleida. [dvillalba@ca.udl.cat](mailto:dvillalba@ca.udl.cat)

### **INTRODUCCIÓN**

La optimización de los niveles de proteína que se incluyen en las raciones de los animales de renta aparece como una necesidad por dos razones principales: la reducción de la contaminación ambiental que provoca el estiércol, y la reducción de los costes de alimentación. En el plano ambiental, la producción de rumiantes es considerada una fuente de contaminación a escala mundial, tanto por su contribución a la emisión de gases de efecto invernadero (metano y óxido nítrico) (Opio et al., 2013) como por la eutrofización de agua y suelo debida al exceso de N y P liberados al medio, ya que ambos elementos son utilizados de manera muy ineficiente por el ganado. En cuanto al plano económico, las fuentes de proteína que se utilizan en alimentación animal son uno de los componentes que encarecen más las raciones de terneros. La predicción inexacta de las necesidades de proteínas degradables y no degradables, que lleva a una sobrealimentación en la dieta de N (Sinclair et al., 2014) es una de las causas que se pueden relacionar directamente con las emisiones de NH<sub>3</sub> a partir del estiércol del ganado. Los niveles de nitrógeno de urea en sangre (BUN) pueden ser utilizados para medir el estado proteico en vacuno (Hammond, 2006). En este trabajo se analizan los BUN de diferentes engordes comerciales de vacuno de carne para hacer una primera aproximación al ajuste de las raciones aportadas a las necesidades de los animales.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se disponía de la información de 17 lotes de engorde comercial de terneros procedentes de 6 granjas diferentes (entre 1 y 6 lotes por granja). Cuatro lotes engordaban hembras, dos machos y hembras, y el resto machos. En cuanto a la raza, 11 lotes eran de Holstein, 4 cruces de Charolais o Limousin por Avileña, y 2 de Limousin por Bruna dels Pirineus. Los lotes tenían diferentes sistemas de alimentación, 7 con pienso y paja a libertad, 5 con pienso y un forraje (silo de maíz, silo de alfalfa o heno de alfalfa) a libertad, y 5 con mezclas completas (unifeed). Se analizó el contenido en proteína bruta sobre materia seca (PB) de todos los piensos, forrajes y mezclas unifeed. El consumo de cada uno de los componentes de la ración se conocía a nivel de lote. A partir del consumo y el contenido de proteína se calculó el porcentaje de proteína de la ración media ingerida por el lote (mínimo 11,4% PB en uno de los lotes unifeed y máximo 16,7 PB en un lote de pienso y paja).

En cada lote se muestrearon entre 3 y 28 animales, y de cada animal se disponía de su peso vivo (PV) y ganancia media diaria (GMD; a partir de pesadas quincenales) y de entre 1 y 7 muestras (periodicidad quincenal) de sangre. El peso de los animales muestreados fue entre 165 y 565 kg con edades entre los 180 y 320 días de vida. Las muestras de sangre se extrajeron de la vena coccígea en tubos con heparina y se conservaron a 4°C hasta la llegada al laboratorio, donde se centrifugaron a 1.500 x g durante 20 min a 4°C y se congelaron a -20°C hasta su análisis con la técnica urea/glutamato deshidrogenasa mediante un analizador automático (GernonStar; RAL/TRANSASIA, Dabhel, India). En total, la base de datos consistía en 510 datos de BUN procedentes de 216 animales.

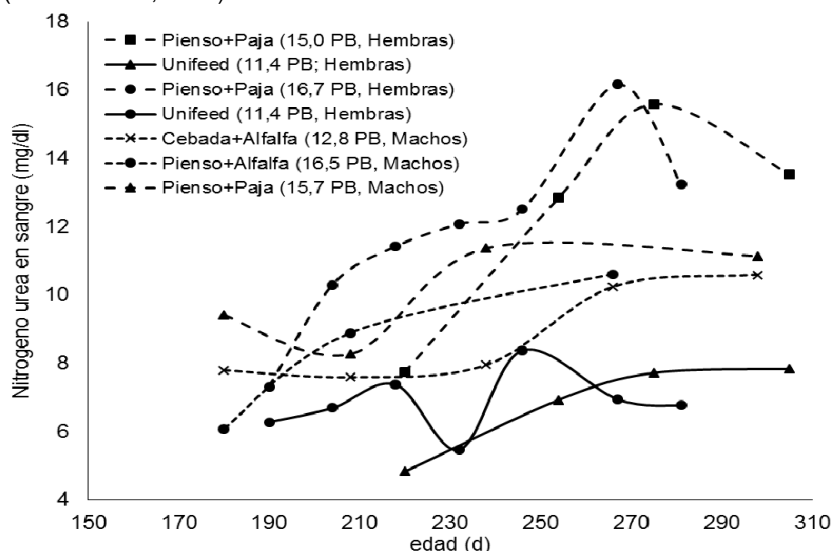
Los resultados de BUN (mg/dl) se analizaron estadísticamente utilizando un modelo mixto. El lote se consideró como un efecto aleatorio y, además, para tener en cuenta las medidas repetidas entre animales también se incluyó el efecto animal como aleatorio. La raza y el sexo se consideraron efectos fijos y el PV y la GMD covariables lineales. El modelo se solucionó mediante el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EEUU). Los valores medios de BUN por lote se relacionaron con la proteína de la ración mediante una regresión lineal utilizando ponderada con el número de animales muestreados en cada lote utilizando del procedimiento GLM del SAS.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los niveles de BUN en el conjunto de terneros analizados se situaron entre 3,7 y 21,0 mg/dl con una mediana de 8,9, una media de 9,5 y una desviación típica de 3,51 (CV=37%). Según Hammond (2006) los valores de BUN inferiores a 10 mg/dl (o 3,6 mmol urea/l)



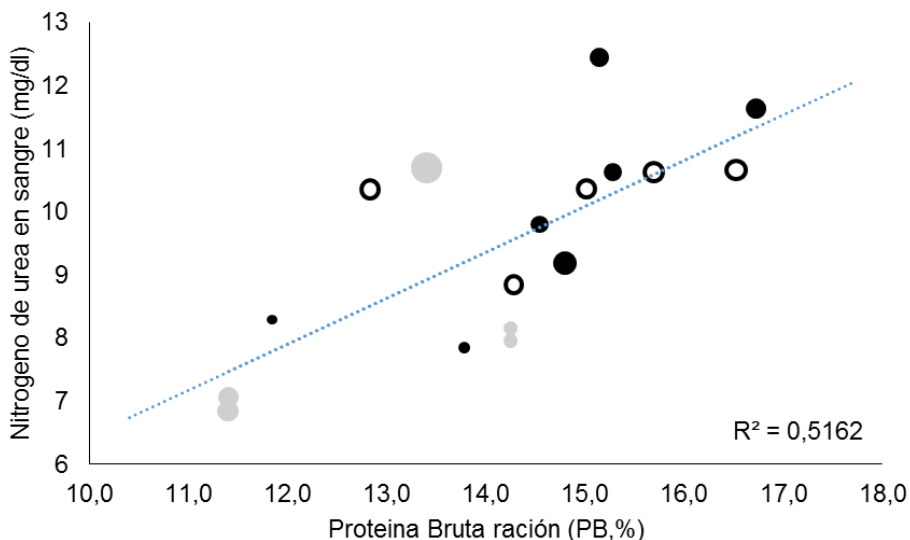
indicarían que los niveles de proteína degradable efectiva en el rumen son los adecuados. Aproximadamente un 40% de las muestras se encuentran por encima de ese valor. El nivel de BUN varía con la edad. En la figura 1 se presentan los valores de BUN de siete lotes en los que se disponía de más de 3 muestras por animal seriadas en el tiempo. En los lotes con menor nivel de proteína el BUN se mantiene en valores por debajo de 10 mg/dl mientras que, en los que tienen mayores niveles de proteína, el BUN tiene un incremento con la edad, pasando de unos 8 a 10 mg/dl a los 6 meses de edad a 14 a 16 mg/dl a los 9-10 meses. En referencias de machos castrados los máximos crecimientos se asocian con niveles de BUN entre 11 y 15 mg/dl en crecimiento (Byers y Moxon, 1980) y entre 7 y 8 mg/dl en acabado (Preston et al., 1978).



**Figura 1.** Evolución con la edad de la media de niveles de nitrógeno de urea en sangre (mg/dl) de diferentes lotes de terneros con raciones y niveles de proteína diferentes.

Los resultados del análisis estadístico mostraron que ni la covariable GMD ( $P=0,6206$ ) ni la raza ( $P=0,79$ ) explicaron el nivel de BUN. En cuanto al sexo, los machos tuvieron un mayor nivel de BUN ( $+5,92 \pm 1,70$  mg/dl;  $P=0,0006$ ), lo que se podría explicar por una mayor reciclaje de la proteína que se da en este sexo (Owens et al., 1995). Los niveles de BUN estaban afectados por el PV ( $P<0,0001$ ), aumentando 3,9 mg/dl por cada 100 kg de peso de los animales. A partir de las soluciones del modelo mixto planteado se obtuvieron los valores BUN corregidos (por los efectos fijos) medios de los diferentes lotes estudiados. En la figura 2 se presenta el nivel de BUN corregido medio de cada lote en función de la PB de la ración consumida. La relación entre BUN (mg/dl) y PB (%) fue estadísticamente significativa, con un coeficiente de regresión de  $0,70 \pm 0,18$  mg/dl por cada unidad de incremento de la PB de la ración ( $p=0,0017$ ). Este valor es inferior al descrito por Johnson y Preston (1995) que obtuvieron un incremento de 1,5 mg/dl por cada unidad de PB.

En estudios detallados del engorde de terneros alimentados con pienso y paja, Devant et al. (2000) ya demostraron que había un margen de reducción de los niveles de proteína de las raciones, pero en muchos de los lotes estudiados, especialmente en animales en la fase de acabado, parece haber un exceso en la proteína de las raciones comerciales. El BUN puede ser una metodología para evaluar el ajuste de la ración a las necesidades de los animales, especialmente si se considera que según Valkeners et al. (2008), las variaciones de BUN en las 12 h post alimentación son pequeñas, e incluso inexistentes, lo que permite la simplificación del muestreo en granjas comerciales.



**Figura 2.** Relación entre la proteína bruta de la ración (%) y el nivel medio de nitrógeno de urea en sangre (mg/dl) en diferentes lotes de animales. El tamaño del círculo indica el número de animales en cada lote. Raciones unifed (●), pienso y paja (●) y pienso y forraje de calidad (○).

**Agradecimientos:** A la Cooperativa de IVARS, Carns Sargaire y Bovcat. Financiación de INIA (RTA2014-00039-C02). Jesús Mora disfruta de una beca Universidad de Lleida.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Byers, F. M., y A. L. Moxon. (1980.) J. Anim. Sci 50 (6): 1136-44.
- Devant, M., et al. (2000). J. Anim. Sci., 78, 1667-1676.
- Hammond, A. C. (1997) En Proc. Florida Ruminant Nutr. Symp., Univ. Florida, Gainesville, 43-52.
- Johnson, J. W., y R. L. Preston. (1995) Texas Tech Univ. Tech. Rep. T 5-356:62.-63.
- Opio et al. (2013) FAO, Rome.
- Owens, et al. (1995) J.Anim. Sci. 73 (10): 3152-72.
- Preston et al. (1978). J. Anim. Sci. 46:541-546.
- Sinclair et al. (2014) Animal 8: 262-274.
- Valkeners et al. (2008) J. Anim. Sci. 86 (3): 680-90.

#### USE OF BLOOD UREA NITROGEN FOR EVALUATING PROTEIN LEVELS IN BEEF FATTENING DIETS

**ABSTRACT:** Data from 216 calves (males and females) sampled at 17 commercial fattening batches under different diets (concentrate+straw, concentrate+silage, total mixed ration) was used to check the use of blood urea nitrogen (BUN) to evaluate the fit between protein requirements and protein content in diet. Forty per cent of the samples were above the optimal range of BUN proposed by bibliography. Calves at 6 months of age had lower BUN than at 10-11 months at higher weights. Sex (+5.7 mg/dl for males) and weight (3.9 mg/dl per 100 kg of weight) showed a significant effect on BUN level. Effect neither of average daily gain, nor of breed on BUN was found. At a batch basis, an increase of one unit in crude protein supposed 0.70 mg/dl increase in BUN. There is room, at a commercial level, to reduce levels of protein in finishing period.

**Keywords:** Urea, calves, protein, excess.

# *Reproducción*



## SELECCIÓN DE OÓCITOS DE GATO DOMÉSTICOS UTILIZANDO EL BRILLIANT CREASYL BLUE (BCB) PARA MEJORAR EL DESARROLLO EMBRIONARIO IN VITRO

Piras<sup>1</sup>, A.R., Ariu<sup>1</sup>, F., Pau<sup>1</sup>, S., Zedda<sup>1</sup>, M.T., Paramio<sup>2</sup>, M.T., Bogliolo<sup>1</sup>, L.

<sup>1</sup>Departament de Medicina Veterinària, Universidad de Sassari, Sassari. Italia.

<sup>2</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona. España

Luis@uniss.it

### INTRODUCCIÓN

El gato doméstico es un modelo experimental importante para el desarrollo de las técnicas de reproducción asistida, dirigidas a la conservación de las especies de felinos en peligro de extinción (Pope, 2000; Gomez et al., 2003; Gomez et al., 2004; Lorthongpanich et al., 2004). Sin embargo, en la actualidad, la eficiencia de los sistemas para la producción in vitro de embriones (PIVE), utilizando oocitos madurados in vitro (MIV), sigue siendo insatisfactoria. La calidad de los oocitos es el factor más determinante en el éxito de la PIVE. El variable e imprevisible resultado en la PIVE es debido a la utilización de una población heterogénea de oocitos recogidos de folículos antrales en diferentes fases de crecimiento y atresia. Además, en gata diferentes estudios han mostrado un marcado efecto de la época del año sobre la calidad de los oocitos para ser madurados in vitro (MIV) y desarrollarse hasta blastocistos. Así los resultados de PIVE son mejores en época reproductiva (diciembre hasta junio) que en épocas desfavorables (Spindler y Wildt, 1999; Freistedt et al., 2001; Comizzoli et al., 2003). Actualmente, las técnicas convencionalmente utilizadas para seleccionar los oocitos más competentes para ser utilizados en los protocolos PIVE están basadas en la evaluación morfológica del complejo cumulus-ovocito.

Estudios recientes en diferentes especies animales (Rodríguez-González et al., 2001; Pujol et al., 2004; Alm et al., 2005; Wu et al., 2007; Ishizaki et al., 2009; Wang et al., 2012), han demostrado que el uso de la tinción con el creasyl azul brillante (BCB) para la selección de oocitos permite aumentar el desarrollo embrionario in vitro. El BCB es un colorante vital azul que se reduce por acción de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) convirtiéndose en un compuesto incoloro. La G6PDH es más activa en los oocitos en fase de crecimiento, que por lo tanto son incoloros después de la tinción con BCB (BCB -) en comparación con los oocitos que ya han alcanzado su crecimiento que tienen un citoplasma con coloración azul. En la actualidad todavía no se utiliza este método para la selección de los oocitos en la especie felina.

Con el fin de mejorar la producción in vitro de embriones durante la temporada no reproductiva, el objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de la prueba del BCB para la selección de oocitos de gata, mediante la evaluación del desarrollo embrionario in vitro después de MIV y FIV.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los ovarios se obtuvieron por histerectomía de gatas domesticas de edad comprendida entre los 8 meses y los 2 años durante la temporada no reproductiva (desde julio a noviembre). Los complejos cumulus-oocitos (COCs) se liberaron mediante slicing de los ovarios. Los oocitos clasificados de primer grado (por morfología y tamaño) se distribuyeron aleatoriamente en grupo de control (CTR, n=112) y grupo tratado con el BCB (n=356).

Los COCs se incubaron en BCB 13  $\mu$ M durante 45 minutos a 38.5°C con 5% de CO<sub>2</sub> y 100% de humedad. Posteriormente se clasificaron en BCB positivo (citoplasma azul) y BCB negativo (citoplasma incoloro). Los oocitos se maduraron en 650  $\mu$ L de medio de maduración (TCM 199 suplementado con 0.36mM piruvato, 2mM glutamina, 2.2 mM calcio lactato, 1.2mM cisteína, 4mg/mLBSA y FSH 1 IU/mL yLH 1 IU/mL) durante 24 horas a 38.5°C con 5% de CO<sub>2</sub> y 100% de humedad. Después de 24 horas de MIV, los oocitos se fecundaron con semen epididimal congelado de gato. Después de la descongelación los espermatozoides se seleccionaron mediante Swim-up. Los oocitos se fecundaron in vitro (FIV) con espermatozoides a una concentración de 5x10<sup>6</sup> esperm/mL en 450  $\mu$ L de medio SOF (suplementado con 6 mg/ml BSA, 100 IU/ml penicilina ,50  $\mu$ g/ml gentamicina) durante

22 horas a 38.5°C en un atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> y 100% de humedad. Los presuntos cigotos después de lavados y retirados los espermatozoides se cultivaron en 650 µL de medio de cultivo 1 (IVC-1) SOF suplementado con 4 mg/ml BSA, y 100 IU/ml penicilina durante 3 días. Seguidamente los embriones se transfirieron a 650 µL de medio IVC-2, SOF suplementado con 10% suero fetal de ternero (FCS) y 2% de MEM aminoácidos esenciales (EAA) a 38,5°C con 5% de CO<sub>2</sub> y 100% de humedad durante otros 4 días.

Los resultados de porcentajes de maduración, de división después de la fecundación y el porcentaje de oocitos que alcanzaron el estadio de blastocistos se analizaron con la prueba de chi-cuadrado (STATA/IC 11.0).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de la tinción con el BCB el 61,8% de los oocitos fue positivo a la tinción (BCB +). No se observaron diferencias estadísticas entre los BCB + y el grupo control en oocitos que alcanzaban la Metafase II después de 24h de MIV, mientras que el porcentaje de oocitos en MII del grupo BCB - (45,6%) fue significativamente menor en comparación con el grupo CTR y el BCB +.

Los porcentajes de división después de la FIV fueron significativamente menores ( $p < 0,05$ ) en grupo BCB - que en el grupo CTR y el BCB +. Se observó un aumento significativo ( $p < 0,05\%$ ) en la tasa de desarrollo a blastocisto de los oocitos BCB + (20%) en comparación con BCB - (7,3%) y el CTR (10,7%).

Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con los descritos en otras especies animales (Rodríguez-González et al., 2001; Pujol et al., 2004; Alm et al., 2005; Wu et al., 2007; Ishizaki et al., 2009; Wang et al., 2012) y muestran que también en la especie felina la tinción con el BCB permite seleccionar los oocitos más competentes.

De hecho, los datos de este estudio mostraron que la doble selección de oocitos por carácter morfológico más la tinción del BCB nos ha permitido aumentar el porcentaje de desarrollo embrionario hasta blastocito en estudios durante la estación no reproductiva, comparados con otros autores. Así, Spindler y Wildt (1999), por primera vez, mostraron el efecto de la época sobre la PIVE con unos porcentajes del 20% de oocitos de gata en MII y sin desarrollo hasta blastocisto en la época no reproductiva. Otros estudios también confirmaron este efecto estacional (Comizzoli et al., 2003) durante la temporada no reproductiva obteniendo un 8% de blastocistos con medio convencional de maduración in vitro. Estos autores también demostraron que el uso de antioxidantes y el aumento de las concentraciones de FSH en los medios MIV incrementaron en esta época del año, los oocitos que llegaron a MII y los que desarrollaron hasta blastocistos (desarrollo 17% a blastocisto).

Los porcentajes de desarrollo embrionario obtenidos en el presente trabajo utilizando los oocitos positivos al BCB son significativamente más altos que los reportados por Spindler y Wildt (1999) y por Comizzoli et al. (2003) utilizando los mismos medios de MIV y los medios MIV enriquecidos con FSH. En conclusión, en base a los datos de nuestro estudio, la selección mediante tinción con BCB antes de la MIV permite aumentar la eficiencia de la producción in vitro de embriones de la especie felina.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alm, H., Torner, H., Lohrke, B., Viergutz, T., Ghoneim, I.M., Kanitz, W. 2005. *Theriog.* 63: 2194–2205
- Comizzoli, P., Wildt, D. E., Pukazhenth, B. S. 2003. *Reprod.* 126: 809–816.
- Freistedt, P., Stojkovic, M., Wolf, E. 2001. *Biol. Reprod.* 65: 9–13.
- Gomez, M.C., Jenkins, J.A., Giraldo, A., Harris, R.F., King, A., Dresser, B.L., Pope, C.E. 2003. *Biol. Reprod.* 69: 1032–1041.
- Gomez, M.C., Pope, C.E., Giraldo, A., Lyons, L.A., Harris, R.F., King, A.L., Cole, A., Godke, R.A., Dresser, B.L. 2004. *Clo. Stem Cells* 6: 247–258.
- Ishizaki, C., Watanabe, H., Bhuiyan, M.M.U., Fukui, Y. 2009. *Theriog.* 72: 72–80.
- Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., Ketudat- Cairns, M., Likitdecharote, B., Parnpai, R. 2004. *Reprod Fertil Dev.* 16: 149–150.
- Pope, C.E. 2000. *Theriog.* 53: 163-174.
- Pujol, M., Lopez-Bejar, M., Paramio M.T. 2004. *Theriog.* 61 :735–744.
- Spindler, R.E.,

Wildt, D.E. 1999. Biol. Reprod. 61: 188–194. • Wang, L., Lin, J., Huang, J., Wang, J., Zhao, Y., Chen, T. 2012. J. Biomed. Biotechnol. 161372. • Wu, Y.G., Liu, Y., Zhou, P., Lan, G.C., Han, D., Miao, D.Q., Tan J.H., 2007. Cell Research. 17:722-731

**Tabla 1.** Efecto de la selección mediante BCB en oocitos de gata sobre la maduración nuclear (MII), la división de los oocitos y el desarrollo hasta blastocistos.

Clasificación de oocitos	Total N°.	Oocitos Metafase II N°. (%)	Oocitos Divididos N°. (%)	Blastocistos N°. (%)
BCB +	220	144(65,4%) <sup>a</sup>	63(28,6%) <sup>a</sup>	44(20%) <sup>a</sup>
BCB -	136	62 (45,6%) <sup>b</sup>	15(11,0%) <sup>b</sup>	10(7,3%) <sup>b</sup>
Control	112	67 (59,8%) <sup>a</sup>	32 (28,6%) <sup>a</sup>	12 (10,7%) <sup>b</sup>

Los valores con diferente letra en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

#### SELECTION OF DOMESTIC CAT OOCYTES USING THE BRILLIANT CREASYL BLUE (BCB) STAINING IMPROVES IN VITRO EMBRYO DEVELOPMENT

**ABSTRACT:** The brilliant cresyl blue (BCB) test determines the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH); the activity of this enzyme is greatest in growing oocytes, but it declines as oocytes grow. This non-invasive test was used in different species to select more competent oocytes. The aim of this study was to evaluate the usefulness of the BCB test selection of more competent domestic cat oocytes in order to improve the in vitro embryo production (IVEP) in non-breeding season. A total of 468 cumulus-oocyte complexes (COCs) were recovered, 112 of them were used as control and 356 COCs were stained with 13mM BCB for 45min. Oocytes with blue coloration of the cytoplasm were classified as BCB + and those without blue cytoplasm coloration were classified as BCB -. After BCB selection oocytes were matured, fertilized and cultured in vitro. The percentages of maturation and cleavage were (65,4%, 28,6%, respectively) for BCB + and (63,0%, 28,6%, respectively) for Control group significantly higher than for BCB - group (45,6%, 11,0%; respectively). Blastocyst rate was significantly higher for BCB + (20%) group compared to control (10,7%) and BCB - (7,3%) groups. In conclusion, the use of BCB allows us to select developmentally competent domestic cat oocytes increasing the *in vitro* embryo production

**Keywords:** domestic cat, oocytes, BCB, IVEP.

## CARACTERIZACIÓN MITOCONDRIAL DE OVOCITOS BOVINOS SELECCIONADOS MEDIANTE BCB

Lamas-Toranzo I, Pericuesta E, Bermejo-Álvarez P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto Reproducción Animal, INIA. Avda Puerta de Hierro 12 local 10, 28040 Madrid, España.  
borrilobermejo@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN

La maduración *in vitro* constituye el principal escollo para mejorar las tasas de producción de embriones *in vitro*. En este sentido, las tasas de producción de blastocistos fecundados y cultivados *in vitro* oscilan entre un 30 y 40 % cuando se emplean ovocitos madurados *in vitro*, mientras que empleando ovocitos madurados *in vivo* el porcentaje de blastocistos asciende hasta un 60 % (Rizos et al., 2002). Los ovocitos empleados para la maduración *in vitro* se seleccionan en base al tamaño folicular y a su morfología, parámetros que permiten excluir ovocitos atrésicos o en fases incipientes de desarrollo folicular, pero que no evitan la selección de ovocitos que no han completado su desarrollo folicular. La tinción vital de azul brillante de cresilo (BCB) permite seleccionar los ovocitos que han finalizado su crecimiento folicular en base a la actividad de la enzima G6PDH (Ericsson et al. 1993, Rodríguez-González et al. 2002, Alm et al. 2005). El método se basa en la degradación de la tinción BCB por la enzima G6PDH, cuya actividad es elevada en ovocitos en crecimiento (BCB-) y disminuye en aquellos que han finalizado su crecimiento (BCB+) y son más competentes para madurar.

Las mitocondrias son el orgánulo más abundante en el ovocito de los mamíferos (Van Blerkom et al 2000). Durante el crecimiento folicular el ovocito multiplica su número de mitocondrias y la cantidad de ADN mitocondrial (Cao et al 2007). Las mitocondrias presentes en el ovocito juegan un papel clave en distintos procesos como la fecundación o el metabolismo del embrión preimplantacional. En este sentido, se han asociado un bajo contenido en ADN mitocondrial a fallos en la fecundación (Reynier et al 2001). El objetivo de este estudio ha sido analizar las diferencias en distribución mitocondrial, cantidad de ADN mitocondrial, y expresión del factor de transcripción mitocondrial *TFAM* entre ovocitos BCB+ y BCB-.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los complejos cúmulo-ovocito (COCs) bovinos se obtuvieron de ovarios procedentes de matadero mediante la aspiración de folículos de un diámetro entre 2 y 8 mm. A continuación se seleccionaron los COCs de grado 1 en base a los criterios morfológicos establecidos por la IETS y se incubaron en una solución de 52  $\mu$ M BCB en PBS suplementado con BSA durante 90 minutos. Después de la incubación los COCs se dividieron en BCB+ (muestran una coloración azul) o BCB- (no muestran coloración).

En un primer experimento se evaluó la capacidad de desarrollo de los ovocitos BCB+ y BCB-. Para ello se llevó a cabo maduración, fecundación y cultivo *in vitro* con ovocitos BCB+ o BCB- siguiendo protocolos establecidos en el laboratorio (Bermejo-Álvarez et al 2010). Se anotó el porcentaje de división a las 48 horas postfecundación y el desarrollo a blastocisto en días 7, 8 y 9 en tres réplicas independientes.

Un segundo experimento consistió en la evaluación morfológica de los ovocitos BCB+ y BCB-. Para ello, inmediatamente después de la selección, se eliminaron las células del cúmulo mediante agitación en vortex durante 3 minutos en una solución de 300  $\mu$ g/ml de hialuronidasa en PBS. Los ovocitos desnudos (sin células del cúmulo) se observaron mediante un sistema de análisis de imagen compuesto por un microscopio invertido Nikon Eclipse y el software NIS, que permite realizar mediciones de tamaño en planos focales. Los parámetros analizados en 20 ovocitos por grupo fueron el diámetro del ovocito y el grosor de la zona pelúcida.

El tercer experimento analizó la distribución mitocondrial mediante microscopía confocal. Para ellos se incubaron 20 ovocitos desnudos por grupo en una solución con MitoTracker® Deep red FM 0,5  $\mu$ M en PBS, durante 30 minutos a 38,5°C. Posteriormente, se observaron en un microscopio confocal tomando z-stacks de 5  $\mu$ m.

El cuarto experimento evaluó el contenido en ADN mitocondrial mediante qPCR a tiempo real, amplificando una secuencia del gen mitocondrial *COX1*. Para ello se eliminó la zona pelúcida de los ovocitos desnudos BCB+ y BCB-, guardándolos individualmente a -80 °C



hasta ser analizados. Cada ovocito se digirió en 8  $\mu$ l de una solución de 100  $\mu$ g/ml de proteinasa K mediante incubación a 65 °C durante 1 h seguida de inactivación de la enzima a 95 °C durante 10 min. El lisado inactivado se utilizó como molde para la PCR a tiempo real siguiendo protocolos ya descritos (Bermejo-Álvarez et al 2008), analizando 20 ovocitos por grupo. El análisis de datos se llevó a cabo obteniendo la cantidad relativa a la media del grupo con menor contenido mediante el método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

El último experimento consistió en el análisis transcripcional de ovocitos y células del cúmulo procedentes de COCs BCB+ y BCB-. Los ovocitos se obtuvieron como se ha descrito anteriormente. Las células del cúmulo se obtuvieron mediante centrifugación del medio en el que se desnudaron los ovocitos. Se analizaron 5 grupos de 10 ovocitos y 5 grupos de células del cúmulo correspondientes a 10 COCs por cada grupo experimental. La extracción de ARN mensajero, retrotranscripción y análisis de la abundancia relativa mediante PCR a tiempo real se llevó a cabo como en Bermejo-Alvarez et al 2010, utilizando como gen de referencia *PPIA1*. Las diferencias estadísticas se analizaron mediante ANOVA ( $p < 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ovocitos BCB+ dieron lugar a mayores tasas de división embrionaria y desarrollo a blastocisto que los BCB- (Fig. 1A). La evaluación morfológica del tamaño no observó ninguna diferencia entre ovocitos BCB+ y BCB- (Fig. 1B), confirmando que ambas poblaciones no pueden distinguirse a simple vista en la selección convencional visual y en ambos casos se trata de ovocitos en un estadio folicular avanzado que han alcanzado su tamaño definitivo, aunque en el caso de los BCB- aún no han completado totalmente su desarrollo folicular.

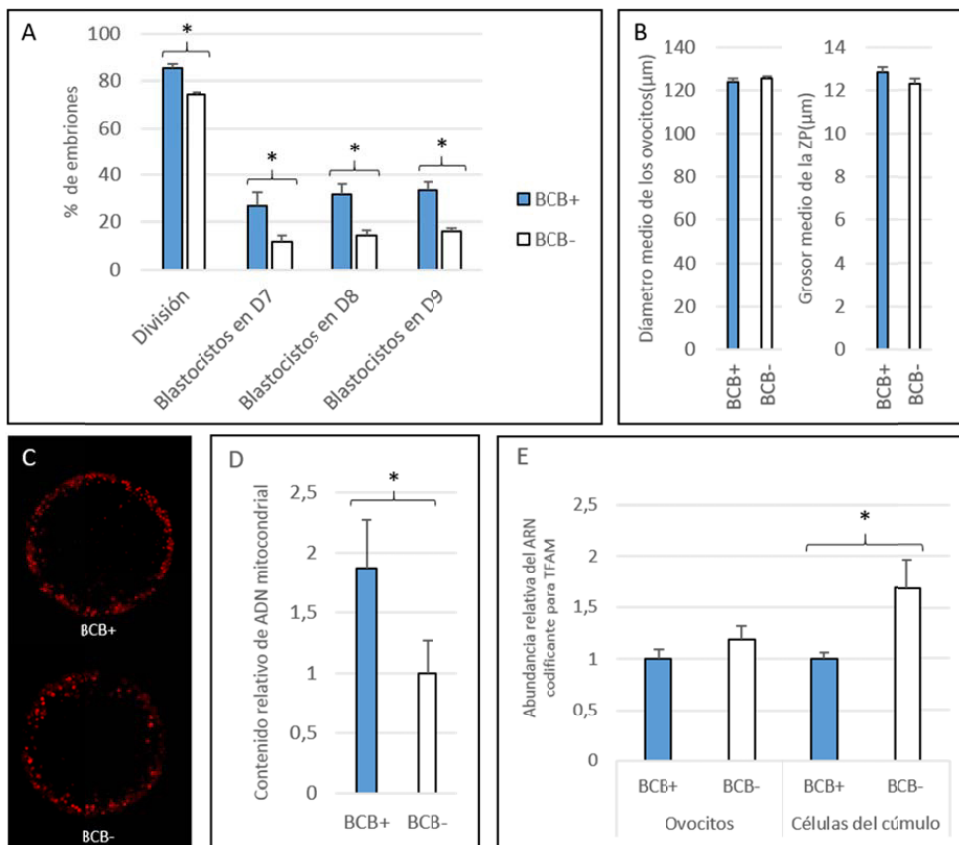
La distribución mitocondrial fue similar en ambos grupos, siendo claramente pericitoplásmica (Fig. 1C). Sin embargo, se observó que los ovocitos con una menor competencia (BCB-) tenían menor cantidad de ADN mitocondrial que los más competentes (BCB+) (Fig. 1D). La cantidad relativa de ARN mensajero del factor de transcripción mitocondrial *TFAM*, esencial para la replicación del ADN mitocondrial, fue similar en los ovocitos BCB+ y BCB-, pero fue significativamente superior en las células del cúmulo obtenidas de COCs BCB- (Fig 1E). La mayor actividad transcripcional de este gen en las células del cúmulo de COCs que aún no han completado totalmente su desarrollo folicular puede estar relacionado con el aumento en ADN mitocondrial que experimentan desde ese momento (BCB-) hasta completar su desarrollo (BCB+).

En conjunto, estos datos sugieren que en la última fase del desarrollo folicular, donde los ovocitos ya tienen el tamaño definitivo pero aún no han alcanzado la competencia de desarrollo definitiva, tiene lugar una amplificación del ADN mitocondrial que puede ser la responsable de las menores tasas de desarrollo obtenidas con ovocitos BCB-.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alm et al. 2005 Theriogenology 63:2194-2205.
- Bermejo-Alvarez et al 2008 Physiol Genomics 32(2):264-272.
- Bermejo-Alvarez et al 2010 Reprod Biomed Online 20(3):341-349.
- Cao et al 2007 Nat Genet 39:386-390.
- Ericsson et al. 1993 Theriogenology 39:214.
- Rodríguez-González et al. 2002 Theriogenology 57(5):1397-1409.
- Reynier et al 2001 Mol Hum Reprod 7:425-429.
- Rizos et al. 2002 Mol Reprod Dev 61:234-248.
- Van Blerkom et al. 2000 Hum Reprod 15(Suppl.2):173-188.

**Agradecimientos:** Los experimentos se han llevado a cabo gracias a la financiación de los proyectos del Ministerio de economía RYC-2012-10193 y AGL2014-58739-R. Ismael Lamas Toranzo está financiado por un contrato FPI.



**Figura 1.** Diferencias de desarrollo, morfológicas y mitocondriales entre ovocitos BCB+ y BCB- bovinos: A) Porcentajes de división y desarrollo a blastocisto; B) Diámetro del ovocito y grosor de la zona pelúcida; C) Imagen confocal representativa de la distribución mitocondrial pericitoplásmica obtenida en ambos grupos; D) Contenido relativo de ADN mitocondrial en ovocitos; E) Abundancia relativa del ARN codificante para TFAM en ovocitos y células del cúmulo.

### MITOCHONDRIAL CHARACTERIZATION OF BCB-SELECTED BOVINE OOCYTES

**ABSTRACT:** Brilliant cresyl blue (BCB) staining allows to sort oocytes that have finished their follicular development (BCB+) based on G6PD activity. The aim of this study has been to characterize BCB+ and BCB- bovine oocytes, preselected based on morphological criteria, in terms of developmental competence, size, mitochondrial distribution, mtDNA quantification and expression of the mtDNA transcription factor *TFAM*. The *in vitro* developmental competence following IVF, measured as cleavage rate and blastocyst yield on D7, 8 and 9, was significantly higher for BCB+ oocytes compared to BCB-. Oocyte diameter and zona pellucida thickness were similar in both groups, suggesting that although BCB- oocytes have not completed follicular development, they have reached the final size. Mitochondrial distribution, analysed by confocal imaging and Mitotracker deep red, was pericentriolar in all oocytes analysed in both groups. mtDNA content, measured by qPCR, was significantly higher in BCB+ oocytes, suggesting that mtDNA replicates at the final stage of follicle development, after the oocytes have reached their final size. In agreement, the expression of *TFAM*, involved in mtDNA replication, was significantly higher in cumulus cells from BCB- oocytes.

**Keywords:** BCB, oocyte competence, mitochondria, follicular growth.

## **PRODUCCIÓN IN VITRO DE EMBRIONES CAPRINOS MEDIANTE INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES DE OOCITOS PREPÚBERES Y SU RELACIÓN CON LA CAPACITACIÓN SEMINAL**

Menéndez-Blanco, I., Soto, S., Català, M. G., Roura, M., 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

### **INTRODUCCIÓN**

La producción de pequeños rumiantes es una importante actividad comercial en España que se encuentra en auge dado el interés actual en la producción de leche de especies caprinas y ovinas. La producción in vitro de embriones (PIVE) puede ser una tecnología de gran interés para mejorar las propiedades genéticas de los rebaños. Además la PIVE tiene grandes aplicaciones biotecnológicas y en el investigación de la transgénesis (Revisado por Paramio e Izquierdo, 2014). La calidad del oocito es un factor primordial para el éxito de la PIVE, tanto de los embriones producidos mediante Fecundación in vitro (FIV) como por Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI). Existen distintas metodologías para producir embriones por ICSI. En nuestro laboratorio con oocitos de caprino Jiménez-Macedo et al. (2005) concluyó que el sistema más adecuado era preparar los espermatozoides mediante swim-up en medio mDM y su posterior incubación con heparina y una vez inyectado, activar el oocito con DMAP e ionomicina. Estudios recientes como el de Anzalone et al. (2016), realizada con la especie ovina, demuestran el efecto que tiene la capacitación de los espermatozoides antes de la ICSI sobre el desarrollo embrionario. La fosforilación de la tirosina es un evento clave para la evaluación de la capacitación seminal en la especie caprina. La localización de la fosforilación de la tirosina es también un factor muy importante. En espermatozoides de rata la fosforilación en la zona acrosomal es característica de espermatozoides inmaduros (Chatterjee et al. 2010) y el marcaje del flagelo en numerosas especies denota hipermotilidad. A su vez el subsegmento ecuatorial, definido como un área rica en tirosina fosforilada, ha sido propuesto como un centro organizador involucrado en la fusión de los gametos (Jones et al. 2008). El objetivo del presente trabajo es estudiar con oocitos de cabras prepúberes el efecto de distintos tratamientos de capacitación de semen fresco sobre la formación del pronúcleo masculino después de la ICSI.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los ovarios de cabras prepúberes fueron recogidos del matadero. Los oocitos fueron obtenidos mediante el método de slicing en medio TCM199 con heparina a una concentración de 0.1g/L y antibiótico-antimicótico al 2% (Invitrolife). Los oocitos seleccionados se incubaron en gotas de 100 µl de medio BO-IVM (IVF Bioscience; BO-IVM, UK) cubiertas con aceite mineral a 38.5% en atmósfera húmeda y 5% CO<sub>2</sub> durante 26 horas. El semen fresco se obtuvo mediante vagina artificial de machos con fertilidad probada. El semen fue seleccionado con la ayuda de un gradiente de densidad comercial (Ovipure gradiente de densidad; NIDACON EVB S.L, Barcelona, España) con una centrifugación de 25 minutos a 300 g. Una vez seleccionados los espermatozoides más viables, que se encuentran en el fondo del tubo, se formaron 2 grupos experimentales. Grupo 1: los espermatozoides seleccionados por el gradiente se prepararon directamente para la ICSI. Grupo 2: Los espermatozoides seleccionados son capacitados mediante su incubación con 10µM de heparina y 200nM de ionomicina durante 20 minutos a 38.5% en atmósfera húmeda y 5% CO<sub>2</sub>. Para llevar a cabo la ICSI los oocitos, después de la MIV, fueron desnudados mediante pipeteo y aquellos con visualización del Corpúsculo Polar fueron seleccionados para la ICSI. Estos oocitos se colocaron en una gota de 10 µl de BO-IVF (IVF Bioscience; BO-IVF, UK) para ser microinyectados. Una pequeña cantidad de espermatozoides se transfirió a una gota de 3 µl de SpermSlow™ médium (Origio, Denmark). Un sólo espermatozoide seleccionado en la gota de SpermSlow™ es inyectado en cada uno de los oocitos maduros. Se utilizó un grupo inyectado sin espermatozoides (grupo SHAM) como grupo control. Tras la microinyección los oocitos fueron lavados en

medio BO-IVC (IVF Bioscience; BO-IVC, UK) y fueron cultivados en ese mismo medio en microgotas de 10µl, con un máximo de 10 oocitos por gota, a 38.5% en atmósfera húmeda, 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> y 90% N<sub>2</sub>. Después de 17 horas de cultivo, los presuntos cigotos fueron teñidos con Hoechst 33342 (Invitrogen) al 1% en etanol durante un mínimo de 3h en oscuridad a 4°C y fueron visualizados en el microscopio a 460nm para observar el estado nuclear. Los presuntos cigotos se clasificaron en 4 grupos: Sin pronúcleos (SP) cuando se observaba la metafase y la cabeza intacta del espermatozoide; con pronúcleo femenino (PF) cuando se observaba un pronúcleo femenino con la cabeza sin descondensar del espermatozoide; pronúcleo masculino (PM) cuando se observaba la metafase y un pronúcleo junto a la cola del espermatozoide; con pronúcleos femenino y masculino (P2) cuando se observan 2 pronúcleos. Se analizaron los distintos patrones de capacitación de los espermatozoides antes de la ICSI, mediante la inmunolocalización de la fosforilación de la tirosina siguiendo el protocolo descrito por Luño et al. 2013. Las muestras se bloquearon en PBS con BSA a una concentración de 0.4%. Se utilizó Rabbit anti-mouse IgG Fc (Thermo Fisher) como anticuerpo secundario a una concentración 1:200. La clasificación de los distintos patrones se lleva a cabo según la localización de la fosforilación en distintas áreas del espermatozoide. Patrón I; capacitación baja: señal en zona acrosomal. Patrón II; capacitación media: señal en subsegmento ecuatorial. Patrón III; capacitación alta: señal tanto en la zona acrosomal como en el subsegmento ecuatorial. Todos los patrones pueden ir acompañados del marcaje del flagelo. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA con el procedimiento de modelos lineales (GLM) del paquete estadístico SAS (versión 9.4; SAS Institute Inc., EE.UU.). Las medias fueron comparadas con LSMEAN y ajustadas por TUKEY.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, que recoge el efecto de los distintos tratamientos espermáticos previos a la ICSI, se observa un mayor porcentaje de espermatozoides altamente capacitados en el grupo 2 (P<0,05). En la tabla 2 se observa el estadio de los pronúcleos masculino y femenino de 85 cigotos procedentes de ICSI. En estos cigotos se observa que más de la mitad presentan los 2 pronúcleos desarrollados lo que indicaría la correcta formación del cigoto. En el resto de los cigotos se observa un mayor porcentaje con el pronúcleo femenino formado (PF) que cigotos con el masculino formado (PM). El resto de los cigotos no han formado ninguno de los dos pronúcleos, observándose la metafase II del oocito y la cabeza del espermatozoide. 15 oocitos inyectados sin espermatozoide (Sham) fueron empleados para hacer un control de la técnica y en todos se observó la metafase II. Con estos resultados podemos concluir que los tratamientos de capacitación de los espermatozoides previos a la ICSI no tienen ningún efecto sobre la formación del pronúcleo masculino, ni sobre la formación de cigotos normales. En consecuencia podríamos deducir que la ICSI nos permitiría realizar estudios de competencia del oocito para su desarrollo in vitro sin interferencias con la variable espermática.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Anzalone, D. et al. 2016. *J. Assist. Reprod. Genet.* 33(6), 757–763. • Chatterjee, M. et al. 2010. *Mol. Cell. Biochem.* 336(1–2), 39–48. •Jiménez-Macedo, A. R. et al. 2005. *Theriogenology.* 64(6), 1249–1262. • Jones et al. 2008. *Biol. Reprod.* 79; 421-431. • Luño, V. et al. 2013. *Reproduction.* 146:315–24. •Paramio, M., e Izquierdo, D. 2014. *Reprod. Dom. Anim.* 49 (Suppl. 4), 37–48.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2014-52408-R y una beca predoctoral concedida a Irene Menéndez Blanco por el Ministerio de Educación Cultura y Deporte de España (Referencia: FPU15/00773).

**Tabla 1.** Efecto de los distintos tratamientos de los espermatozoides antes de la ICSI sobre el patrón de fosforilación de la tirosina en semen caprino.

Tratamiento	N	Patrón I	Patrón II	Patrón III
Grupo 1	600	5.67±4.04	58.17±4.91 <sup>a</sup>	36.17±2.09 <sup>a</sup>
Grupo 2.	600	1.50±0.29	30.17±2.05 <sup>b</sup>	68.34±1.96 <sup>b</sup>

Los porcentajes están representados como  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ . Los valores con diferente letra en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0,05$ ). Los grupos 1 y 2 corresponden a los distintos tratamientos del semen.

**Tabla 2.** Evaluación del estado nuclear de los presuntos cigotos 17 horas post-inyección.

Tratamiento	N	SP	PM	PF	P2
Grupo 1	41	13.45±8.48	2.85±2.85	19.35±8.26	64.34±6.43
Grupo 2.	44	32.20±4.93	2.22±2.22	5.81±3.96	59.76±3.87

Los porcentajes están representados como  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ . Los grupos 1 y 2 corresponden a los distintos tratamientos del semen. SP: Sin pronúcleos; PF: pronúcleo femenino; PM: pronúcleo masculino; P2: formación ambos pronúcleos.

#### IN VITRO EMBRYO PRODUCTION OF EMBRYOS FERTILIZED BY INTRACYTOPLASMATIC SPERM INJECTION (ICSI) WITH OOCYTES FROM PREPUBERTAL GOATS AND ITS RELATION TO SPERM CAPACITATION.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to evaluate the effect of different sperm capacitation treatments on the development of male pronuclei in prepubertal goat oocytes fertilized by ICSI. We studied the expression of different tyrosine phosphorylation patterns in two groups of sperm treatment. In the first group sperm was selected by a commercial density gradient and in the second group sperm were also incubated with 10  $\mu\text{M}$  heparin and 200nM ionomycin. Before ICSI, prepubertal goat oocytes were IVM in BO-IVM (IVF Bioscience; BO-IVM, UK) for 26h. After maturation, oocytes with Polar Body were fertilized by ICSI with spermatozoa from both treatments. Results showed differences in the level of capacitation of both sperm treatment groups. Group 2 showed more pater III (high capacitation level) sperm than group 1 (68.34% vs. 36.17% respectively;  $P < 0,05$ ). 85 presumptive zygotes were assessed by Hoechst to analyze the pronuclei formation. Any differences were found regarding nuclear stages of zygotes produced by ICSI with two different sperm treatment. In both groups more than 50% of the zygotes were able to form both pronuclei. In conclusion, the sperm treatments have affected the capacitation parameters but these changes have not affected the pronuclear formation of ICSI derived zygotes.

**Keywords:** goat; oocyte; ICSI; sperm.

## DESARROLLO DE UN MODELO EN 3D PARA ESTUDIAR LA INTERACCIÓN ENTRE GAMETOS

Hamze<sup>1</sup>, J.G., Canha<sup>2</sup>, A., Zamorano<sup>1</sup>, L., Algarra<sup>1</sup>, B., Olivares<sup>3</sup>, M.C., Romar<sup>2</sup>, R., Jimenez-Movilla<sup>1</sup>, M.

<sup>1</sup>Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia. IMIB. Edificio LAIB. Crta. Finca Buenavista s/n, 30120. El Palmar. Murcia. España.

<sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, 30071 Campus Espinardo, "Campus Mare Nostrum". IMIB. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB. España.

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia. IMIB. España  
mariajm@um.es

### INTRODUCCIÓN

La zona pelúcida (ZP) es una matriz extracelular glicoproteica que rodea al ovocito, está formada por 3 o 4 proteínas (ZP1; ZP2; ZP3 y ZP4) y participa en el reconocimiento entre gametos. Recientemente en la especie de ratón se ha descrito que el procesamiento de la ZP2 en su extremo N-terminal (LADEN) participa en este proceso (Avella M *et al.*, 2014), pero no sabemos si estos resultados pueden ser trasladados a otras especies puesto que este proceso es altamente especie-específico.

Los mecanismos actuales para estudiar la interacción entre gametos implican el empleo de un gran número de animales de laboratorio, un alto coste de producción y manutención de organismos modificados genéticamente y además resulta difícil trasladar los resultados obtenidos de una especie a otra distinta. Además, para el estudio del reconocimiento entre gametos existe un factor muy limitante en la mayoría de especies que es la obtención del gameto femenino. Para ello se requiere el sacrificio o intervención del animal en muchas ocasiones.

Por otro lado, a nivel europeo existen diferentes acciones que contribuyen a la disminución progresiva y sustitución del uso de animales en investigación. La directiva 2010/63/UE hace referencia al principio de reemplazo, reducción y refinamiento (3R) según el cual se debe evitar o sustituir en la medida de lo posible el uso de animales en investigación, utilizar el mínimo número posible y minimizar el dolor y la angustia, así como mejorar el bienestar de los animales utilizados.

Con este trabajo lo que proponemos es un modelo 3D que imite la forma del ovocito mediante la conjugación de las proteínas recombinantes de la ZP porcina a esferas magnéticas. Este modelo permitirá el estudio *in vitro* de la interacción entre gametos, la identificación y caracterización de la actividad de las proteínas que conforman la ZP, además del estudio de las condiciones fisiológicas de los espermatozoides en el momento del reconocimiento con el óvulo. El desarrollo de este modelo puede ser muy ventajoso ya que, una vez comprobada la idoneidad del ensayo, este sería fácilmente trasladable a otras especies.

El modelo propuesto podría utilizarse en el futuro no sólo como modelo para estudiar la interacción entre gametos evitando el uso de animales, sino también como método *in vitro* de selección espermática.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las proteínas recombinantes de la ZP porcina (ZP2, ZP3 y ZP4) se expresaron en células de mamífero (células CHO, Chinese Hamster Ovary). Una vez secretadas fueron identificadas mediante electroforesis y Western Blot. Cada proteína posee una secuencia que permite detectarla con anticuerpos específicos (Flag para ZP2, HA para ZP3 y V5 para ZP4) además de una cola de residuos de histidina que permite su conjugación a las esferas magnéticas (His Mag Sepharose™ Excel). Las esferas magnéticas poseen un diámetro similar al ovocito (65 µm).

Las esferas magnéticas conjugadas con las distintas proteínas fueron co-incubadas durante 2 horas con espermatozoides porcinos en medio TALP con una concentración

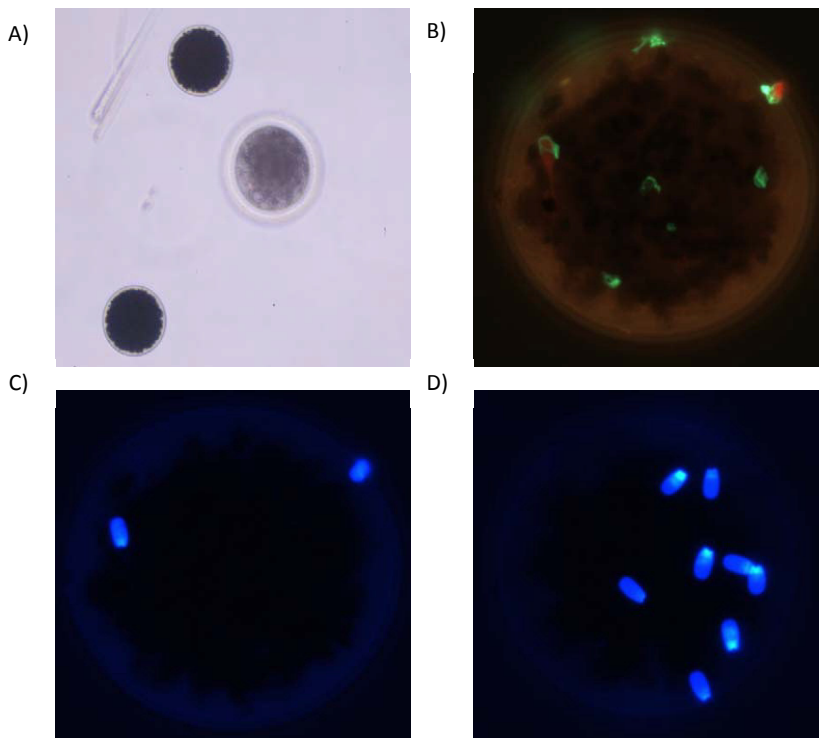
final de 200.000 espermatozoides/mL. Tras el periodo de incubación, las esferas se lavaron en TALP y PBS, y se fijaron. Una vez fijadas se evaluó las condiciones fisiológicas de los espermatozoides; como capacidad de unión, viabilidad y estatus acrosómico mediante las tinciones con Hoechst, PNA y yoduro de propidio (triple tinción) para finalmente ser observadas mediante microscopía de fluorescencia.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las proteínas recombinantes expresadas en células CHO (ZP2, ZP3 y ZP4) se identificaron mediante electroforesis y Western Blot obteniendo pesos moleculares de 100 kDa, 55 kDa y 65 kDa respectivamente. La adhesión de estas proteínas a las esferas magnéticas fue confirmada por Western Blot.

Tras la co-incubación de las esferas con los espermatozoides, estos fueron evaluados mediante microscopía fluorescente pudiendo diferenciar claramente los patrones de tinción establecidos; unidos a las esferas, espermatozoides reaccionados y no reaccionados. Con este experimento se determinó que el 78,93% de los espermatozoides unidos a las esferas eran evaluables.

Con este nuevo modelo se pueden realizar nuevos estudios moleculares y fisiológicos que ayuden a entender el proceso de interacción entre la zona pelúcida y los espermatozoides y a la vez evaluar la fisiología y calidad espermática sin la necesidad de sacrificar animales para la obtención del gameto femenino.



**Figura 1.** Esferas magnéticas vistas al microscopio. A) Esferas magnéticas y ovocito en campo claro. B) Esfera magnética con espermatozoides porcinos teñidos con PNA y yoduro de propidio. C y D) Esferas magnéticas con espermatozoides teñidos con Hoechst.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avella, M.A., Baibakov, B., Dean, J. 2014. J Cell Biol. 205(6):801-809.

**Agradecimientos:** MINECO y FEDER (AGL2015-70159-P). Fundación Séneca-Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia, “Jóvenes Líderes en Investigación” (18937/JLI/13).

### DEVELOPMENT OF A 3D MODEL TO STUDY GAMETE INTERACTION

**ABSTRACT:** Obtaining porcine ZP recombinant proteins in mammalian cells (CHO) and conjugate them with Ni<sup>+2</sup> magnetic beads allow us to mimic the shape of the oocyte generating different 3D models. These models can help us to study gamete interaction in depth as well as what happen at a physiological level to sperm that is bound to the beads.

**Keywords:** zona pellucida, sperm, magnetic beads, porcine



## LOCALIZACIÓN DE HAPTOGLOBINA EN EL OVIDUCTO PORCINO Y SU EFECTO EN LA FECUNDACIÓN *IN VITRO*

López-Úbeda<sup>1,2,3</sup>, R., Soriano-Úbeda<sup>2,4</sup>, C., Matás<sup>2,4</sup>, C., García-Vázquez<sup>2,4</sup>, F.A., Avilés<sup>1,2</sup>, M., Guillén-Martínez<sup>1,2</sup>, A. y Izquierdo-Rico<sup>1,2</sup>, M.J.

<sup>1</sup>Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, *Campus Mare Nostrum*, 30100, Murcia. <sup>2</sup>IMIB-Arrixaca (Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria), Murcia. <sup>3</sup>FFIS (Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia). <sup>4</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, *Campus Mare Nostrum*, 30100, Murcia.

[mjoseir@um.es](mailto:mjoseir@um.es)

### INTRODUCCIÓN

La haptoglobina (Hp) es una proteína de fase aguda, que recientemente ha sido identificada en diferentes regiones del tracto reproductor de mamíferos, incluyendo útero de conejo (Olson *et al.*, 1997), endometrio humano (Berkova *et al.*, 2001), testículos y ovarios de rata (O'Bryan *et al.*, 1997) y útero y ovario de ratón (Friedrichs *et al.*, 1995). En un estudio anterior, nuestro laboratorio describió la presencia de ARNm de Hp en el oviducto porcino durante las distintas fases del ciclo estral (Ramón *et al.*, 2012). La presencia de Hp, en ausencia de inflamación, en los distintos órganos reproductivos de mamíferos y concretamente en el microambiente que rodea los gametos durante su paso por el oviducto, podría indicar un papel potencial de la Hp en los eventos reproductivos.

El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia y distribución de la Hp en el oviducto porcino durante la fase postovulatoria y analizar su posible efecto en un sistema de fecundación *in vitro* (FIV).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención y procesado de los oviductos: Los oviductos procedentes de ovarios en fase postovulatoria se obtuvieron a partir de aparatos reproductores de cerdas cíclicas (Landrace X Large White) sacrificadas en matadero. Se realizó la disección del oviducto seleccionando la región ampular-ístmica. El tejido oviductal se fijó en paraformaldehído 4%, se deshidrató y fue embebido en parafina para la realización de cortes de un grosor de 5 µm.

Inmunohistoquímica: las preparaciones histológicas fueron desparafinadas en xileno y rehidratadas en una serie decreciente de etanol. El revelado antigénico se llevó a cabo en tampón citrato con pH 6 (Sigma Aldrich) durante 30 minutos. Las uniones inespecíficas fueron bloqueadas con suero fetal bovino 6%-TBS-Tween durante 90 minutos. Las secciones fueron incubadas con el anticuerpo rabbit anti-pig Haptoglobin (Creative Diagnostics) a una dilución 1:10 durante toda la noche. Se realizaron lavados con TBS-Tween y se incubaron con el anticuerpo secundario goat anti-rabbit IgG-HRP (Santa Cruz Biotechnology) diluido 1:50. Las muestras fueron reveladas mediante diaminobencidina (DAB Kit, Abcam).

Obtención de ovocitos y maduración *in vitro*: los ovocitos se aspiraron de folículos ováricos preantrales (3-6 mm de diámetro) de ovarios procedentes de matadero. La maduración se realizó en pocillos de 500 µl de medio (NCSU-37) suplementado con PMSG/HCG y dbAMPc. Pasadas 20 horas, los ovocitos fueron transferidos a medio NCSU-37 libre PMSG, HCG y AMPc y se cultivaron durante 20-22 horas más (Funahashi y Day, 1993).

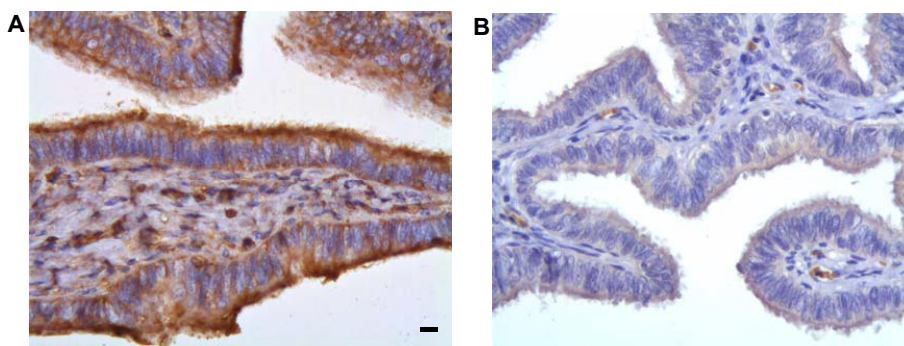
FIV: Grupos de 50 ovocitos decumulados se transfirieron a 500 µl de medio TALP suplementado con Hp a una concentración de 10 µgr/ml (en el caso del grupo control el TALP no fue suplementado). El co-cultivo se realizó añadiendo una concentración espermática entre 1-2 x 10<sup>5</sup> espermatozoides/ml procedentes de machos de fertilidad probada. A las 18 horas post-inseminación se fijaron los posibles cigotos en glutaraldehído al 0,5% en PBS, se tiñó el ADN con Hoechst 33342 (1mg/ml en PBS) y se evaluaron los diferentes parámetros de FIV: porcentaje de penetración, número de espermatozoides unidos a la zona pelúcida, y la formación de pronúcleos. Los datos se presentan como la media ± SEM y se realizaron 3 replicados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según las imágenes obtenidas mediante inmunohistoquímica (Figura 1) se observa señal de la proteína Hp en el tejido oviductal durante la fase postovulatoria. Este hecho puede indicar una función de dicha proteína sobre la fecundación. Para comprobarlo llevamos a cabo el segundo experimento donde se realizó una FIV co-incubando los gametos (espermatozoides y ovocitos) con la proteína.

Los resultados de FIV obtenidos (Tabla 1) mostraron que la presencia de Hp en el medio de fecundación disminuye el porcentaje penetración lo que podría ser indicador de su posible unión al ovocito o al espermatozoide.

Como conclusión de este trabajo podemos decir que la proteína Hp está presente en el oviducto porcino principalmente a nivel de células epiteliales. Su función a este nivel podría estar relacionada con la unión a alguno de los gametos. Serán necesarios estudios posteriores para esclarecer la función biológica reproductiva exacta de esta proteína.



**Figura 1.** Localización inmunohistoquímica de Hp en el oviducto porcino en fase postovulatoria. A) Localización de Hp a nivel de células epiteliales (coloración marrón) B) Control: sin anticuerpo primario. Barra= 10  $\mu$ m.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Olson, G.E., Winfrey, V.P., Matrisian, P.E. et al. 1997. J. Endocrinol. 152: 69–80.
- Berkova N, Lemay A, Dresser DW, Fontaine JY, Kerizit J and Goupil S. 2001. Molecular Human Reproduction. 7: 747–754.
- O'Bryan, M.K., Crima, J., Mruk, D. et al. 1997. J. Androl., 18: 637–645.
- Friedrichs, W., Navarajo-Ashbaugh, A., Bowman, B. et al. 1995. Biochem. Biophys. Res. Commun., 292: 250–256.
- Ramón, M.C., Acuña, O.S., Ruano, M.J., Avilés, M., Izquierdo-Rico, M.J. 2012. Reproduction, Fertility and Development. 25:248.
- Funahashi, H. & Day, B.N. 1993. J. Reprod Fertil. 98:179-185.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por Fundación Séneca 19357/PI/14 y el MINECO-FEDER AGL2015-70159-P y AGL2015-66341-R.

**Tabla 1.** Resultados de FIV obtenidos en presencia (grupo Haptoglobina) o ausencia (grupo Control) de la Hp durante la co-incubación de los gametos.

GRUPO	N	PEN%	SPZ/ZP	PRONÚCLEOS
Control	146	89,73 ± 2,52 <sup>a</sup>	19,51 ± 1,11 <sup>a</sup>	3,45 ± 0,18 <sup>a</sup>
Haptoglobina	167	79,04 ± 3,16 <sup>b</sup>	12,50 ± 0,67 <sup>b</sup>	2,49 ± 0,13 <sup>b</sup>

\* Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).  
 N: número de ovocitos. PEN%: porcentaje de ovocitos penetrados. SPZ/ZP: número medio de espermatozoides unidos a la zona pelúcida. PRONÚCLEOS: número medio de pronúcleos por ovocito.

#### IMMUNOLOCATION OF HAPTOGLOBIN PROTEIN IN THE PORCINE OVIDUCT AND ITS EFFECT ON *IN VITRO* FERTILIZATION (IVF)

**ABSTRACT:** Haptoglobin (Hp) is an acute phase protein that has recently been identified in different regions of the mammals' reproductive tract, specifically in the microenvironment that surrounds the gametes during their passage through the oviduct, which could indicate a potential role for Hp in reproductive events. The aim of this study was to detect the presence and distribution of Hp in the porcine oviduct during the postovulatory phase and to analyse its possible effect on an *in vitro* fertilization system. The presence in the oviduct of the Hp protein was detected by immunohistochemistry using histological sections of oviducts in postovulatory phase and ejaculated sperm were co-incubated with oocytes in the presence of Hp. Immunostaining for the Hp protein detected its presence at the level of epithelial cells and added it during gametes co-incubation modulated the IVF decreasing penetration percentage and sperm binding. In conclusion, the function of the Hp protein could be related to the binding to some of the gametes.

**Keywords:** haptoglobin, oviduct, immunolocation, *in vitro* fertilization.

## EVALUACIÓN DE DISPOSITIVOS DE RECOGIDA DE FLUIDO UTERINO EN MODELO OVINO MEDIANTE UN ABORDAJE MÍNIMAMENTE INVASIVO

Poveda, I., Canha<sup>1</sup>, A., de la Cruz<sup>2</sup>, J., Morcillo<sup>2</sup>, E., López Albors, O., Soria<sup>2</sup>, F., Sánchez-Margallo<sup>2</sup>, F.M., y Latorre, R\*.

<sup>1</sup> Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria  
30071 Campus Espinardo, "Campus Mare Nostrum". IMIB (Instituto Murciano de Investigación Biomédica). Universidad de Murcia. Murcia. España. \*latorre@um.es

<sup>2</sup> Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón. Cáceres

### INTRODUCCIÓN

La creciente concienciación de la comunidad científica sobre la necesidad de mejorar los medios de cultivos en las técnicas de reproducción asistida, ha favorecido el desarrollo de estrategias de adición de fluidos reproductivos naturales, con el objetivo de mimetizar el ambiente en el que se desarrollan los embriones *in vivo* (Coy et al., 2012). En las especies de producción ganadera se ha demostrado que la incubación previa de ovocitos porcinos con fluido oviductal recolectado, aporta mejoras en la eficacia de la fecundación *in vitro* (Ballester et al., 2014). Además, los blastocitos producidos *in vitro* con fluidos reproductivos naturales, presentan mejor calidad y capacidad de eclosión que los embriones producidos *in vitro* sin la incorporación de estos fluidos (Canovas et al., 2017). Consecuentemente, se deben optimizar estrategias de recolección eficiente de fluido uterino y oviductal en animales vivos. En el caso de la especie ovina, la canulación fija del oviducto mediante laparotomía ha permitido la valoración y caracterización del fluido oviductal (Black et al. 1963) (Aguilar et al. 2005). Sin embargo, esta es una técnica invasiva que requiere de una intervención quirúrgica y anestesia general (Slavik et al. 2005), por lo que es necesario ampliar los estudios enfocados en abordajes mínimamente invasivos.

Este trabajo tiene dos objetivos: el primero, realizar un estudio morfométrico de los aparatos genitales de la especie ovina en las distintas fases del ciclo estral, y el segundo, valorar distintos dispositivos para la recogida de fluido uterino *in-vitro* e *in-vivo*, en aparatos reproductores de oveja. La recogida de fluido uterino y caracterización de la morfología del aparato reproductor de la oveja, servirá para validar esta especie como modelo animal para posteriores evaluaciones de dispositivos de recogida de fluido uterino en la especie humana, lo que contribuirá a la posible incorporación de fluidos naturales en las técnicas de reproducción asistida.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo experimental se desarrolló en dos fases: una *ex vivo*, y otra *in vivo*. En la primera se utilizaron 102 tractos genitales de ovejas, en diferentes fases del ciclo estral, provenientes del matadero Murgaca S.A de Cartagena. Se caracterizó la morfología de 67 aparatos reproductores, y sus variaciones en función de la fase del ciclo estral. Así, se evaluaron las longitudes y diámetros de las distintas partes del tracto reproductivo, y a continuación se recogió fluido de 44 úteros con tres dispositivos comúnmente utilizados en ginecología humana: Hisopo Dryswab tm Flock, Catéter de transferencia embrionaria Kitazato y Catéter de Biopsia endometrial Pipelle de Cornier.

Posteriormente se ejecutó una fase experimental *in vivo* en el Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, aprobada por el Comité de ética de Experimentación animal CCMIJU (ref:007/16) y por la Dirección General de Agricultura y Ganadería de la Junta de Extremadura (expediente Nº: 20160322-1). 9 ovejas adultas de raza Merina fueron sometidas a sincronización ovulatoria. Mediante técnicas endoscópicas (Cistoscopia Karl Storz GmbH & Co. KG, Tuttlingen, óptica Hopkins de 2,7 mm de diámetro y vaina para cistoscopia de 14,5 Charr), control por fluoroscopia y laparoscopia (Karl Storz óptica tipo Hopkins de 0º, 10mm), se logró recorrer el canal cervical y acceder a la luz uterina en siete de las ovejas estudiadas. El fluido uterino fue recogido por sistemas de aspiración mecánica (Aspirator 3 Labotec) y jeringa, asociados al catéter ET Kitazato, y otros dos catéteres de similares características: catéter de acceso renal Cobra de Cook Medical (Limerick, Ireland) y catéter medidor centimetrado de extremo recto de Cook Medical (Cook Group, Indiana, USA). El control mediante laparoscopia se realizó con una doble finalidad. Primero, valorar el estado del ovario, y después, para descartar posibles lesiones durante el recorrido por el cérvix, así como durante la aspiración de fluido uterino. Para separar la fracción celular del

fluido uterino tanto *in vivo* como *ex vivo* se centrifugaron las muestras a 7000g durante 10 min a 4°C, se cuantificó el volumen final de fluido y se almacenó a -80°C.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos relativos a la morfometría del aparato reproductor se presentan en la Tabla 1. Los valores medios máximos de longitud cervical se presentaron en la fase folicular temprana ( $8,49 \pm 1,34$  cm), mientras que los mínimos pertenecieron a la fase luteal media ( $7,0 \pm 1,60$  cm). En la anchura del cuerpo uterino, el valor medio más elevado también correspondió con la fase folicular temprana ( $2,18 \pm 0,28$  cm), y los valores mínimos con las fases luteal media y tardía ( $1,86 \pm 0,25$  y  $1,81 \pm 0,29$  cm, respectivamente).

**Tabla 1:** Resultados morfométricos (cm) en función de la fase del ciclo estral: folicular temprana (A1), folicular tardía (A2), ovulación reciente (A2-A3), luteal media (A3) y luteal tardía (A4).

FASE DEL CICLO	LONGITUD VAGINAL	LONGITUD CERVICAL	L CUERPO UTERINO	L1 CUERNOS UTERINOS	L2 CUERNOS UTERINOS	L TOTAL CUERNO	ANCHURA CUERPO
A1	11,512±2,19	8,493±1,34*	1,285±0,40	8,096±1,45	5,67±1,25	13,756±1,91	2,1889±0,28*
A2	10,813±1,71	7,86±1,33	2,02±2,54	7,627±1,26	6,42±1,42	14,047±2,15	1,9±0,28
A2-A3	11,857±2,19	7,286±0,99	1,843±0,71	8,543±0,82	5,971±1,20	14,514±1,47	1,8429±0,07
A3	10,483±1,73	7±1,60*	1,775±0,78	8,025±0,71	5,817±1,18	13,842±1,48	1,8625±0,25*
A4	11,5±2,54	7,467±1,17	1,65±0,45	8,083±1,31	6,25±1,57	14,333±2,50	1,8167±0,29
Media	11,202±2,03	7,866±1,43	1,628±1,30	8,024±1,23	5,948±1,30	13,967±1,88	1,9284±0,28

\* para la misma columna, los valores son significativamente distintos para  $p \leq 0.05$ .

**Tabla 2.** Volumen de fluido uterino ( $\mu$ l) según el dispositivo y la fase de recogida.

Dispositivo	Preovulación	Postovulación
HISOPO Dryswab	6,4±6,02	2,775±3,94
Catéter ET itazato	48,329±84,96	27,25±24,75
Pipelle de Cornier	147,171±101,60	69,857±37,22

Comparando el volumen de fluido uterino recogido *in vitro* por cada uno de los dispositivos (Tabla 2), se concluye que el catéter Pipelle de Cornier fue el que logro recoger más fluido. Fue posible observar que los valores más elevados de fluido recogido correspondieron a la fase preovulatoria. Esta misma tendencia coincide con la observada en la especie humana por Casslen *et al.* (1986). En otro estudio, se observó que los mayores volúmenes de fluido uterino se asociaron al efecto del estradiol, mientras que su reducción, al de progesterona (Salleh *et al.* 2005). Estos autores sugieren que existe una absorción de fluido en el momento del cierre cervical, tras el desarrollo del blastocisto y su llegada a útero, lo que podría explicar los menores valores morfométricos observados a nivel de cuerpo y cuello uterino del modelo animal en la fase A3.

En cuanto a los experimentos *in vivo* (Tabla 3), 5 de las 9 ovejas empleadas no llegaron a ovular, a pesar del tratamiento hormonal administrado, y en dos de estos animales no se consiguió atravesar la luz uterina debido a la falta de dilatación cervical. En las hembras en las que se alcanzó la luz uterina se observaron diferencias de volumen obtenidos a partir de cada cuerno uterino, siendo en el caso de las que presentaban ovulación, mayor el volumen obtenido del cuerno ipsilateral al ovario con reciente ovulación. El sistema de aspiración mecánica mediante bomba, consiguió mayores volúmenes que la aspiración manual con jeringuilla, aunque generó erosiones leves sobre la mucosa uterina. Por otro lado, el control visual por endoscopia durante la aspiración del fluido uterino, permite direccionar el catéter y a su vez, la exploración del lumen uterino antes y después de la aspiración de fluido. Estas ventajas aportadas por el sistema de aspiración y la visualización endoscópica, podrían optimizar la recogida de fluido uterino en la especie humana, reduciendo el tiempo y aumentando el volumen recogido.

A pesar de que la oveja es un modelo animal adecuado para la mayoría de intervenciones ginecológicas, la longitud del cérvix y la disposición de los pliegues cervicales, limitan en

gran medida su empleo como modelo experimental para el abordaje del lumen uterino, requiriendo el uso de endoscopia incluso en aquellos animales en fase de estro.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, J., Reyley, M. Anim Reprod. 2005;2(2):91-105
- Ballester, L., Romero-Aguirregomezcorta, J., Soriano-Úbeda, C., Matás, C., Romar, R., Coy, P. Fertil Steril. 2014;102(6):1762-8.e1
- Black, D.L., Duby, R.T., Riesen, J. J Reprod Fertil. 1963;6:257-60
- Canovas, S., Ivanova, E., Romar, R., García-Martínez, S., Soriano-Úbeda, C., García-Vázquez, F. A., Saadeh, H., Andrews, S., Kelsey, G., Coy, P. eLife 2017;10.7554/eLife.23670
- Caslén B. J Reprod Med. 1986;31(6):506-10
- Coy, P., Rev Asoc Est Biol Rep. 2012;17(1):44-52
- Salleh N, Baines DL, Naftalin RJ, Milligan SR. J Membr Biol. 2005;206(1):17-28
- Slavik, T., Dolezel, R. Fulka J. Vet Met. 2005;45(6):153-8
- Slavik, T., Dolezel, R. Fulka J. Vet Met. 2005;45(6):153-8

**Agradecimientos:** trabajo financiado por H2020 MSC-ITN- EJD 675526 REP-BIOTECH

**Tabla 3.** Datos recogidos durante la fase in vivo. Ident: Identificación de los animales (S16); D ovario derecho; el ovario izquierdo; C.M.C: Catéter medidor centimetrado; C.C: Catéter Cobra; Asp3: Aspirator 3 Labotec; C. ET: Catéter ET Kitazato.

Oveja (Ident)	Peso (Kg)	Ovarios (D/I) ovulación	Luz uterina	Dispositivo recogida	Volumen total (µl)	Volumen por cuernos(µl)
1 (193)	60	D	Sí	C.M.C	533,4	441,2/92,2
2 (184)	45	D/I	Sí	C.M.C + C.C	397,3	274,1/123,2
3 (180)	47,5	I	Sí	C.C + Asp3	87,7	87,7
4 (175)	50	-	-	-	-	-
5 (176)	45	-	-	-	-	-
6 (177)	48	D	Sí	C.C + Aps3	314,4	210/104,4
7 (194)	58	-	Sí	C. C, C. ET + Asp3	465	365/100
8 (178)	48	-	Sí	C. ET + Asp3	322	174/148
9 (185)	61	D	Sí	C. ET + Asp3	53	53

### EVALUATION OF UTERINE FLUID COLLECTION DEVICES IN SHEEP MODEL BY MINIMALLY INVASIVE PROCEDURES

**ABSTRACT:** Culture media supplemented with natural female reproductive fluids have improved in vitro fertilization efficiency in several species and have produced in vitro porcine embryos with an epigenetic profile closer to the ones generated in vivo. Moreover, with these fluids, the obtained blastocysts have a greater number of cells and hatchability than those produced with synthetic serum albumin as a protein source. This has encouraged the development of devices that allow a noninvasive uterine fluid collection. This study was focused on a morphometric characterization of 102 sheep genital tracts at different stages of the estrous cycle and an evaluation of the efficacy of different human gynecology devices to collect uterine fluid. The ET Kitazato and Cobra catheters were suitable devices for obtaining uterine fluid in vivo and mechanical aspiration and endoscopic control can optimize the collection of uterine fluid by reducing time, increasing volume and security. The Pipelle Cornier catheter showed the best performance regarding the volume of uterine fluid collected. The length of the cervix and the cervical folds of sheep restrict the use of this species as an experimental model for human uterine lumen approach.

**Keywords:** uterine fluid, collection devices, genital tract.

## **EFFECTOS TRANSGENERACIONALES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO DE UNA LÍNEA PATERNAL DE CONEJOS RECONSTITUIDA A PARTIR DE EMBRIONES VITRIFICADOS**

Juarez, J.D.<sup>1</sup>, Marco-Jiménez, F.<sup>1</sup> y Vicente, J.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia  
jvicent@dca.upv.es

### **INTRODUCCIÓN**

Cada vez son más frecuentes los estudios que demuestran que la manipulación *in vitro* tanto de óvulos como de embriones, ya sea para su maduración, cultivo, microinseminación (ICSI), transferencia nuclear o crioconservación, ocasiona perturbaciones en el número de células y en la expresión génica durante el desarrollo pre-implantatorio con consecuencias sobre el desarrollo fetal y postnatal (Willadsen et al., 1991, McEvoy et al., 1998, Van Wagtenonk-de Leeuw et al., 2000, Kwong et al., 2000, Ecker et al., 2004, Corcoran et al., 2007, Mashoudi et al., 2007, Succu et al., 2008, Rizos et al., 2008, Saenz de Juano et al., 2012). Hasta la fecha, diversos estudios han demostrado que el proceso de crioconservación *per se*, o bien las técnicas asociadas (exposición a crioprotectores, cultivo embrionario, etc.) pueden modificar la expresión genética de los embriones a nivel de su desarrollo (Oct4, Katko et al., 2006, Succu et al., 2008), metabolismo (Na/K+ ATPasa, Succu et al. 2008) o sistemas de defensa contra el efecto de los radicales libres (GPX, Mamo et al., 2006; p53, Dhali et al., 2007). Los trabajos realizados por nuestro grupo en los últimos años indican que las técnicas de crioconservación y transferencia embrionaria tienen un efecto sobre el fenotipo de los animales. Concretamente, los individuos nacidos de embriones vitrificados difieren en su peso durante la etapa de lactación (semanas 1 a 4), velocidades de crecimiento, un distinto grado de madurez y diferencias en el peso de algunos de sus órganos como por ejemplo el hígado en relación con una población control no crioconservada (Lavara et al., 2015). Estas modificaciones parecen estar inducidas durante el re-establecimiento de la población, ya que se ha demostrado que la crioconservación embrionaria induce cambios en la función de la placenta, alterando rutas lipolíticas y lipogénicas y del proteoma hepático de los fetos también a nivel lipolítico (Sáenz-de-Juno et al., 2015 y 2016). El objetivo de estudio fue evaluar si la crioconservación y posterior transferencia de los embriones de una línea seleccionada por ganancia media diaria de peso entre el destete y el sacrificio (28 a 63 días) puede tener un efecto a largo plazo sobre el parámetro de selección.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron conejos pertenecientes a la línea sintética R, que ha sido seleccionada durante 38 generaciones por selección individual de la ganancia media diaria de peso entre los 28 y los 63 días de edad (Estany et al., 1992). En 2015 se recuperaron y vitrificaron 272 embriones pertenecientes a 30 conejas y 18 orígenes machos de la generación 36 que fueron posteriormente transferidos sobre 26 conejas receptoras de una línea de origen neozelandés blanco (Línea A, Estany et al., 1989). La vitrificación y transferencia se llevaron a cabo según los procedimientos descritos por Vicente et al. (2013). Un total de 55 gazapos pertenecientes a 18 conejas donantes y 15 orígenes machos alcanzaron la edad de 63 días. Tanto la población reconstituida de la generación 36 (RV36), así como animales coetáneos sin crioconservar de la generación 36 (R36) fueron seleccionados y reproducidos en las mismas instalaciones y según los criterios establecidos para la línea R durante 2 generaciones (37 y 38). Un total de 2448 conejos fueron pesados e identificados el día 28 y pesados nuevamente el día 63. El efecto del proceso de reconstitución de la población (recuperación, vitrificación y transferencia) sobre el peso a 28 y 63 días y, la ganancia media diaria de peso en este periodo fue analizado mediante un modelo lineal general que incluyó como factores fijos la generación-tipo de población (R36 y RV36, R37y RV37, R38 y

RV38). En el análisis del peso al destete, además, se incorporó al modelo como efecto aleatorio el tamaño de camada común y en el análisis del peso al sacrificio, la covariable peso a 28 días. Los análisis se llevaron a cabo con el paquete estadístico SPSS 16.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pesos y la ganancia media diaria de peso de las poblaciones y generaciones estudiadas se muestran en la tabla 1. Los resultados demuestran que la reconstitución de la población a partir de embriones vitrificados y transferidos sobre conejas maternas (RV36) provocó una disminución significativa del peso a 28 días (tabla 2) reduciendo este en torno al 20% de la población R36. Sin embargo, el peso a 28 días en las dos siguientes generaciones fue el mismo para las poblaciones RV37 y R37 y, RV38 y R38. La transferencia de los embriones vitrificados en un línea maternal provocó un efecto inesperado sobre el crecimiento durante el periodo de lactación y contrario a los resultados de Lavara et al. (2015) que observaron un efecto favorable sobre el crecimiento en este periodo cuando los embriones de la línea R nacían y eran amantados en receptoras de otra línea maternal (línea V). No obstante, este mayor peso al destete no conllevaba una velocidad de crecimiento igual a la población control no cricoconservada, por lo que el peso a las 20 semanas de edad fue ligeramente inferior. Los resultados del presente estudio no muestran diferencias para el peso a 63 días y para la ganancia media diaria en la generación 36. Sin embargo, sí se obtuvieron diferencias en ambos parámetros en las dos generaciones siguientes, en las que pudo observarse que las generaciones obtenidas de la población reconstituida (RV37 y RV38) presentaron significativamente menores pesos a 63 días y ganancias media diaria (tabla 2). Esto podría sugerir que los diferentes factores asociados al programa de vitrificación (recuperación, vitrificación, transferencia e incluso el origen de la receptora) podrían determinar el establecimiento de una subpoblación con modificaciones fenotípicas que pueden observarse incluso dos generaciones después. Estos cambios podrían estar relacionados con la modificación de la expresión génica del metabolismo lipídico de la placenta e hígado fetales observados durante el desarrollo (Vicente et al., 2013; Sáenz-de-Juno et al., 2015 y 2016). Cabe reseñar que Lavara et al. (2014) demostraron un efecto transgeneracional para el tamaño de camada en una población reconstituida de una línea maternal. En conclusión: la población reconstituida con el fin de disponer de una población que permita evaluar el proceso de selección por ganancia media diaria mostró un menor peso a 63 días y ganancia diaria en las dos generaciones posteriores a su constitución. Por lo que podría no ser adecuada la constitución de estas poblaciones para este fin.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Corcoran D et al., 2007. *Mol Repr Dev* 74:972-977.
- Dhali A., et al., 2007. *Theriogenology* 68:1292-1298.
- Ecker DJ et al., 2004. *Proc Natl Acad Sci USA* 101,1595–1600.
- Estany J et al., 1989. *Livest Prod Sci* 21:67-76.
- Estany J et al., 1992. *Genet Sel Evol* 24:527-537.
- Katkov II et al., 2006. *Cryobiology* 53:194-205.
- Kwong WY et al., 2000. *Development* 127:4195–202.
- Lavara R et al., 2014. *Theriogenology* 81: 988-992.
- Lavara R et al., 2015. *Theriogenology* 84:674-80.
- Mahsoudi B et al., 2007. *Biol. Reprod* 77:889–896.
- Mamo S et al., 2006. *Mol Repr Dev* 73:1380-1392.
- McEvoy TG et al., 1998. *Reprod Fertl Dev* 10, 459–464.
- Rizos D et al., 2008. *Reprod. Dom. Animal* 43: 44-50.
- Saenz-de-Juano MD et al. 2012. *Biol Reprod* 87:1-9.
- Saenz-de-Juano MD et al., 2014. *Reproduction* 147:789-801.
- Saenz-de-Juano MD et al., 2015. *PLoS One* 10:e0125157.
- Succu S et al., 2008. *Mol Repr Dev* 75:538-546.
- Van Wagtendonk-de Leeuw AM et al., 2000. *Theriogenology* 53,575–597.
- Vicente JS et al., 2013. *Cryobiology* 67: 321–326.
- Willadsen SM et al., 1991. *Theriogenology* 35, 161–70.



**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2014-53405-2-1-P del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad.

**Tabla 1.** Valores medios de peso a 28 y 63 días y, ganancia media diaria de las generaciones 36, 37 y 38 de la población reconstituida mediante crioconservación de embriones y la población control.

Población	Generación	N	Peso a 28 días (g)	Peso a 63 días (kg)	GMD
Control (R)	36	452	775 ± 8,1	2,35 ± 0,013	44,9 ± 0,27
	37	637	779 ± 6,6	2,55 ± 0,011	50,5 ± 0,22
	38	619	712 ± 7,2	2,37 ± 0,012	47,4 ± 0,23
Vitrificada (RV)	36	55	642 ± 18,4	2,17 ± 0,033	43,6 ± 0,73
	37	211	732 ± 11,1	2,39 ± 0,021	47,4 ± 0,40
	38	474	705 ± 8,3	2,25 ± 0,014	44,2 ± 0,26

Datos expresados como media ± error estándar. N: número de gazapos. GMD: Ganancia media diaria de peso

**Tabla 2.** Contraste entre de las generaciones de la población reconstituida mediante crioconservación de embriones (RV) y la población control (R).

Parámetro	RV36-R36	RV37-R37	RV38-R38
Peso a 28 días (g)	-147 ± 49*	-52 ± 33	-24 ± 27
Peso a 63 días (kg)	-0,037 ± 0,042	-0,092 ± 0,015*	-0,113 ± 0,035*
GMD (g/día)	-1,34 ± 0,078	-3,11 ± 0,444*	-2,40 ± 0,336*

Medias ajustadas ± error estándar. GMD: Ganancia media diaria de peso

\*Diferencia significativa (P<0,05).

## TRANSGENERATIONAL EFFECTS ON GROWTH CHARACTERISTICS OF A PATERNAL RABBIT LINE RECONSTITUTED FROM VITRIFIED EMBRYOS

**ABSTRACT:** The objective of the study was to evaluate whether the cryopreservation and subsequent transfer of embryos from a selected line by daily mean weight gain between weaning and slaughter (28 to 63 days) may have a long-term effect on the selection parameter. Rabbits belonging to the synthetic line R, which has been selected for 38 generations by individual selection of the average daily gain of weight between 28 and 63 days of age were used. In 2015, 272 embryos belonging to 30 rabbits and 18 male from 36th generation were recovered and vitrified and then transferred to 26 recipient rabbits from a white New Zealand line. The reconstituted population of generation 36 (RV36), as well as contemporary animals without cryopreservation of generation 36 (R36) were selected and reproduced in the same facilities and according to the criteria established for line R for 2 generations (37 and 38). A total of 2448 rabbits were weighed and identified on day 28 and weighed on day 63. The results showed that the reconstitution of the population from vitrified embryos and transferred to maternal rabbits (RV36) caused a significant decrease in weight at 28 days, reducing this by around 20% of the population R36. Non differences were observed for weight at 63 day and daily weight gain in generation 36. However, differences were obtained in both parameters in the following two generations, in which it could be observed that the generations obtained from the reconstituted population (RV37 and RV38) had significantly lower weights at 63 days and daily weight gain. This could suggest that the different factors associated with the vitrification program (recovery, vitrification, transfer and even the origin of the recipient doe) could determine the establishment of a subpopulation with phenotypic modifications that can be observed even two generations later.

**Keywords:** vitrification, transgeneration, growth, rabbit.

## **EFECTO DEL TRATAMIENTO CON DIAS LARGOS, COMBINADO O NO CON IMPLANTES DE MELATONINA, SOBRE LOS NIVELES DE TESTOSTERONA Y LOS RESULTADOS DE UN TEST DE MONTA EN MORUECOS**

Abecia, J.A.<sup>1</sup>, Delgadillo, J.A.<sup>2</sup>, Palacios, C.<sup>3</sup>, Chemineau, P.<sup>4</sup> y Keller, M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales (I.U.C.A.). UNIZAR  
<sup>2</sup>UAAAN México, <sup>3</sup>USAL, <sup>4</sup>INRA Francia. Proyecto AGL2013-41200-P. alf@unizar.es

### **INTRODUCCION**

La presencia continua de machos activados sexualmente en primavera mediante luz artificial e implantes de melatonina prolonga la actividad ovárica y estral de ovejas Rasa Aragonesa en primavera, suprimiendo prácticamente su anestro estacional (Abecia et al., 2015). Además, su introducción al destete en ovejas paridas a finales de la época reproductiva adelanta la reactivación de la actividad sexual en pleno anestro estacional (Abecia et al., 2016a), y la pubertad de corderas nacidas en septiembre (Abecia et al., 2016b). Todo ello viene acompañado de un aumento de los niveles de testosterona plasmática en anestro (Abecia et al., 2016b). Estos resultados han abierto nuevas expectativas a la posibilidad de plantear sistemas sostenibles de manejo reproductivo de las ovejas. Sin embargo, queda por discernir si es posible o no, bajo esta nueva perspectiva, eliminar el tratamiento con melatonina. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue estudiar si el tratamiento con días largos por sí solo es capaz de estimular la secreción de testosterona y de activar sexualmente a los machos ovinos, como se ha demostrado con el tratamiento combinado de días largos y melatonina.

### **MATERIAL Y METODOS**

Se han utilizado 16 machos adultos de raza Rasa Aragonesa con un peso vivo ( $\pm$  E.S.M.) de  $98 \pm 7$  kg, y una condición corporal de  $3,75 \pm 0,10$ . El 22 de diciembre se dividieron en dos lotes: uno de ellos se mantuvo bajo condiciones de fotoperiodo natural (FN) (n=8), y el otro grupo se sometió a 16 horas de luz/día ( $>300$  lux a la altura de los ojos) hasta el 22 de febrero (fotoperiodo artificial, FA) (n=8). Al finalizar los días largos, este grupo retornó a las condiciones naturales de luz, y la mitad de los machos de cada lote se implanto (+M) o no (-M) con tres implantes de melatonina (Melovine, CEVA Salud Animal). De este modo, los grupos experimentales fueron cuatro: FN+M (n=4), FN-M (n=4), FA+M (n=4) y FA-M (n=4). Se tomaron muestras de sangre de los machos al inicio del tratamiento fotoperiódico (22 diciembre), 30 días más tarde (22 enero), al finalizar los días largos (22 febrero), y un mes más tarde (22 marzo), para determinar las concentraciones de testosterona plasmática.

El 30 de marzo, 16 ovejas de la misma raza fueron sincronizadas en celo mediante esponjas vaginales+300 UI de eCG (Syncro-Part, CEVA Salud Animal). A las 48 h de la retirada de las esponjas, se realizó un test de monta individual (modificado de Kilgour y Whale, 1980 y Damián et al., 2015). En un corral de  $15 \text{ m}^2$ , se colocaron tres ovejas en celo con cada macho, durante 20 minutos. Se registraron el número de montas con o sin eyaculación (intentos), el ratio eyaculaciones/eyaculaciones+intentos y el tiempo necesario para la primera eyaculación.

Los niveles de testosterona, y los parámetros recogidos en el test de monta fueron analizados mediante un análisis GLM, con el tratamiento fotoperiódico y con melatonina como factores.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Al inicio de los días largos, los niveles de testosterona fueron similares entre los lotes (Fig. 1). Un mes más tarde, se observaron diferencias significativas entre los animales tratados con luz frente a los control, habiendo bajado a niveles propios del anestro los animales FA (FN:  $36,7 \pm 1,01$ ; FA:  $13,5 \pm 2,77$  ng/ml;  $P < 0,05$ ). Al final del tratamiento fotoperiódico, los niveles de ambos grupos fueron similares, alcanzando los niveles más bajos. Finalmente, 30 días después de la colocación de los implantes, los moruecos que fueron expuestos al fotoperiodo artificial incrementaron sus niveles de

testosterona en relación a los FA, sin efecto de la melatonina exógena (FN: 13,1±5,0; FA: 24,3±7,9; P<0,10).

En relación a los resultados del test de monta (Tabla 1), los machos FA alcanzaron más eyaculaciones que los FN (2,50±0,42 vs. 1,11±0,39 eyaculados, respectivamente; P<0,05), sin efecto de la melatonina, pero con una interacción significativa entre tratamientos, de modo que los machos FN+M eyacularon en más ocasiones que los machos FN-M (P<0,05). La mayor eficiencia de montas la presentó el grupo FA, con un 63% de las montas traducidas en eyaculados frente a un 18% del grupo FN (P<0,001), aunque este parámetro se vio afectado de manera positiva también por el implante de melatonina (P<0,01). El primer eyaculado se observó en primer lugar en el grupo FA+M, con efecto positivo del tratamiento con luz y de los implantes de melatonina (P<0,01). De manera global, los machos FA eyacularon por primera vez en un espacio de tiempo más corto que los FN (2,30±1,20 vs. 5,58±0,68 min, respectivamente; P<0,05).

**Tabla 1.** Número medio (± E.S.M.) de montas con eyaculación (eyaculados) o sin eyaculación (intentos) observadas durante un test de monta individual de 20 min (1 morueco con 3 ovejas en celo) realizado el 6 de abril, y eficiencia de montas (eyaculados/eyaculados+intentos) y tiempo (min) necesario para la primera monta, de machos de raza Rasa Aragonesa, expuestos a dos meses de días largos (16 h de luz/d) entre el 22 de diciembre y el 22 de febrero (Fotoperiodo Artificial, FA), o expuestos al fotoperiodo natural (FN), tratados (+M) o no (-M) con tres implantes de melatonina al final de los días largos.

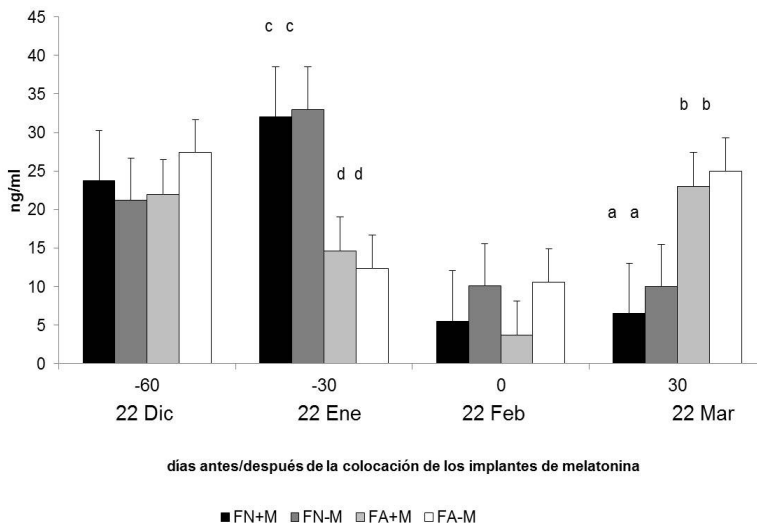
	FN-M	FN+M	FA-M	FA+M	Efecto
N	4	4	4	4	F M Inter.
Animales activos (%)	3 (75%)	3 (75%)	4 (100%)	4 (100%)	
Eyaculados	0,25±0,45 <sup>ace</sup>	1,80±0,39 <sup>f</sup>	3,00±0,33 <sup>d</sup>	2,00±0,42 <sup>b</sup> ** *	
Eyaculados+Intentos	5,25±0,98	6,80±1,50	6,75±1,71	2,25±1,50	
Eficiencia	0,08±0,14 <sup>g</sup>	0,29±0,10 <sup>h</sup>	0,44±0,04 <sup>i</sup>	0,89±0,19 <sup>j</sup> *** ***	
Primera monta (min)	12,47±0,01	3,87±1,81	3,03±1,50	1,32±0,64 <sup>k</sup> ** **	

a,b P<0.05; c,d P<0.01; e,f P<0.05; g,h,i,j P<0.001;

En conclusión, bajo condiciones naturales de fotoperiodo, el tratamiento con melatonina mejoró la actividad sexual de los machos en primavera. Sin embargo, dos meses de días largos sin melatonina indujeron niveles de testosterona en primavera más elevados que los expuestos al fotoperiodo natural o al artificial con melatonina, mejorando incluso la actividad sexual de los machos. Por tanto, la exposición a días largos sin melatonina puede ser una opción para las cubriciones de primavera, cuando los tratamientos hormonales quieren ser evitados. La combinación de ambos tratamientos, cuando el uso de hormonas exógenas no es un obstáculo, es una opción que mejora la eficiencia de los machos durante una cubrición.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia, J.A., Chemineau, P., Flores, J.A., Keller, M., Duarte, G., Forcada, F., Delgadillo, J.A. 2015. *Theriogenology* 84:1549–1555
- Abecia, J.A., Chemineau, P., Gómez, A., Palacios, C., Keller, M., Delgadillo, J.A. 2016a. *International Conference: Steps to Sustainable Livestock*
- Abecia, J.A., Chemineau, P., Gómez, A., Keller, M., Forcada, F., Delgadillo, J.A. 2016b. *Anim. Reprod.Sci.*170: 114–120
- Damián, J.P., Beracochea, F., Hötzel, M.J., Banchemo, G., Ungerfeld, R. 2015. *Physiol. Behav.*147:47–53
- Kilgour, R.J., Whale, R.G. 1980. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 1980, 20: 5-8



**Figura 1.** Concentración plasmática de testosterona (media  $\pm$  E.S.M.) de machos de raza Rasa Aragonesa, expuestos a dos meses de días largos (16 h de luz/d) entre el 22 de diciembre y el 22 de febrero (Fotoperiodo Artificial, FA), o expuestos al fotoperiodo natural (FN), tratados (+M) o no (-M) con tres implantes de melatonina al final de los días largos. a,b:  $P < 0,10$ ; c,d:  $P < 0,05$

### EFFECT OF LONG DAYS ASSOCIATED OR NOT WITH MELATONIN IMPLANTS ON TESTOSTERONE LEVELS AND PERFORMANCE ON A SERVING CAPACITY TEST OF RAMS

**ABSTRACT:** The aim of this experiment was to determine the effect of two months of long days in combination or not with exogenous melatonin on plasma testosterone concentrations and the results of a serving capacity test. Sixteen rams were exposed (AP group;  $n=8$ ) or not (NP;  $n=8$ ) to two months of long days, and receiving (+M) or not (-M) three subcutaneous melatonin implants. Thus, four experimental groups were created: AP+M ( $n=4$ ), AP-M ( $n=4$ ), NP+M ( $n=4$ ) and NP-M ( $n=4$ ). AP rams had lower testosterone levels than NP rams after 30 days of treatment and higher 30 days after melatonin implantation, with no effect of treatment with melatonin. AP rams presented more serves than NP rams during the test ( $P < 0.05$ ), with no effect of melatonin treatment, but with a significant interaction between treatments ( $P < 0.05$ ). The first serve was sooner reached by AP+M rams, with significant effect of photoperiod and melatonin ( $P < 0.01$ ). In conclusion, exogenous melatonin increased testosterone secretion and improved sexual activity of rams in spring when they were under natural photoperiod conditions. However, the sexual activation of rams induced by artificial photoperiod alone seems to have similar effects. The exposition to 2 months of long days not accompanied by the insertion of subcutaneous melatonin implants can be an option when a non-hormonal reproductive strategy is scheduled,

**Keywords:** ram, long-days, melatonin, serving test

## **EFFECTO DE LA EXPOSICION DE LOS MACHOS A DIAS LARGOS EN PRIMAVERA SOBRE LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE UNA CUBRICION EN JUNIO EN UNA GANADERIA ECOLOGICA DE LA RAZA CHURRA**

Palacios, C.<sup>1</sup> y Abecia, J.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales. Universidad de Salamanca. <sup>2</sup>IUCA Universidad de Zaragoza. Proyecto AGL2013-41200-P. [alf@unizar.es](mailto:alf@unizar.es)

### **INTRODUCCION**

En los últimos tres años, nuestro grupo de investigación ha desarrollado protocolos de manejo de los rebaños ovinos que han abierto nuevas expectativas a la posibilidad de plantear sistemas sostenibles en el manejo reproductivo de las ovejas. Así, hemos demostrado que moruecos activados sexualmente en primavera mediante la exposición a días largos durante dos meses más implantes de melatonina, prolongan la actividad ovárica y estral de ovejas Rasa Aragonesa en primavera, suprimiendo prácticamente su anestro estacional (Abecia et al., 2015); además, este tipo de machos adelantan la reactivación de la actividad sexual de las hembras en pleno anestro estacional cuando han parido a finales de la época reproductiva (Abecia et al., 2016a), e inducen la pubertad de corderas nacidas en septiembre (Abecia et al., 2016b). Cuando se utilizan en un efecto macho, incrementan de manera significativa la proporción de ovejas gestantes y el número de corderos nacidos por oveja en cubriciones en mayo (Abecia et al., 2017a). En relación al propio tratamiento, y centrándonos en las posibilidades de la ganadería ecológica, hemos comprobado que la eliminación de los implantes de melatonina no modifica la secreción de testosterona de los machos ni su comportamiento sexual (Abecia et al., 2017b), lo que permitiría su aplicación en este tipo de ganaderías. Queda por confirmar la posibilidad de reducir la exposición a días largos de estos machos y su comportamiento en condiciones de campo. El objetivo de este trabajo fue estudiar si el uso de machos expuestos a 45 días largos sin melatonina, en una cubrición de ovejas de raza Churra en el mes de junio, mejora los resultados reproductivos de las ovejas en una explotación ecológica.

### **MATERIAL Y METODOS**

La experiencia se ha realizado en una ganadería ecológica de la raza Churra localizada en Fariza (Zamora). Se han utilizado 8 machos adultos, 4 de los cuales fueron expuestos a condiciones de fotoperiodo natural (machos Control), y los otros 4 se sometieron a 16 horas de luz/día (>300 lux a la altura de los ojos) desde el 15 de abril hasta el 31 de mayo (machos Tratados). Al finalizar los días largos, este grupo retornó a las condiciones naturales de luz natural. El 15 de junio se inició la cubrición de 144 ovejas de la misma raza, que llevaban separadas de los machos más de seis meses, estando divididas en dos grupos: grupo C (n=72), que fueron cubiertas por los machos Control, y grupo T (n=72), cubiertas por los machos Tratados con luz artificial. La cubrición tuvo una duración de 45 días y ambos grupos permanecieron separados físicamente, en distintas naves. Todos los animales estaban en ordeño, con unos tres meses post parto. En todo momento ambos grupos tenían acceso a pastos en parcelas separadas y eran suplementados de igual forma en el aprisco con 1 kg de heno de hierba de pasto natural de dehesa, 0,600 kg de una mezcla de concentrados (50% avena, 35% cebada, 15% guisantes), y 0,035 kg de corrector vitamínico mineral, todos de producción certificada ecológica. Tras los partos se calculó el porcentaje de fertilidad (ovejas paridas/ovejas puestas a cubrir x 100), la prolificidad (corderos nacidos/parto) y la fecundidad (corderos nacidos/ovejas puesta a cubrir) de ambos grupos, comparándose por la prueba de chi cuadrado (fertilidad) o por análisis de varianza (prolificidad y fecundidad).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 resume los resultados reproductivos observados en ambos grupos. El uso de machos activados mediante fotoperiodo artificial incrementó en un 26% ( $p=0,001$ ) la proporción de ovejas gestantes en relación a las ovejas cubiertas por machos no tratados. Esta mejora es similar a la observada por nuestro grupo en ovejas Rasa Aragonesa en cubriciones de mayo (22%), utilizando machos expuestos a dos meses de días largos e implantados con melatonina (Abecia et al., 2017a). No se observó efecto de los machos tratados sobre la prolificidad, pero el aumento de la fertilidad dio lugar a que el número final de corderos nacidos por oveja (fecundidad) fuera significativamente superior en el grupo T ( $p<0,01$ ), lográndose 34 corderos extra por cada 100 ovejas cubiertas por estos machos. Del mismo modo, este aumento es comparable al obtenido por machos tratados durante dos meses con luz artificial e implantados con melatonina (44 corderos extra, Abecia et al., 2017a).

A pesar de que el planteamiento de la cubrición tenía como objetivo realizar un efecto macho, mediante el aislamiento previo de las ovejas, la curva de partos de ambos grupos (Fig. 1) demuestra que las ovejas llegaron a la cubrición con un alto grado de ciclicidad, ya que no se observa el típico patrón de partos tras un efecto macho. Esto indicaría que las diferencias en fertilidad observadas en este trabajo pudieron deberse, más que a una mayor inducción de ovulaciones y celos por un efecto macho, a una mejora de la calidad espermática de los machos, dando lugar a un mayor número de ovejas gestantes, o a una mayor actividad sexual de los machos tratados con días largos en primavera, como así hemos comprobado recientemente (Abecia et al., 2017b).

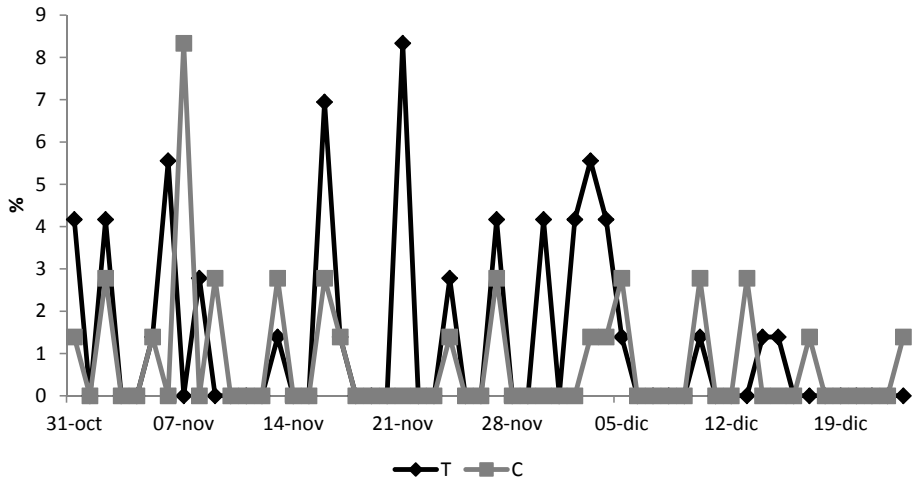
**Tabla 1.** Resultados de fertilidad, prolificidad y fecundidad (media±E.S.M.) de ovejas de raza Churra, cubiertas con machos expuestos al fotoperiodo natural (C) o con machos expuestos a 1,5 meses de días largos (16 h de luz/día) del 15 de abril al 31 de mayo (T).

	n	Fertilidad (%)	Prolificidad	Fecundidad
C	72	42%	1,13±0,06	0,47±0,08
T	72	68%	1,18±0,09	0,81±0,08
Significación (p)		0,001	0,662	0,002

En conclusión, la utilización de machos activados sexualmente mediante fotoperiodo artificial en primavera aumenta la producción final de corderos por oveja. Estos resultados apoyan las observaciones hasta ahora registradas, y confirman la posibilidad de utilizar tratamientos lumínicos de mes y medio sin la necesidad del apoyo de los implantes de melatonina, lo que abre un campo al manejo sostenible de la reproducción ovina, especialmente en el contexto de la ganadería ecológica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia, J.A., Chemineau, P., Flores, J.A., Keller, M., Duarte, G., Forcada, F., Delgadillo, J.A. 2015. *Theriogenology* 84:1549–1555
- Abecia, J.A., Chemineau, P., Gómez, A., Palacios, C., Keller, M., Delgadillo, J.A. 2016a. *International Conference: Steps to Sustainable Livestock*
- Abecia, J.A., Chemineau, P., Gómez, A., Keller, M., Forcada, F., Delgadillo, J.A. 2016b. *Anim. Reprod.Sci.*170: 114–120
- Abecia, J.A., Delgadillo, J.A., Keller, M., Palacios, C., Chemineau, P. 2017a. *9th International Sheep Veterinary Congress.*
- Abecia, J.A., Delgadillo, J.A., Palacios, C., Chemineau, P., Keller, M. 2017b. *XVII Jornadas sobre Producción Animal.*



**Figura 1.** Distribución de partos de ovejas de raza Churra, cubiertas del 15 de junio al 30 de julio con machos expuestos al fotoperiodo natural (C) o con machos expuestos a 1,5 meses de días largos (16 h de luz/día) del 15 de abril al 31 de mayo (T).

#### EFFECT OF EXPOSURE TO LONG-DAYS OF RAMS IN SPRING ON REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF EWES DURING A JUNE MATING SEASON, IN AN ORGANIC CHURRA SHEEP FARM

**ABSTRACT:** The aim of this experiment was to determine the effect of the exposure of 45 days of long days without exogenous melatonin, on the results of a mating season in June in a Churra organic farm. Eight rams were divided into two groups, so that half of them were under the natural photoperiodic conditions (control rams), and the remaining rams were exposed to 45 days of long days (16 h of light/day) from 15 Apr to 31 May (treated rams). On 15 Jun, rams were introduced in two groups of ewes, which had previously been isolated from rams: group C (n=72), mated with control rams, and group T (n=72), mated with treated rams. Proportion of ewes pregnant (fertility) was significantly higher in the T group of ewes (68%), compared with the C group (42%) (p=0.001). No differences between groups were observed for the number of lambs born per lambing (prolificacy) (C: 1.13±0,06; T: 1.18±0,09), but the number of lambs born per ewe (fecundity) was significantly higher in the T group (C: 0.47±0.08; T: 0.81±0.08; p<0.01). In conclusion, the use of sexually-activated rams in spring by only 45 days of long days improves reproductive performance of Churra ewes, producing 34 extra lambs per 100 ewes. This is especially interesting in organic sheep farming.

**Keywords:** ram, long-days, fertility, fecundity

## **LA PRESENCIA DE CABRAS EN ESTRO MEJORA EL COMPORTAMIENTO SEXUAL DE LOS MACHOS CABRÍOS DURANTE EL REPOSO SEXUAL**

Ramírez, S.<sup>1</sup>, Hernández, H.<sup>1</sup>, Mendieta, E.S.<sup>1</sup>, Nandayapa, E.<sup>1</sup>, Keller, M.<sup>2</sup>, Delgadillo, J.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Reproducción Caprina, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fé, C.P. 27054, Torreón, Coahuila, México.

<sup>2</sup>PRC, INRA, CNRS, Université de Tours, IFCE, Agreenium, Nouzilly, France.

[joaldesa@yahoo.com](mailto:joaldesa@yahoo.com)

### **INTRODUCCIÓN**

Los machos cabríos y carneros de latitudes subtropicales, manifiestan estacionalidad de la actividad sexual, y el reposo sexual ocurre de enero a junio (Delgadillo et al., 1999; Benia et al., 2013). Las interacciones socio-sexuales entre machos y hembras pueden modificar dicha estacionalidad sexual. En efecto, la introducción de una hembra en celo en un grupo de machos en reposo sexual, incrementa las concentraciones plasmáticas de LH, testosterona, y mejora el comportamiento sexual. A este fenómeno se le conoce como "efecto hembra" (Walkden-Brown et al., 1994). Sin embargo, el contacto físico total con las hembras en estro no es necesario para estimular la secreción de LH, de testosterona, o el comportamiento sexual. Así, las concentraciones plasmáticas de testosterona son superiores en los carneros que tienen contacto visual con hembras en estro, que en aquellos que tienen contacto visual con hembras en anestro (Longpre et al., 2016). Además, en los machos cabríos que tienen contacto visual con hembras en estro, el número de eyaculaciones es mayor al ponerlos en contacto con otras hembras en estro, que en aquellos en contacto visual con hembras en anestro. Sin embargo, en los machos cabríos, el contacto visual con hembras en estro no impide la disminución de las concentraciones plasmáticas de testosterona, ni de la circunferencia escrotal durante el reposo sexual (Giriboni et al., 2016). Estos resultados indican que es necesario el contacto físico completo con cabras en estro para estimular la secreción de testosterona, y por ende, mejorar el comportamiento sexual de los machos cabríos durante el reposo sexual. Por tanto, nuestra hipótesis es que en los machos cabríos del subtropico mexicano, la presencia de hembras en estro podría mantener un intenso comportamiento sexual de los machos durante el periodo de reposo sexual.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Un grupo de cabras ovariectomizadas (OVX; n=9) estuvo durante el estudio en anestro, mientras que en el otro grupo de cabras OVX (n=9), 3 hembras se indujeron al estro cada semana, con la aplicación SC de 10 y 5 mg de progesterona con 12 h de intervalo, seguida de la aplicación de 1 mg de estradiol 72 h después (Billings y Katz, 1997). Los machos cabríos se distribuyeron en dos grupos (n=5 cada uno) de acuerdo a su condición corporal ( $2,4 \pm 0,06$  cada uno) y circunferencia escrotal ( $28,4 \pm 0,8$  cada uno). Durante todo el estudio, un grupo de machos permaneció en contacto físico completo con 3 de las 9 cabras inducidas al celo durante una semana, mientras que el otro grupo de machos permaneció en contacto con 3 de las 9 hembras en anestro. Las hembras de ambos grupos se sustituían semanalmente por otras 3 hembras durante todo el estudio. El comportamiento sexual de los machos se determinó una vez al mes durante febrero, marzo, y abril. Para ello, cada macho se trasladó a un corral de prueba (2 x 2 m) para exponerlo durante 10 min a una cabra en anestro o en estro, según el grupo de machos. Se registraron las aproximaciones que los machos realizaban a las hembras, los olfateos ano-genitales, y los intentos de monta. El comportamiento sexual de los machos de los dos grupos se comparó con la prueba de U de Mann-Whitney. Los datos son expresados en media  $\pm$  error estándar de la media (e.e.m.), y las diferencias estadísticas significativas se consideraron al nivel de  $P \leq 0,05$ .

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

El comportamiento sexual desplegado por los machos cabríos en contacto con las hembras en estro fue más intenso que el de los machos en contacto con las hembras en anestro (Tabla 1).



**Tabla 1.** Comportamiento sexual de los machos cabríos durante el periodo de reposo sexual, al estar en contacto con cabras en anestro o en estro.

Variables	Febrero		Marzo		Abril	
	♂ + cabras en estro	♂ + cabras en anestro	♂ + cabras en estro	♂ + cabras en anestro	♂ + cabras en estro	♂ + cabras en anestro
Aproximaciones	32,4±9,2 <sup>a</sup>	1,2±0,5 <sup>b</sup>	45,6±15,0 <sup>a</sup>	2,0±0,6 <sup>b</sup>	12,7±4,9 <sup>a</sup>	1,8±0,5 <sup>b</sup>
Olfateos ano-genitales	6,6±1,7 <sup>a</sup>	1,6±0,6 <sup>a</sup>	9,0±0,7 <sup>a</sup>	2,0±1,0 <sup>b</sup>	8,5±1,7 <sup>a</sup>	1,4±0,6 <sup>b</sup>
Intentos de monta	2,4±0,7 <sup>a</sup>	0,2±0,1 <sup>b</sup>	2,0±0,6 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	1,0±0,5 <sup>a</sup>	0,2±0,1 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P \leq 0,01$ ).

Los resultados del presente estudio indican que la presencia de hembras en estro mejora el comportamiento sexual de los machos cabríos durante el periodo de reposo sexual, a través del fenómeno conocido como “efecto hembra”. Es probable que la presencia permanente de las hembras en estro estimulen la secreción de LH y testosterona, y en consecuencia, se mejore el comportamiento sexual de los machos en el periodo de reposo. Esta hipótesis es sustentada por los estudios que muestran que la presencia de cabras u ovejas en estro estimula la secreción de LH y testosterona de los machos durante el periodo de reposo sexual (Gonzalez et al., 1988; Walkden-Brown et al., 1994). En estos últimos estudios, las hembras en estro permanecieron con los machos solamente de 4 a 8 horas. En caprinos no existe, a nuestro conocimiento, ningún estudio que haya explorado la respuesta de los machos al estar en contacto físico permanente con hembras en estro durante el periodo de reposo sexual. En el presente estudio, la presencia de las cabras en estro mejoró el comportamiento sexual de los machos, por lo que estos resultados abren nuevas perspectivas para estimular la actividad sexual de los machos cabríos en el reposo sexual. En efecto, es probable que la presencia de las cabras en estro mejoren la producción espermática cuantitativa y cualitativa durante el periodo de reposo sexual.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benia, A.R., Taibi, K., Ait-Amrane, A., Belhamiti, T., Hammoudi, S.M. & Kaidi, R. 2013. Afr. J. Biotechnol. 12, 6042-6048.
- Billings, H.J. & Katz, L.S. 1997. Horm. Behav. 31, 47-53.
- Delgado, J.A., Canedo, G.A., Chemineau, P., Guillaume, D. & Malpoux, B. 1999. Theriogenology. 52, 727-737.
- Gonzalez, R., Orgeur, P. & Signoret, J.P. 1988. Theriogenology. 30, 1075-1086.
- Giriboni, J., Lacuesta, L. & Ungerfeld, R. 2016. Theriogenology. 87, 284-289.
- Longpre, K.M., Guterl, J.N. & Katz, L.S. 2016. Small Rumin. Res. 144, 334-340.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W. & Scaramuzzi, R.J. 1994. J. Reprod. Fert. 100, 521-53

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a Dolores López Magaña, Julio Elid Salazar Rodríguez, Jesús García García, Perla Violeta de Luna Rábago y Lilia Irán Venegas López, por su apoyo en la realización del presente estudio. Este estudio fue financiado por el CONACYT-Ciencia básica (254176).

**THE PRESENCE OF FEMALE GOATS IN ESTRUS IMPROVES THE SEXUAL BEHAVIOR OF BUCKS DURING THE SEXUAL REST**

**ABSTRACT:** We determined whether the presence of ovariectomized goats induced in estrus improves the sexual behavior of males during the sexual rest. One group of males remained in contact with ovariectomized goats in anestrus from February to April, whereas another group remained in contact with ovariectomized goats induced in estrus during the same time. The sexual behavior of males during the sexual rest, assessed by nudging, anogenital sniffing, and mount attempts, was higher in males in contact with females in estrus than in those in contact with females in anestrus.

**Keywords:** caprine, reproductive seasonality, subtropics

## **EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ACEITE VEGETAL MODIFICADO EN LA ALIMENTACIÓN DE BORREGAS F1 SOBRE SU CONDICIÓN CORPORAL Y SUS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS**

Rosa-Velázquez, M., Isabel, B., De Gasperin, I., Pinos, J.M., Estrada, A.T. Hernández, J.A. y Vicente, J.G.  
Universidad Veracruzana, CP. 91000 Xalapa, Veracruz, México. mrrosav@yahoo.com

### **INTRODUCCIÓN**

Hay situaciones donde los animales no pueden consumir suficiente energía para cubrir sus requerimientos fisiológicos y productivos, como por ejemplo cuando las inclemencias del tiempo limitan el crecimiento del forraje en los sistemas basados en pastoreo, o cuando las condiciones del suelo y la vegetación de ciertas regiones no proporcionan pastos con los nutrientes necesarios para la conversión en un aporte energético significativo para el animal. Por lo tanto, la razón más evidente por la que se adicionan lípidos en la alimentación es el incrementar la densidad calórica en la dieta ovina. El uso de grasas en la alimentación ovina, además de proveer una fuente concentrada de energía, observa una importancia paralela a su nivel de saturación ya que las grasas poliinsaturadas y monoinsaturadas sufren modificaciones a nivel ruminal como la biohidrogenación, dando origen a una serie de isómeros del ácido linoleico conjugados (CLA) de importancia biológica trascendental. El interés en el área de suplementación con lípidos en la dieta de rumiantes ha incrementado a partir de la década de 1990 (Hess *et al.*, 2008). Desde que Williams reporta por primera vez en 1989 el uso de lípidos en la dieta como una manera de influir de forma positiva en los parámetros reproductivos en el ganado, se ha añadido más evidencia sobre el uso de grasas para modificar esta función biológica. Una serie de investigaciones han estudiado la influencia de añadir grasas con alto contenido de ácido linoleico en las respuestas reproductivas del ganado. Esta suplementación con fuentes ricas en ácidos grasos poliinsaturados ha demostrado un efecto positivo sobre varios aspectos reproductivos del animal como son: dinámica folicular, perfiles y cambios hormonales, calidad ovocitaria, y desarrollo embrionario (Fuston, 2004). Bottger *et al.*, (2002) observaron que el añadir semillas de cártamo en la dieta, las cuales tienen un alto contenido de ácido linoleico, permitió que las vacas mantuvieran una mejor condición corporal. La gran mayoría de los estudios sobre el uso de lípidos en la nutrición de rumiantes han demostrado un limitado efecto en ganado bovino y caprino, sin embargo existe poca evidencia sobre el efecto de la suplementación de grasa en el metabolismo y comportamiento productivo y reproductivo de la reproductora ovina ya que dicho metabolismo muchas veces puede ser diferente al de las vacas y las cabras. Por todo lo anterior resulta importante determinar el efecto que tiene la adición de grasa vegetal modificada a través de la alimentación de las borregas F1 sobre su condición corporal y sus parámetros reproductivos.

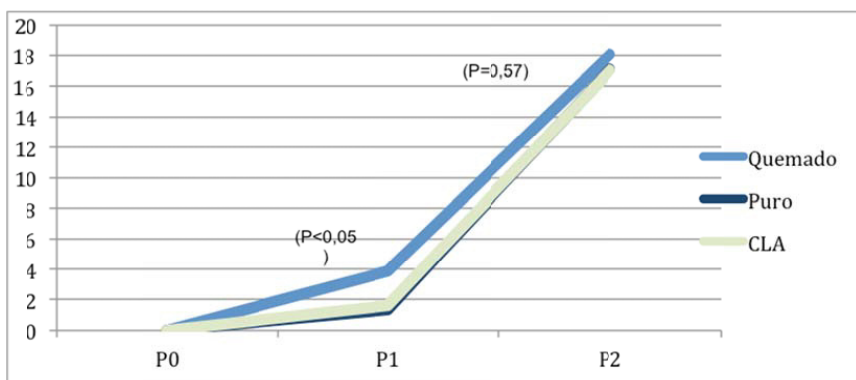
### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El presente estudio se realizó en el Módulo de Ovinos y Caprinos de la Posta Zootécnica "Torreón del Molino" de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana (19° 10' Latitud Norte, 96° 10' Longitud Oeste, 15 metros sobre el nivel del mar). Para la realización del estudio se utilizaron 33 ovejas F1 (East Friesian X ovino de pelo) de segundo parto, condición corporal 3 y peso 38 Kg +/-3; que fueron seleccionadas al azar y asignadas a tres tratamientos (isoenergéticos). Las ovejas fueron alimentadas con una ración total (15,06% PB, 6,85% GB y 46,18% FND) compuesta por 70% de heno de pasto pangola como forraje, maíz 15,28%, pasta de soja 9,82%, corrector 0,9% y 80 g/d del aceite correspondiente; tratamiento 1: CLA 20 g + 60 g de aceite (modificado al adicionar el CLA), tratamiento 2: aceite puro 80 g (testigo, aceite mixto sin modificación) y tratamiento 3: 80 g de aceite quemado de freiduría (el aceite puro utilizado en los primeros dos tratamientos solo que se modificó siendo utilizado en la freiduría de productos del mar). Los tratamientos se suministraron dos semanas paralelas a la sincronización de estros, una semana posterior a su inseminación y confirmada la gestación (a partir del día 70 posterior a la inseminación con semen de machos Dorper) lo recibieron nuevamente. Las ovejas fueron colocadas en tres corrales de alojamiento múltiple, 11 ovejas por corral. Las ovejas

se pesaron al inicio de la prueba y cada 4 semanas hasta el parto. Para evaluar el efecto de la dieta sobre la ganancia de peso en porcentaje (GP%), porcentaje de partos gemelares, el número de repeticiones de celo (RDC) y el peso de los corderos al nacimiento, se utilizó un análisis de varianza ANOVA del paquete estadístico SAS Enterprise 4.3 (2006-2010).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran las ganancias de peso en porcentaje de las ovejas a las cuatro semanas posteriores al inicio de la prueba (Peso1) y antes de parto (Peso 2). Se pudo observar un efecto significativo en los porcentajes de ganancia de peso ( $P < 0,05$ ) del P1 en donde el grupo de aceite quemado aumento un 3% y los otros dos grupos obtuvieron una GP% menor (1,5% cada uno). Contrario a lo anterior no se encontraron diferencias significativas ( $P = 0,57$ ) de la GP% antes del parto ya que los pesos de todos los grupos tendieron a emparejarse durante este periodo (aceite quemado 18%, CLA y Puro 17,5%).



**Figura 1.** Efecto de los tratamientos sobre la ganancia de peso en porcentaje (%) de las ovejas a las cuatro semanas posteriores al inicio de la prueba (P1) y antes de parto (P2).

En la Tabla 1 se muestran los valores medios de los siguientes parámetros: repetición de celos, partos gemelares y peso al nacimiento. No se observaron diferencias para los parámetros de partos gemelares y peso al nacimiento ( $P > 0,05$ ). Por otra parte, se observó una tendencia cercana a la significancia en el porcentaje de repetición de celos ( $P = 0,055$ ), por lo que se ha de considerar un efecto del tratamiento sobre el RDC.

**Tabla 1.** Efecto de los tratamientos sobre los parámetros repetición de celos, partos gemelares y peso al nacimiento.

	Quemado	CLA	Puro	EEM <sup>1</sup>	P
N	11	11	11		
Repetición de celos %	55	27	9	0,208	0,055
Partos gemelares %	18	0	9	0,080	0,746
Peso al nacimiento, kg	3,91	3,73	3,50	0,541	0,257

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

Al igual que un estudio realizado por Castañeda-Gutiérrez et al., (2009) la alimentación con suplementación lipídica tuvo influencia sobre la condición corporal tras 21 días de haber comenzado los tratamientos pero no mostró efectos significativos pasados los 28 días. Esta diferencia se puede deber a que la flora ruminal se adaptó mejor al aceite quemado por tener menor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de menos de 20 y de más de 14 carbonos, ya que cuando la flora ruminal se empieza adaptar estos son mayormente tóxicos. El RDC se puede relacionar con el número de servicios por concepción (NSC); al aumentar

RDC aumentará también el NSC. La leve significancia encontrada entre el tipo de tratamiento sobre el RDC se puede contrastar con lo encontrado en un estudio realizado por McNamara et al. (2003) en donde se observó que el uso de suplementación con dos fuentes similares de lípidos no mostró diferencias significantes en el NSC. Las investigaciones halladas hasta el momento comparan el efecto de una suplementación lipídica sobre el número de servicios por concepción; por ejemplo Hutchinson et al. (2011) observó en un estudio sin suplementación lipídica vs. suplementación con CLA, que esta suplementación lipídica tendió a disminuir el NSC, mostrando un efecto significativo de la suplementación con grasas sobre el RDC sin embargo el objetivo de nuestro trabajo fue evaluar si el efecto de disminución en el NSC disminuye por efecto del CLA o por la grasa *per se*. Dado que estos resultados son datos preliminares y que al momento no se encontraron estudios que relacionen el número de partos gemelares con la adición de grasas en la alimentación, se requieren de más investigaciones para corroborar si existe un efecto significativo de la suplementación con grasas sobre los partos dobles. La ausencia de efecto de la adición de aceite modificado utilizado en la alimentación de las ovejas sobre el peso al nacimiento de los corderos coincide con lo reportado por Colazo et al. (2009). El factor por el cual no se encontraron evidencias en los pesos de los corderos al nacimiento se puede deber a que hubo poca diferencia en los niveles de poliinsaturación entre los diferentes tratamientos para influir sobre este parámetro. En conclusión es necesario realizar más investigaciones en donde se estudie el efecto que tienen la suplementación con lípidos sobre los parámetros reproductivos, siendo necesarios un mayor número de repeticiones, diferentes tipos de saturación y niveles de inclusión de grasa.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bottger, J. D. 2002. J Anim Sci 80, 2023-2030.
- Castañeda-Gutiérrez, E. 2009. Animal Reproduction Science 112 (2009) 301-315.
- Colazo, M. 2009. J. Dairy Sci. 92: 2562-2571.
- Fuston, R. 2004. J. Anim. Sci. 85: E154-161E.
- Hess, B. 2008. J Anim Sci May 2008, 1-61.
- Hutchinson, I. 2011. Journal of Dairy Research 78: 308-317.
- McNamara, S. 2003. Animal Reproduction Science 79 (2003) 45–56.
- Williams, G. 1989. J Anim Sci 67: 785–793.

**Agradecimientos:** Este estudio se ha realizado gracias al financiamiento de un proyecto de fortalecimiento de cuerpos académicos otorgado por el PRODEP y la Universidad Veracruzana de México al UV-CA-382 (Referencia103.5/15/10542/CVEUV-CA-382.21029).

#### EFFECT OF DIETARY MODIFIED VEGETABLE OIL SUPPLEMENTATION OF F1 EWES ON BODY CONDITION AND REPRODUCTIVE MARKERS

**ABSTRACT:** The present study investigated the effect of supplementing ewes with modified vegetable oil and CLA throughout the estrus synchronization, pregnancy and lactation on the body condition and reproductive markers (estrus repetition, twinning and calf weight at birth) of F1 ewes. Thirty-three ewes were supplemented with one of three concentrates containing vegetable oil, vegetable oil and CLA or recycled vegetable oil used in seafood deep frying two weeks parallel to ovulation synchronization, one week after the insemination, and once confirmed gestation until weaning. Ewes were fed a 70/30 ratio of pangola grass hay (*Digitaria decumbens*)-concentrated and supplemented with 80 g/day of fat according to their experimental group. Treatment diets had no effect ( $P>0,05$ ) on twinning and calf weight at birth. However, an effect was observed on the body condition ( $P<0,05$ ) four weeks after the beginning of treatments, and a little effect of supplementation was observed on the estrus repetition ( $P=0,055$ ). To substantiate the current findings more conclusively, further research is required in which the effect of lipid supplementation on reproductive parameters is studied, requiring a greater number of repetitions, different types of saturation and fat inclusion levels.

**Keywords:** vegetable oil, conjugated linoleic acid, reproduction, sheep.

## **UNA DECADA DEL PLAN DE EXPLOTACIÓN DE ANGRA DE LA MUTACIÓN OVINA FECX<sup>R</sup> (GEN GASE): RESULTADOS REPRODUCTIVOS**

A. Macías<sup>1</sup>, A. Laviña<sup>1</sup>, E. Martín<sup>1</sup>, Luis V. Monteagudo<sup>2</sup>, M.T. Tejedor<sup>2</sup>, I Sierra<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de la Raza "Rasa Aragonesa".

(ANGRA). Cabañera Real s/n. 50800 ZUERA (ZARAGOZA). Email: angra@rasaaragonesa.com

<sup>2</sup>Departamento de Anatomía, Embriología y Genética. <sup>3</sup>Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177. 50013 ZARAGOZA. Email: [monteagu@unizar.es](mailto:monteagu@unizar.es)

### **INTRODUCCION**

La "Rasa Aragonesa" es una raza ovina autóctona que se localiza mayoritariamente en el noreste de España. Se caracteriza por ser una raza rustica de aptitud cárnica con una prolificidad media de 1,3 corderos/parto. En el año 2007 se identificó en esta raza FecX<sup>R</sup>, una variante del gen ovino BMP15, que produce un aumento de prolificidad en las hembras portadoras, lo que implica un mayor número de corderos por parto y por tanto aumento de los ingresos y mejora de la rentabilidad. A partir de entonces, la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de la Raza Rasa Aragonesa (ANGRA) desarrolla un plan de explotación de esta variante dentro de su esquema de mejora, bajo el nombre comercial de gen ANGRA Santa Eulalia (GASE). Este plan está basado en la identificación de los animales portadores mediante análisis de DNA y en un estricto control de los apareamientos, ya que la principal desventaja de esta variante genética es que las hembras homocigotas son estériles. El diseño de los apareamientos es sencillo ya que se trata de un gen ligado al cromosoma X. El plan también incluye evitar la consanguinidad y el mantenimiento de la morfología, protegiendo y fomentando la cría en pureza de la raza.

En el año 2009 se presentaron a las XIII Jornadas de Producción Animal los resultados iniciales de la difusión de FecX<sup>R</sup>, en el esquema de ANGRA (Laviña et al., 2009). Pasada casi una década desde el inicio de estas tareas, se ha analizado en laboratorio el DNA de más de 11.000 ejemplares, identificándose más de 4.200 hembras portadoras de FecX<sup>R</sup>, además de 196 machos. Este tipo de animales está presente en la actualidad en más de 100 ganaderías asociadas a ANGRA, a las que se ha hecho llegar esencialmente a través de cerca de 10.000 inseminaciones artificiales. El presente trabajo pretende actualizar y comparar frente a no portadoras (SALVAJES), los datos que evalúan la eficiencia reproductiva de las ovejas portadoras de la mutación FecX<sup>R</sup>.

### **MATERIAL Y METODOS**

La información utilizada procede de las 19 ganaderías de ANGRA que explotan más animales portadores de FecX<sup>R</sup> y ha sido extraída del Control de Producciones del Libro Genealógico de la Rasa Aragonesa gestionado por ANGRA. Estas explotaciones participan activamente en el Esquema de Selección de la raza y poseen un elevado número de animales procedentes de inseminación artificial, así como individuos portadores del gen GASE. Se han utilizado registros de un total de 23.645 individuos y 84.538 partos. Las variables consideradas son las siguientes: prolificidad (número de corderos nacidos -vivos y muertos- por parto), intervalo entre partos (número medio de días que transcurren entre un parto y el siguiente), porcentaje de bajas entre las ovejas, tipo de parto, edad al primer parto y vida productiva. Para el estudio estadístico se ha utilizado el paquete SPSS v22. Las comparaciones de medias se han realizado mediante t de Student y ANOVA. Las comparaciones de porcentajes se han realizado mediante el test de Chi cuadrado de Pearson. La vida productiva (diferencia en meses entre el último parto conocido y el primero de cada oveja) se ha analizado mediante técnicas de análisis de supervivencia; la prueba de Breslow permitió la comparación de la vida productiva de los dos grupos considerados.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 recoge en primer lugar las diferencias no significativas en mortalidad y en intervalo entre partos entre los dos tipos de ovejas, descartando posibles desventajas de las portadoras de FecX<sup>R</sup>. Como se esperaba, las diferencias son altamente significativas en prolificidad, de acuerdo con la percepción de los ganaderos (López, 2016), llevando a la adición de aproximadamente 35 corderos cada 100 partos. Este resultado se explica por las diferencias en la proporción de los diferentes tipos de parto (simple o múltiple); cabe destacar en este sentido la diferencia apreciada en el primer parto, donde los partos dobles de las ovejas portadoras de FecX<sup>R</sup> superan con mucho los obtenidos por las salvajes. La proporción de partos triples se ha mantenido dentro de la proporción esperada, llegando al 5% en el primer parto y situándose en el 11% en el conjunto de los partos.

La edad al primer parto, es un factor importante para el aumento de productividad debido a que en la raza Rasa-Aragonesa adelantar el primer parto supone una mayor rentabilidad de los animales (Jurado y Jimenez, 2013). Para el análisis se trabaja con 8.552 primeros partos de hembras Salvajes y 1.237 primeros partos de portadoras. La prueba de Levene para la comparación de las varianzas de los grupos detecta diferencias altamente significativas entre las varianzas de salvajes y portadoras: las salvajes son más variables en su edad al primer parto. El test de t compara las medias de los grupos (18,75 meses en las salvajes y 17 meses en las portadoras), detectando diferencias altamente significativas entre ambas: las portadoras son más jóvenes en su edad al primer parto. Aun no siendo este un efecto previsto de FecX<sup>R</sup> al inicio del programa, a largo plazo ha sido detectado y cuantificado, confirmando las observaciones de Alabart et al. (2016). Esta diferencia contribuye a la significativamente más larga duración de la vida productiva de las portadoras, con una media de 74,54 meses frente a 64,66 en las salvajes. Este dato, que se refleja en la percepción general de los productores (López, 2016), permite descartar una de las preocupaciones detectadas entre los ganaderos en los primeros tiempos del programa: intuitivamente, muchos de ellos esperaban que los ejemplares portadores de la mutación sufrieran un mayor “desgaste”, que acortaría su vida útil.

La pequeña diferencia entre el intervalo entre partos en ambos grupos no es significativa (cinco días de media en favor de las portadoras).

Podemos concluir que las ovejas portadoras de FecX<sup>R</sup> son más jóvenes al primer parto, presentan intervalo entre partos similar, muy superior prolificidad y más larga vida productiva, lo que en conjunto permite optimizar la relación entre los gastos fijos que requieren y la producción que generan. Tras una década de uso, el balance parece claramente positivo y nos anima a continuar con este programa de mejora de la producción.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alabart, JL et al., 2016. Archivos de Zootecnia 265:449-452
- Jurado J.J. y Jimenez, M.A., 2013. XV Jornadas sobre Producción Animal de AIDA.
- Laviña, A., 2012. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. Disponible en <https://zaguan.unizar.es/record/7074?ln=es> (último acceso 8 de enero de 2017).
- Laviña, A. et al. 2009 XIII Jornadas sobre Producción Animal de AIDA
- Lopez, M., 2016. Trabajo Fin de Grado Universidad de Zaragoza. Disponible en <https://zaguan.unizar.es/record/58041?ln=es> (último acceso 8 de febrero de 2017)
- Monteagudo, LV et al. (2009). Aní. Repro. Sci. 110: 139-146.

**REPORT OF ONE DECADE OF EXPLOTATION OF THE FECXR OVINE MUTATION  
(GENE GASE) BY ANGRA: REPRODUCTIVE INDICES**

**Abstract:** The reproductive indices of the Rasa Aragonesa ewes carrying the FecX<sup>R</sup> variant are compared to those of wildtype ewes after almost one decade of use. Together with a significantly higher prolificacy, FecX<sup>R</sup> carriers show a significantly lower age at the first parturition, a similar interval between births and a longer productive life. Preliminary intuitive concerns about a possible higher mortality and a shorter survival time are therefore disregarded. In summary, the balance of the inclusion of the mutation in the production improvement program has provided positive results and should be continued in the future.

**Keywords:** FecXR ovine mutation, higher prolificacy, longer productive life, Rasa Aragonesa

**Tabla 1.** Comparativa entre las ovejas salvajes y las portadoras de FecX<sup>R</sup>. a,b: diferente superíndice indica diferencia significativa (  $p < 0,05$ ).

Medias o proporciones con su error estándar			
Variable	Salvajes	Portadoras	p
Prolificidad (corderos/parto)	1,40±0,003	1,75±0,011	<0,005
Intervalo entre partos (días)	283,31±0,750	277,94±1,512	0,198
Mortalidad de ovejas (%)	6,36±0,003	5,58±0,004	0,124
Tipo de parto (%):			<0,005
Sencillo	55,48±0,002 <sup>a</sup>	33,09±0,007 <sup>b</sup>	
Doble	41,00±0,002 <sup>a</sup>	54,08±0,007 <sup>b</sup>	
Triple	3,26±0,001 <sup>a</sup>	11,66±0,004 <sup>b</sup>	
Cuádruple	0,24±0,0002 <sup>a</sup>	1,17±0,001 <sup>b</sup>	
Quíntuple	0,02±0,00005	0	
Tipo de primer parto (%):			<0,005
Sencillo	76,64±0,004 <sup>a</sup>	47,40±0,014 <sup>b</sup>	
Doble	22,53±0,004 <sup>a</sup>	47,09±0,014 <sup>b</sup>	
Triple	0,80±0,001 <sup>a</sup>	5,28±0,006 <sup>b</sup>	
Cuádruple	0,03±0,0002 <sup>a</sup>	0,23±0,001 <sup>b</sup>	
Edad al primer parto (meses)	18,75±0,070	17,00±0,130	<0,005
Vida productiva (meses)	64,66±0,328	74,54±2,634	<0,005



## EDAD Y PROLIFICIDAD AL PRIMER PARTO DE CORDERAS RASA ARAGONESA PORTADORAS O NO DEL ALELO *FecX<sup>R</sup>*

Lahoz, B.<sup>1</sup>, Jiménez-Hernando, M.J.<sup>2</sup>, Jurado, J.J.<sup>2</sup>, Calvo, J.H.<sup>1,3</sup>, Galeote, A.<sup>4</sup>, Blasco, M.E.<sup>4</sup>, Folch, J.<sup>1</sup>, Fantova, E.<sup>4</sup> y Alabart, J.L.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>CITA, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50059 Zaragoza; <sup>2</sup>INIA, 28040 Madrid; <sup>3</sup>ARAID, 50018 Zaragoza; <sup>4</sup>UPRA-Grupo Pastores, 50014 Zaragoza. [blahozc@aragon.es](mailto:blahozc@aragon.es)

### INTRODUCCIÓN

Desde el descubrimiento en 2007 en la raza Rasa Aragonesa del polimorfismo prolífico *FecX<sup>R</sup>* en el gen *BMP15* (Jurado y Calvo, 2007; Martínez-Royo et al., 2008) el número de animales de este genotipo se ha incrementado de manera continua en las ganaderías. Actualmente el 58% (164/283) de los rebaños que forman parte del programa de selección por prolificidad de Unión de Productores de Rasa Aragonesa (UPRA-Grupo Pastores) tienen hembras portadoras heterocigotas (R+), contabilizándose en total 13.024 hembras de este genotipo. De estos, el 38% (63/164) tienen más de un 10% de ovejas R+ (Jurado y Jiménez, 2016). Esto se debe a los efectos demostrados de este polimorfismo sobre la prolificidad de las ovejas heterocigotas y su consecuente impacto positivo en la rentabilidad de las ganaderías. Las ovejas heterocigotas presentan cambios importantes a nivel de sus folículos ováricos. En concreto, se ve afectada su sensibilidad a las gonadotropinas de manera que son capaces de ovular un mayor número de folículos con un menor diámetro, y en algunas razas viene acompañado de alteraciones endocrinas relevantes (Fabre et al., 2006). Estos cambios podrían afectar la entrada en pubertad de los animales. El objetivo del presente trabajo consiste en evaluar la edad al primer parto y la prolificidad de las corderas R+ y ++ en las ganaderías a lo largo de los últimos 12 años.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado los datos del control de producciones del programa de selección por prolificidad de la UPRA-Grupo Pastores. Se dispone de registros de nacimiento de animales ++ desde 1990 y de animales R+ desde 1997, y en ambos casos hasta 2016. Para el presente estudio se eliminaron los años incompletos, de manera que solo se tuvieron en cuenta los datos del periodo 2002-2013. Solo se tuvieron en cuenta aquellas ganaderías en las que había ovejas de ambos genotipos (al menos 2 ovejas ++ y 2 R+). En relación al genotipo se dispone de animales R+ y ++ analizados mediante PCR y animales de genealogía desconocida. En este último caso, dada la baja frecuencia del polimorfismo en la población (Lahoz et al., 2011) esas corderas se consideraron como ++. Para minimizar diferencias debidas al manejo, solo se tuvieron en cuenta los datos de animales con padre conocido, lo que significa que son hijas de Inseminación Artificial (IA). En cuanto a la edad al primer parto, se desestimaron aquellos registros menores de 300 días o mayores de 999 días. Solo se tuvieron en cuenta aquellas ganaderías con al menos 3 años de registros disponibles. En total se han utilizado para el análisis registros de 17.017 ovejas (8.881 ++ y 8.136 R+) procedentes de 163 ganaderías.

Para determinar la relación entre la edad al primer parto y las diferentes variables se utilizó un modelo que incluía como efectos fijos el genotipo (GEN), la ganadería (GAN), el mes de nacimiento (MES) y el año de nacimiento (AÑO). Además, se incluyeron las interacciones entre el genotipo y el mes de nacimiento (GENxMES) y entre el genotipo y el año de nacimiento (GENxAÑO). Partiendo de los mismos datos de la base anterior, se estableció un nuevo modelo para determinar la relación entre la prolificidad y las variables estudiadas. Como efectos fijos se incluyeron el genotipo (GEN), la ganadería (GAN), el mes de nacimiento (MES), el año de nacimiento (AÑO), y como covariable la edad al primer parto (EPP). Se incluyeron las interacciones entre el genotipo y el mes de nacimiento (GENxMES), el genotipo y el año de nacimiento (GENxAÑO) y el genotipo y la edad al primer parto (GENxEPP).

Para estimar los efectos del modelo se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 2016). Salvo que se especifique lo contrario, los resultados se expresan como LSMMeans ± error estándar y la significación estadística se establece al nivel P < 0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

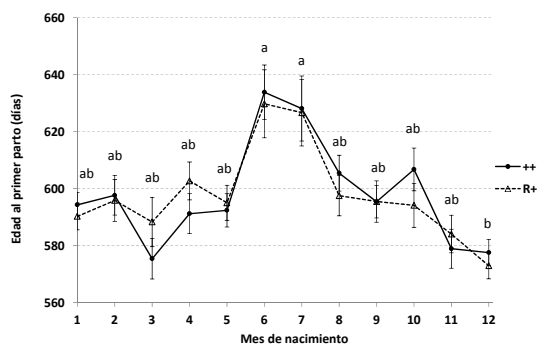
Le edad media al primer parto fue de  $576 \pm 154$  días (media  $\pm$  desviación estándar), es decir, 18,9 meses. En la población estudiada, la EPP de las ovejas R+ fue un día menor que la de las ovejas ++, sin diferencias significativas ( $600 \pm 2$  y  $601 \pm 3$  días, respectivamente).

El año tuvo un efecto significativo sobre la EPP ( $P < 0,0001$ ), con una disminución progresiva de la misma a lo largo de los años ( $P < 0,0001$ ), que se pudo estimar en 4,5 días por año. Sin embargo, la interacción entre el año de nacimiento y el genotipo no fue significativa, por lo que el efecto del año fue similar para ambos genotipos en relación a la EPP.

Se observaron diferencias en la EPP según el mes de nacimiento ( $P < 0,0001$ ), encontrando diferencia de hasta 57 días entre meses. Las corderas nacidas en junio presentaron el primer parto a la edad más alta ( $634 \pm 8$ ), mientras que las nacidas en diciembre lo hicieron a la edad más baja ( $577 \pm 4$  días). La interacción entre el mes de nacimiento y el genotipo no fue significativa, por lo que este efecto fue similar para ambos genotipos (Figura 1).

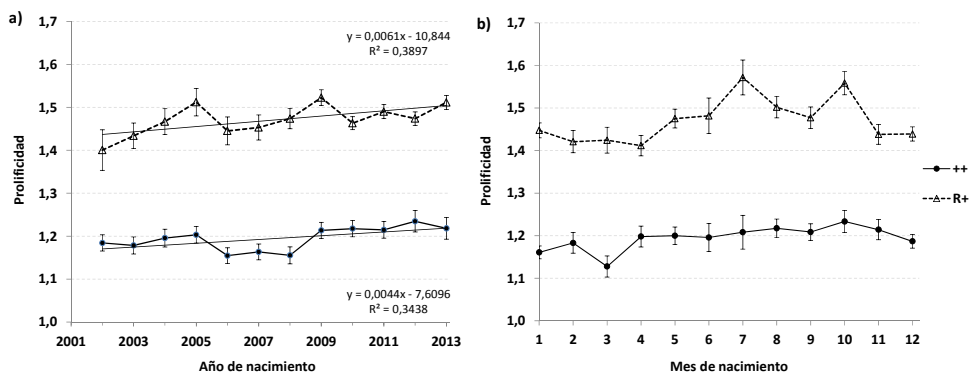
En cuanto al efecto ganadería, de nuevo se observó una gran variabilidad, con medias desde los  $439 \pm 15$  días hasta los  $860 \pm 21$  días ( $P < 0,0001$ ).

En el presente estudio, la EPP ha sido ligeramente inferior a la calculada en el total de la población (19,8), mientras que los efectos del año y del mes de nacimiento han seguido la misma tendencia (Lahoz et al, 2017). Es posible que esto se deba a que, en general, los ganaderos que optan por incluir el genotipo R+ en sus rebaños y además realizan IA son ganaderos que tienen en general un alto nivel técnico y realizan manejos más adecuados.



**Figura 1.** Edad al primer parto en función del mes de nacimiento (periodo 2002-2013) en ovejas portadoras heterocigotas (R+) o no portadoras (++) del alelo prolífico  $FecX^R$ .

Cuando se estudió la prolificidad en el primer parto se observó que todos los efectos resultaron significativos. La edad al primer parto estuvo relacionada con la prolificidad ( $P < 0,0001$ ), de manera que se estimó un incremento de 0,21 corderos/parto por cada 365 días adicionales de EPP. En lo que se refiere al genotipo se observó que las corderas R+ tenían una prolificidad superior a la de las corderas ++ (1,47 vs. 1,19;  $P < 0,0001$ ). Este dato es similar al descrito previamente para corderas de estos genotipos en esta misma raza (Lahoz et al., 2011). La interacción entre el genotipo y el año de nacimiento no fue significativa, lo que indica que el año, aunque tuvo un efecto significativo sobre la prolificidad ( $P < 0,01$ ), afectó de manera similar a ambos genotipos, observándose un incremento de la prolificidad a lo largo de los años (Figura 2a). Tampoco lo fue la interacción entre el genotipo y la EPP, lo que permite descartar que posibles diferencias entre genotipos en la EPP se deban a sus diferencias en prolificidad. El efecto del mes de nacimiento sobre la prolificidad al primer parto fue significativo ( $P < 0,001$ ), con diferencias entre meses de hasta 0,12 corderos por parto. La prolificidad máxima la alcanzaron las corderas que habían nacido en octubre (1,40) y la mínima las que lo hicieron en marzo (1,28). Teniendo en cuenta las EPP observadas este trabajo, probablemente estas variaciones en prolificidad se deban a que las correspondientes cubriciones se hicieron en estación favorable o en contraestación, respectivamente. La interacción entre el genotipo y el mes de nacimiento no fue significativa (Figura 2b).



**Figura 2.** Evolución de la prolificidad a lo largo del periodo 2002-2013 (a) y prolificidad en función del mes de nacimiento (b) en ovejas heterocigotas (R+) o no portadoras (++) del alelo prolífico *FecX<sup>R</sup>*.

En conclusión, las ovejas R+ mostraron ciertas ventajas productivas respecto a las ovejas ++ por su mayor prolificidad. Sin embargo, en este genotipo no se observó una disminución significativa de la edad al primer parto en las ganaderías estudiadas, lo que requiere ser confirmado con otros estudios fisiológicos. El año y mes de nacimiento afectaron por igual a ambos genotipos. La edad y la prolificidad al primer parto demostraron estar relacionadas. En general en ambos genotipos se ha encontrado una mejora progresiva a lo largo de los años tanto de la edad al primer parto como de la prolificidad. Siendo que todas las ovejas del estudio son hijas de IA, estos resultados ponen de manifiesto el buen trabajo a nivel de manejo y tal vez también de mejora genética en el caso de la prolificidad, que están realizando algunas de las ganaderías del programa, observando grandes diferencias entre ellas que ponen de manifiesto que existe un amplio margen de mejora.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fabre et al., 2006. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 4:20.
- Jurado J.J. y Calvo J.H. 2007. ITEA Vol. Extra 28(II): 504-506.
- Jurado y Jiménez, 2016. 23º Cat. reproductores UPRA-Grupo Pastores.
- Lahoz et al., 2011. *J. Anim. Sci.* 89, 3522–3530.
- Martínez-Royo et al., 2008. *Anim. Genet.* 39, 294–297.
- Lahoz et al., 2017. XVII Jornadas Prod. Anim. AIDA
- SAS Institute Inc. 2016. SAS/STAT® 14.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc

**Agradecimientos:** Financiado con fondos FEDER a través de POCTEFA (Proyecto PIRINNOVI EFA103/15) y CDTI (Proyecto IDI-20160426).

### AGE AND PROLIFICACY AT FIRST LAMBING OF RASA ARAGONESA EWE LAMBS CARRYING OR NOT THE *FecX<sup>R</sup>* ALELLE

**ABSTRACT:** Since the discovery in 2007 of the prolific *FecX<sup>R</sup>* polymorphism in the Rasa Aragonesa sheep breed, the number of carrier ewes (R+) in farms has significantly increased. These ewes present changes in their ovarian follicles which could lead to endocrine alterations and might affect the onset of puberty. The objective of the present work was to evaluate the age at first lambing (AFL) and the prolificacy in farm conditions of R+ ewe lambs over the last 12 years. AFL was similar in R+ and non-carrier (++) ewes (601 vs. 600 days), with similar effects of year and month of birth. As expected, prolificacy was higher in R+ compared to ++ ewe lambs (1.47 vs. 1.19;  $P < 0.0001$ ). Over the studied period AFL significantly decreased and prolificacy significantly increased among years, which demonstrated the improvements made by some farms which perform AI and work with prolific genotypes. Prolificacy and AFL were related, so that a delay of 365 days in AFL give rise to an increase of 0.21 lambs/lambing ewe lamb, with no interaction with genotype. It should be taken into account to reach equilibrium between desired age and prolificacy at first lambing.

**Keywords:** BMP15, ewe lamb, prolificacy, puberty

## EVOLUCIÓN Y ESTADO ACTUAL DE LA EDAD AL PRIMER PARTO EN RASA ARAGONESA

Lahoz, B.<sup>1</sup>, Jiménez-Hernando, M.A.<sup>2</sup>, Jurado, J.J.<sup>2</sup>, Calvo, J.H.<sup>1,3</sup>, Galeote, A.<sup>4</sup>, Blasco, E.<sup>4</sup>, Folch, J.<sup>1</sup>, Fantova, E.<sup>4</sup> y Alabart, J.L.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>CITA, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50059 Zaragoza; <sup>2</sup>INIA, 28040 Madrid; <sup>3</sup>ARAID, 50018 Zaragoza; <sup>4</sup>UPRA-Oviaragón, 50014 Zaragoza. [blahozc@aragon.es](mailto:blahozc@aragon.es)

### INTRODUCCIÓN

En ovino, los retrasos en la edad al primer parto dan lugar a periodos improductivos que conllevan una disminución de la vida productiva del animal y un aumento del intervalo generacional, con sus consecuentes pérdidas económicas. Entre los ganaderos no existe una postura única en cuanto a la edad óptima a la que hay que cubrir por primera vez las corderas, en muchos casos por temor a que su estado fisiológico no sea todavía el adecuado y pueda repercutir negativamente en su vida productiva. El peso es uno de los factores más determinantes, ya que la pubertad no aparece hasta que el animal no ha alcanzado un peso vivo y condición corporal adecuados (Foster et al., 1985). En Rasa Aragonesa suele producirse alrededor de los 7-8 meses de edad, aunque puede variar en función de la disponibilidad de alimentos ligada al manejo en la ganadería. La media de edad al primer parto de los rebaños pertenecientes al programa de selección de UPRA-Grupo Pastores en 2015 (19,5 meses; Jurado y Jiménez, 2016) muestra que todavía se está muy lejos del óptimo teórico que se podría alcanzar en esta raza. A pesar de su gran repercusión en la vida productiva del animal, en los últimos años no se le ha prestado la suficiente atención y la mayor parte de los esfuerzos se han dedicado a mejorar otros caracteres como la prolificidad. En este sentido, UPRA-Grupo Pastores viene desarrollando desde 1994 un programa de selección por prolificidad en Rasa Aragonesa. En dicho programa se registran los partos de todos sus animales, contando en la actualidad con más de 2 millones de registros acumulados. Es necesario analizar la evolución de los últimos años y la situación actual de la edad al primer parto en Rasa Aragonesa con vistas a la posible toma de decisiones, lo que constituye el objetivo del presente trabajo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado los datos del control de producciones que la Unión de Productores de Rasa Aragonesa (UPRA) lleva a cabo para su programa de selección por prolificidad. En el marco de dicho programa se descubrió en 2007 el polimorfismo prolífico *FecX<sup>R</sup>* (ROA) en el gen *BMP15* (Jurado y Calvo 2007; Martínez-Royo et al., 2008; patente ES2338960), a partir del cual se han incorporado a las ganaderías ovejas heterocigotas (R+) por ser más prolíficas que las no portadoras (++) . Se dispone de registros de nacimiento de animales ++ desde 1990 y de animales R+ desde 1997, y en ambos casos hasta 2016. Para el estudio se eliminaron los años incompletos, de manera que solo se tuvieron en cuenta los datos del periodo 1997-2013. En cuanto al genotipo se disponía de animales R+ analizados mediante PCR, ++ analizados mediante PCR y animales de genealogía desconocida. En este último caso, dada la baja frecuencia del polimorfismo en la población (Lahoz et al., 2011) todas esas corderas se consideraron como ++. En cuanto a la edad al primer parto, se desestimaron aquellos registros menores de 300 días o mayores de 999 días. Solo se tuvieron en cuenta aquellas ganaderías con al menos 3 años de registros disponibles. En total se utilizaron para el análisis 191.114 animales (179.087 ++ y 12.027 R+) procedentes de 327 ganaderías.

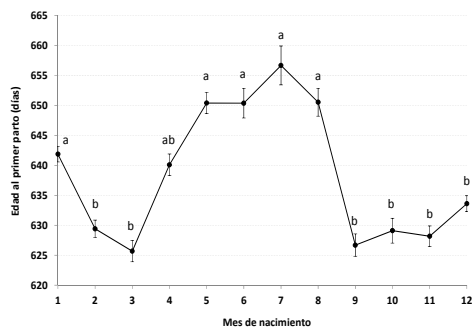
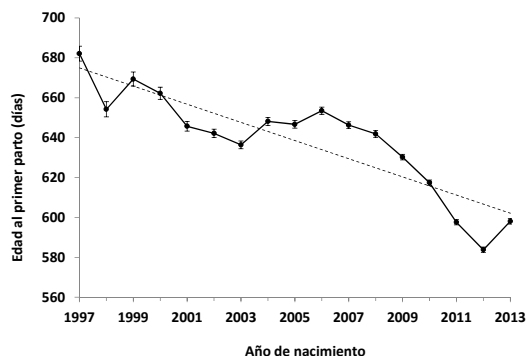
Para determinar la relación entre la edad al primer parto y las diferentes variables se utilizó un modelo que incluía como efectos fijos el genotipo (GEN), la ganadería (GAN), el mes de nacimiento (MES) y el año de nacimiento (AÑO). Para estimar los efectos del modelo se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 2016). Salvo que se especifique lo contrario, las medias se expresan como LSMeans ± error estándar y la significación estadística se establece al nivel P < 0,05.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La edad media al primer parto a lo largo de todo el periodo de estudio fue de 604 ± 165 días (media ± desviación estándar), es decir, alrededor de 19,8 meses. Estos valores están

todavía lejos de los óptimos teóricos de la raza, que podrían situarse alrededor de los 13 meses. En un estudio reciente Jurado y Jiménez (2013) demostraron en esta misma raza que adelantar el primer parto no afectaba negativamente a su vida reproductiva adulta. Por el contrario, las corderas que tenían su primer parto antes de los 15 meses presentaban hasta 1,2 partos adicionales a lo largo de toda su vida productiva respecto a las que lo tuvieron a partir de los 24 meses.

El año de nacimiento tuvo un efecto significativo sobre la edad al primer parto ( $P < 0,0001$ ). Se encontraron diferencias entre años de hasta 98 días, con valores máximos de  $682 \pm 4$  días en 1997 y mínimos de  $584 \pm 1$  en el año 2012. La edad al primer parto disminuyó de manera progresiva desde el inicio del estudio, estimándose una reducción de 5,6 días por año (Figura 1). El hecho de que hasta la fecha no se haya llevado a cabo ningún programa de mejora genética de la precocidad sexual, que cuenta con una heredabilidad moderada-baja (Gabiña 1989; Jurado y Jiménez, 2013), indicaría que esta mejora progresiva con los años se debe principalmente a mejoras en el manejo de las corderas.



**Figura 1.** Edad al primer parto en función del año de nacimiento (periodo 1997-2013).

**Figura 2.** Edad al primer parto en función mes de nacimiento (periodo 1997-2013). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

El mes de nacimiento también tuvo un efecto significativo sobre la edad al primer parto ( $P < 0,0001$ ), observándose diferencias de hasta 31 días entre meses. En este sentido, las corderas nacidas en el mes de julio presentaron la mayor edad al primer parto ( $657 \pm 3$ ), y por el contrario, las corderas nacidas en marzo presentaron los menores valores ( $626 \pm 2$  días; Figura 2). De modo general se observó que la edad al primer parto fue significativamente menor en las corderas que nacieron en otoño-invierno, en relación a las que nacieron en primavera-verano. En razas moderadamente estacionales como ésta, en las que los manejos reproductivos suponen la existencia de varias épocas de cubrición a lo largo del año, la coincidencia con el periodo de anestro complica la entrada en pubertad. De esta manera, varios autores coinciden en que las corderas nacidas en otoño ven retrasada su primera cubrición fértil aunque hayan alcanzado el peso suficiente ya que el fotoperiodo creciente impide la primera ovulación (Valasi et al., 2009). El hecho de que en el presente trabajo no se observe tal retraso en las corderas de otoño y sí en las de primavera-verano indica que existen factores ligados a la propia ganadería que están afectando a la edad al primer parto. Es decir, que probablemente existen en las ganaderías animales que han alcanzado la pubertad pero que por cuestiones ligadas al propio sistema de explotación y al manejo ven retrasada su primera cubrición y por tanto su primer parto.

Al analizar el número de animales de reposición nacidos en cada mes se observó que más de la mitad (54%) provienen de los meses de diciembre, enero y febrero. En general, estos resultados ponen de manifiesto la coherencia entre los meses de elección de la reposición y los meses de nacimiento con menores edades al primer parto, favorecido por el menor precio de mercado de esas corderas. No obstante, las edades mínimas al primer parto las

alcanzaron las corderas nacidas en marzo y tan solo un 6% de la reposición del periodo de estudio provenía de ese mes.

Cuando se estudió el efecto del genotipo también se observó que la edad media al primer parto de las corderas R+ fue ligeramente inferior que la del resto de la población ++ ( $641 \pm 1$  vs  $636 \pm 2$ ;  $P < 0,01$ ). Estos resultados deberían confirmarse con nuevos estudios a nivel fisiológico.

En cuanto al efecto ganadería, de nuevo se observó una gran variabilidad, con medias que van desde los  $439 \pm 15$  hasta los  $860 \pm 21$  días. Las grandes diferencias entre ganaderías que utilizan la misma raza parecen indicar la importancia del manejo y el amplio margen de mejora que existe para este carácter.

En conclusión, la edad al primer parto de la Rasa Aragonesa viene experimentando una mejora en los últimos años, mostrando diferencias según el mes de nacimiento o el genotipo *BMP15*. Todo parece indicar que la ganadería, y por tanto en gran medida el manejo, es uno de los factores que más influye en la edad al primer parto. La importancia económica de este carácter debe hacer pensar en la implementación de medidas adecuadas de manejo, sin descartar su posible incorporación a corto plazo como carácter de selección clásica, por marcadores genéticos o fisiológicos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Foster et al., 1985. J. Reprod. Fertil. 75, 327-344. • Gabiña 1989. Livest. Prod. Sci. 22, 87-98. • Jurado J.J. y Calvo J.H. 2007. ITEA Vol. Extra 28(II): 504-506. • Jurado y Jiménez, 2013. XV Jornadas Prod. Anim. AIDA. pp. 454-456. • Jurado y Jiménez, 2016. 23º Cat. reproductores UPRA-Grupo Pastores. • Lahoz et al., 2011. J. Anim. Sci. 89, 3522-3530. • Martínez-Royo et al., 2008. Anim. Genet. 39, 294-297. • SAS Institute Inc. 2016. SAS/STAT® 14.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc • Valasi et al., 2009. Small Rumin. Res. 84, 35-40.

**Agradecimientos:** Financiado con fondos FEDER a través de POCTEFA (Proyecto PIRINNOVI EFA103/15) y CDTI (Proyecto IDI-20160426).

### EVOLUTION AND CURRENT SITUATION OF THE AGE AT FIRST LAMBING IN RASA ARAGONESA EWES

**ABSTRACT:** In sheep, delays in the age at first lambing (AFL) give rise to unproductive periods and a decrease in productive life. Despite its proven influence on economic profitability, in the Rasa Aragonesa sheep breed the efforts in the last years to improve it have been scarce. The aim of this study was to analyze the evolution of the last years and the current state of the AFL in Rasa Aragonesa ewes for possible future decision making. For this purpose 191,114 first lambing records from 327 farms were analyzed using the GLM procedure (SAS). Mean AFL during all the studied period (1997-2013) was 19.8 months, too far from optimal in this breed. A decrease of AFL through the years was found (-5.6 days/year;  $P < 0.0001$ ). The month of lambing demonstrated an effect on AFL ( $P < 0.0001$ ), so that autumn and winter-born lambs showed the lowest AFL values. The prolific *BMP15* genotype, present in several farms, also gives rise to a slight reduction of AFL (-5 days,  $P < 0.01$ ). The significant effect of farm on AFL ( $P < 0.0001$ ), with differences up to 421 days, reveals important management differences, and therefore, the great capacity for improvement of AFL in future.

**Keywords:** Age at first lambing, *BMP15*, puberty, sheep

**Article removed**

This article was not presented at the Congress

**Artículo eliminado**

Este artículo no fue presentado a las Jornadas

**Article removed**

This article was not presented at the Congress

**Artículo eliminado**

Este artículo no fue presentado a las Jornadas



**Article removed**

This article was not presented at the Congress

**Artículo eliminado**

Este artículo no fue presentado a las Jornadas

## ALTERACION EN LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS POR LA INTROGRESIÓN GENÉTICA CON PERDIZ CHUKAR (*Alectoris rufa* x *Alectoris chukar*) EN LA PERDIZ ROJA (*A. rufa*)

Toledano-Díaz, A.<sup>1</sup>, Castaño, C.<sup>1</sup>, Torres, O.<sup>2</sup>, Velázquez, R.<sup>1</sup>, Gil M.G.<sup>2</sup>, Dávila, S.G.<sup>2</sup>, Estesó, M.C.<sup>1</sup>, López-Sebastián, A.<sup>1</sup>, M.J. Hierro<sup>3</sup>, F. Marchal<sup>4</sup>, Santiago-Moreno, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Reproducción Animal, INIA. Avd. Puerta de Hierro s/n. Km 5,9. 28040 Madrid. España

<sup>2</sup>Dpto. Mejora Genética Animal, INIA. Avd. Puerta de Hierro s/n. Km 7,5, 28040 Madrid.

<sup>3</sup> D.T. Jaén. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. Junta de Andalucía

<sup>4</sup> Agencia de Medio Ambiente y Agua de Andalucía. Junta de Andalucía  
toledano@inia.es

### INTRODUCCIÓN

Estudios previos han mostrado como la introgresión genética de la perdiz roja (*Alectoris rufa*) con la perdiz chukar (*Alectoris chukar*) pueden modificar tanto patrones de comportamiento (Campo et al., 2015), como parámetros reproductivos (Toledano-Díaz et al. 2015; Santiago-Moreno et al., 2015). Se ha sugerido que la alteración en la actividad reproductiva u otros parámetros biológicos, por dicha introgresión genética, podría repercutir negativamente en la conservación de nuestra especie autóctona (Zilleti et al., 1993). Considerando la necesidad de conocer el alcance de las modificaciones en la actividad reproductiva, en el presente trabajo se analizaron las variaciones en los principales parámetros reproductivos en dos grupos de perdiz roja, puro y con introgresión con chukar, mantenidos en las mismas condiciones de cría en cautividad, durante los tres primeros años de vida.

### MATERIAL Y METODOS

El desarrollo experimental se realizó con un total de 110 perdices. El grupo de perdices autóctonas puras fue cedido por la Estación de Referencia de la Perdiz Roja (Lugar Nuevo, Jaén, Consejería de Medio Ambiente y Ordenación de Territorio, Junta de Andalucía). Las perdices con introgresión genética con chukar fueron adquiridas en una granja comercial que tenía una introgresión genética mayor del 35%, según el análisis genético oficial. Todos los animales fueron adquiridos con 4 meses de edad y mantenidos en cautividad, durante tres años, en la Estación Avícola Experimental del INIA "El Encín" (Alcalá de Henares, Madrid, 40°31'N) en jaulones de cría de 10 compartimentos (20 cm x 1 m por compartimento), bajo condiciones de fotoperiodo y temperatura natural y alimentados ad libitum. Se desarrollaron dos experimentos:

Experimento 1 El objetivo de este experimento fue evaluar los parámetros relacionados con la puesta y la fertilidad. Se utilizaron 20 parejas de perdices puras y 20 parejas con introgresión genética. Diariamente, durante tres años, se retiraban, identificaban y registraban todos los huevos puestos. Posteriormente se desechaban los huevos rotos o sucios y el resto se conservaban en una cámara de almacenaje (10°-15°C) hasta su incubación. El periodo de incubación fue de 20 días (37°C; 55% humedad relativa). El día 20 se evaluaba la fertilidad por ovoscopio. Los huevos con embrión desarrollado eran trasladados a una nacedora (37°C y 75% de humedad) durante 5 días. Se registró el número y la identificación de los huevos eclosionados y no eclosionados.

Experimento 2. El objetivo en este caso fue evaluar los cambios de secreción anual de testosterona en 20 machos puros y 20 machos con hibridación. Desde enero de 2014 hasta diciembre de 2016 y quincenalmente, se recogió una muestra de sangre individual (1 ml) por punción de la vena yugular o braquial. Posteriormente, la muestra era centrifugada (900g, 15 min) y el plasma congelado a -20°C. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de testosterona por RIA.

Todos los parámetros de la puesta y las concentraciones de testosterona fueron analizados mediante una ANOVA de una vía. El momento de incremento y disminución de los niveles de testosterona en plasma se analizaron mediante t-Student.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento 1 se realizaron un total de 8 incubaciones por año. El periodo de puesta varió entre grupos. La duración media de la puesta fue mayor ( $P < 0,001$ ) en el grupo de perdices híbridas, al iniciar antes ( $P < 0,001$ ) y finalizar después ( $P < 0,01$ ) la puesta, con respecto al grupo de perdices puras en los tres años (Tabla 1). Este periodo de puesta coincide con los registrado en otras granjas comerciales de perdices (Gaudioso et al., 2002; Mourao et al., 2010). El inicio de la puesta se adelantó significativamente en ambos grupos con la edad ( $P < 0,01$ ), aunque la duración solo aumentó significativamente en el tercer año del grupo de perdices puras. La media de huevos por temporada fue bastante mayor en el grupo con introgresión con chukar ( $P < 0,001$ ) y no aumentaba con la edad en ninguno de los grupos. Claramente se observa que la producción por hembra y temporada depende de la duración de la puesta. (ej.: 17 huevos en 45 días vs 55 huevos en 120 días). Los porcentajes de fertilidad e incubabilidad no mostraron diferencias entre grupos ni con la edad. Estos porcentajes son algo menores que los registrados por Mourao et al. (2010). El 100% de las parejas de perdices con introgresión genética pusieron huevos. En el grupo de perdices puras, el porcentaje de parejas con puesta aumentaba con la edad: de 40% el primer año a 94% el tercero. El patrón de secreción de testosterona en sangre mostraba un perfil estacional ( $P < 0,001$ ) en ambos grupos, con altas concentraciones desde febrero-marzo a junio-julio (Figura 1), similares a los registrados por Santiago-Moreno et al. (2015). Este fue más largo (4 meses primer y segundo año, y 5 el tercero) en el grupo con introgresión que en el grupo de puras (2 meses en el primer año, 3 en el segundo y 4 en el tercero). Los resultados revelaron que la actividad sexual del macho precedía a la actividad ovulatoria de la hembra. El incremento de concentración de testosterona se iniciaba uno a dos meses antes del inicio de la puesta. El incremento de los niveles de testosterona podría estimular la competición entre machos por el establecimiento de parejas, que suele ocurrir uno o dos meses antes de la puesta (Fraissinet et al., 1987).

En conclusión nuestros resultados muestran que ya desde el primer año de vida y durante los años siguientes, la introgresión genética altera los parámetros reproductivos en la perdiz roja, tanto en la hembra como en el macho. El mayor periodo de puesta determina una mayor producción de huevos y perdigones en las perdices híbridas, pero los índices de fertilidad e incubabilidad son iguales que las puras. La fertilidad de las hembras no está afectada por la introgresión con perdiz chukar.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Campo et al., 2015. Appl. Anim. Behav. Sci 166:123-130
- Fraissinet et al., 1987. Gen. Comp. Endorc. 68:28-32
- Gaudioso et al., 2002. Poult. Sci. 81: 169-172.
- González-Redondo et al., 2010. J. Agric. Res. 8(3): 624-633.
- Mourao et al., 2010. Poult. Sci. 89: 2494-2498.
- Sánchez et al. 2009 ITEA. Vol. 105(3): 169-183.
- Santiago-Moreno et al., 2015. Poult Sci 94:80-87.
- Toledano-Diaz et al., 2015 ITEA AIDA XVI Jornadas Tomo II :408-410
- Zilleti et al., 1993. Suppl. Ric. Biol. Selvaggina XXI: 661-667.

**Agradecimientos:** A la Estación de Referencia de la Perdiz Roja de Lugar Nuevo (Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, Junta de Andalucía) por la cesión de las perdices puras. Trabajo financiado por el Proyecto INIA, RZ2012-00013-C02.

## DISTURBANCE IN REPRODUCTIVE PARAMETERS BY GENETIC INTROGRESSION (*ALECTORIS RUFA X ALECTORIS CHUKAR*) IN THE RED-LEGGED PARTRIDGE (*A. RUFA*)

**ABSTRACT:** The aim of the present study was to determine the effects of genetic introgression with chukar partridges on seasonal reproductive patterns of red-legged partridge by comparing the plasma testosterone concentrations, the fertility and the laying period of birds from pure red-legged and hybrid red-legged/chukar populations. The egg laying period was longer in hybrid group in the three years ( $P < 0,001$ ). The percentage of fertility and hatchability didn't show significant differences between groups. The plasma

testosterone concentration showed a seasonal pattern ( $P<0,001$ ) in both groups, but the period of high levels was longer in the hybrid groups ( $P<0,01$ ) through the three years. The increasing of testosterone levels occurred 2 months before than the onset of laying period in both groups. The results show that genetic introgression with chukar partridges modifies red-legged partridge reproductive indicators.

**Keywords:** genetic introgression, partridge, sperm, egg laying

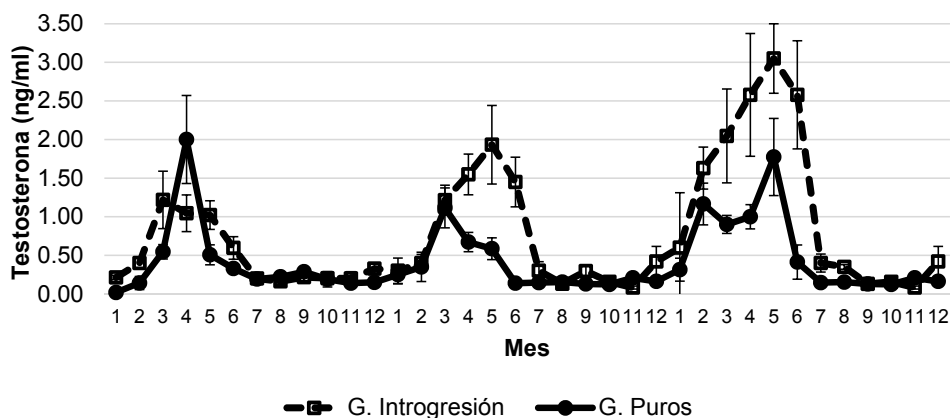
**Tabla 1:** Parámetros reproductivos relacionados con la puesta.

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS	Grupo Puros		
	2014	2015	2016
Inicio de la puesta	17 mayo $\pm$ 3días <sup>aA</sup>	3 mayo $\pm$ 3días <sup>aA</sup>	21 abril $\pm$ 5días <sup>aB</sup>
Fin de la puesta	3 junio $\pm$ 4 días <sup>a</sup>	21 jun $\pm$ 4días <sup>a</sup>	23 junio $\pm$ 4días <sup>a</sup>
Duración de la puesta	45 $\pm$ 3 días <sup>aA</sup>	47 $\pm$ 6 días <sup>aA</sup>	71 $\pm$ 6 días <sup>aB</sup>
Nº total de huevos puestos	121	315	388
Media de huevos por pareja	17 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	18 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	24 $\pm$ 3 <sup>a</sup>
% Fertilidad	56,3 $\pm$ 9,7	54,1 $\pm$ 9,4	59,4 $\pm$ 9,2
% Incubabilidad	27,4 $\pm$ 8,1	33,1 $\pm$ 7,5	37,7 $\pm$ 8,5
% Parejas ponedoras	41 (7/17)	89 (17/19)	94 (16/17)

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS	Grupo con Introgresión		
	Inicio de la puesta	6 abril $\pm$ 3días <sup>bA</sup>	30 marzo $\pm$ 3días <sup>bB</sup>
Fin de la puesta	1 agosto $\pm$ 6días <sup>b</sup>	22 julio $\pm$ 5días <sup>b</sup>	28 julio $\pm$ 7días <sup>b</sup>
Duración de la puesta	120 $\pm$ 6 días <sup>b</sup>	111 $\pm$ 6días <sup>b</sup>	124 $\pm$ 6días <sup>b</sup>
Nº total de huevos puestos	1052	974	727
Media de huevos por pareja	55 $\pm$ 5 <sup>b</sup>	54 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	51 $\pm$ 5 <sup>b</sup>
% Fertilidad	67,5 $\pm$ 5,6	69,5 $\pm$ 5,2	71,9 $\pm$ 5,6
% Incubabilidad	38,9 $\pm$ 5,5	51,4 $\pm$ 4,6	48,7 $\pm$ 5,2
% Parejas ponedoras	100 (18/18)	100 (18/18)	100 (14/14)

Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre grupos en el mismo año ( $P<0,01$ ). Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre años en el mismo grupo ( $P<0,05$ )



**Figura 1.** Media mensual de la concentración de testosterona a lo largo de los tres años de estudio en perdices puras y con introgresión con chukar.

## DIFERENCIAS GEOGRAFICAS Y ESTACIONALES DE LOS FACTORES DE MANEJO Y METEOROLOGICOS QUE AFECTAN A LOS RESULTADOS DE INSEMINACION ARTIFICIAL EN CABRAS DE RAZA FLORIDA

Arrébola, F.<sup>1</sup> y Abecia, J.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IFAPA. Hinojosa del Duque, Córdoba. <sup>2</sup>IUCA UNIZAR alf@unizar.es

### INTRODUCCION

La Biometeorología se encarga del estudio de las interrelaciones directas e indirectas entre el ambiente geográfico y geoquímico de la atmósfera y los organismos vivos. Los sistemas ganaderos, y especialmente los extensivos, están fuertemente vinculados a la meteorología y a los cambios climáticos. Las variables meteorológicas son potenciales estresores ambientales, ya que pueden afectar negativamente al bienestar y a la productividad de los animales, cuando llegan a modificar sus procesos fisiológicos (Gomes de Silva, 2006). El objetivo de este trabajo fue conocer las posibles causas, tanto de manejo como meteorológicas, que afectan a la fertilidad tras inseminación artificial (IA) en cabras de la raza Florida, en cuatro regiones geográficas y en las cuatro estaciones del año.

### MATERIAL Y METODOS

Se han analizado los resultados de fertilidad tras IA de 7621 IA en 46 ganaderías de la raza caprina Florida. Las explotaciones fueron divididas en cuatro grupos según su localización geográfica: "Sierras" (Serranías del norte de Huelva y Sevilla y sur de Badajoz) (n=26), "Pedroches" (Valle de los Pedroches) (n=3), "Guadalquivir" (Valle del Guadalquivir en Córdoba y Sevilla) (n=12) y "Costa" (zonas costeras de Huelva, Cádiz, Málaga, Granada y Almería) (n=5) (Fig. 1). Los datos medios referentes al día de la IA de temperaturas (T) medias, máximas y mínimas (°C), humedad relativa (HR) (%), radiación solar (MJ/m<sup>2</sup>), y precipitaciones (lluvia) (mm), se recogieron de las estaciones meteorológicas más cercanas (menos de 25 km de la ganadería correspondiente (Sistema de Información Agroclimática del MAGRAMA). La fertilidad se calculó a partir del porcentaje de cabras paridas, en cada una de las cuatro estaciones del año, comparándose mediante chi-cuadrado. Como factores de manejo se consideraron el año, la distancia al centro de recogida de semen, el tamaño del lote de IA, el intervalo parto-IA, el número de parto, la elección del lote de animales para inseminar (ganadero o técnicos), el cumplimiento o no del horario previsto para la IA (Tabla 1) y el inseminador, planteándose un análisis de varianza para datos categóricos, con la fertilidad como variable dependiente. Para las variables meteorológicas se calcularon los *Odds Ratios* (OR) para cada región y estación del año mediante una regresión logística binaria.



**Figura 1.** Localización geográfica de las ganaderías del estudio

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fertilidad media fue del 56%, con diferencias significativas entre estaciones ( $P < 0,001$ ) y una interacción región-estación significativa ( $P < 0,01$ ) (Tabla 2). Así, las IA de invierno dieron lugar a las más bajas fertilidades del año (47%), destacando la de las explotaciones de las sierras en esa misma estación (44%). Las mayores fertilidades se dieron en otoño en la zona de costa (63%). En las cuatro regiones estudiadas se observaron diferencias significativas entre estaciones para la fertilidad.

Las cuatro regiones tuvieron una diferente afección por parte de los factores de manejo (Tabla 3), destacando las ganaderías de la Sierras, donde ocho de los factores estudiados presentaron un efecto significativo sobre la fertilidad. En los Pedroches, tan solo el factor inseminador modificó la fertilidad, o el factor ganadería en la zona costera. Los resultados parecen indicar la mayor heterogeneidad de ganaderías en la zona denominada “Sierras”, si bien es cierto que es donde se encontró un mayor número de explotaciones. Para los datos meteorológicos (Tabla 4), de los que resultaron significativos en el modelo de regresión logística, la mayoría de los OR fueron cercanos a “0”, excepto algunos como la lluvia en otoño en los Pedroches (0,326), la T mínima en la costa en primavera (0,722) y en invierno (0,667), pudiéndose calificar estos valores como detrimentos de la fertilidad en dichas zonas y estaciones. Ambos factores son también depresores de la fertilidad tras IA en la cabra Payoya en primavera (Abecia et al., 2016), o en cabras Malagueñas a lo largo del año (Arrébola et al., 2016).

**Tabla 1.** Factores de explotación medios ( $\pm$ D.E.) de las ganaderías del estudio

	<b>Sierras</b>	<b>Pedroches</b>	<b>Guadalquivir</b>	<b>Costa</b>
N	26	3	12	5
Distancia centro semen	166 $\pm$ 58	60 $\pm$ 48	183 $\pm$ 41	402 $\pm$ 63
Tamaño lote IA	45 $\pm$ 15	42 $\pm$ 12	36 $\pm$ 12	52 $\pm$ 19
Intervalo parto-IA	168 $\pm$ 59	137 $\pm$ 35	169 $\pm$ 46	160 $\pm$ 67
Número parto	2,6 $\pm$ 1,4	2,8 $\pm$ 1,3	2,9 $\pm$ 1,5	2,4 $\pm$ 1,2
Elección lote por el ganadero	19%	5%	23%	19%
No cumplimiento horario IA	5%	8%	16%	6%

**Tabla 2.** Fertilidad ( $\pm$ E.S.M.) tras la inseminación artificial de cabras de raza Florida, en función de la zona geográfica y de la estación (número de inseminaciones).

	<b>Primavera</b>	<b>Verano</b>	<b>Otoño</b>	<b>Invierno</b>	<b>Total</b>
<b>Sierras</b>	57 $\pm$ 11 <sup>ax</sup> (1939)	56 $\pm$ 2 <sup>ax</sup> (856)	60 $\pm$ 2 <sup>ax</sup> (904)	44 $\pm$ 3 <sup>y</sup> (402)	56 $\pm$ 8 (4101)
<b>Pedroches</b>	56 $\pm$ 3 <sup>a</sup> (410)	52 $\pm$ 4 <sup>a</sup> (172)	51 $\pm$ 4 (116)	-- --	54 $\pm$ 2 (698)
<b>Guadalquivir</b>	58 $\pm$ 6 <sup>ax</sup> (1080)	62 $\pm$ 4 <sup>bx</sup> (222)	49 $\pm$ 8 <sup>bcy</sup> (418)	49 $\pm$ 10 <sup>y</sup> (146)	56 $\pm$ 7 (1866)
<b>Costa</b>	49 $\pm$ 4 <sup>bx</sup> (313)	52 $\pm$ 6 <sup>ax</sup> (250)	63 $\pm$ 6 <sup>dy</sup> (121)	52 $\pm$ 2 <sup>x</sup> (197)	52 $\pm$ 5 (881)
<b>Total</b>	57 $\pm$ 8 <sup>x</sup> (3767)	56 $\pm$ 2 <sup>x</sup> (1525)	56 $\pm$ 2 <sup>x</sup> (1559)	47 $\pm$ 2 <sup>y</sup> (770)	56 $\pm$ 6 (7621)

a,b diferencias significativas entre zonas; x,y entre estaciones

**Tabla 3.** Significación de cada uno de los factores de explotación analizados sobre la fertilidad tras la inseminación artificial de cabras de raza Florida en cada una de las cuatro zonas geográficas estudiadas. \*  $P < 0,05$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ; ns: no significativa

	<b>Sierras</b>	<b>Pedroches</b>	<b>Guadalquivir</b>	<b>Costa</b>
Ganadería	***	ns	***	***
Año	***	ns	ns	ns
Estación	***	ns	ns	ns
Cumplimiento horario IA	*	ns	*	ns
Inseminador	***	*	ns	ns
Elección del lote	***	ns	ns	ns
Distancia centro semen	ns	ns	ns	ns
Número parto	ns	ns	ns	ns
Tamaño lote IA	ns	ns	ns	ns
Intervalo parto-IA	*	ns	ns	ns

En conclusión, estos resultados podrían indicar que la planificación del programa de IA de esta raza podría basarse más en motivos geográficos y estacionales, mejorando algunos factores de manejo en alguna zona en particular, para lograr las mayores fertilidades posibles. Además, se hacen necesarios trabajos que estudien de manera particular los efectos de cualquier factor sobre la fertilidad, diferenciando entre épocas del año, regiones geográficas, razas, etc.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gomes da Silva, R.G. 2006. [http://www.agrometeorology.org/files-folder/repository/gamp\\_chap\\_11](http://www.agrometeorology.org/files-folder/repository/gamp_chap_11).
- Abecia, J.A., Arrébola, F., Macías, A., Laviña, A., González-Casquet, O., Benítez, F., Palacios, C. 2016. Int. J. Biometeorol. 60:1603-1609.
- Arrébola, F., Palacios, C., Gil, M.J., Abecia, J.A. 2016. Anim. Prod. Sci. 56: 1906-1912.

**Tabla 4.** Odds ratios de las variables meteorológicas estudiadas que afectan de manera significativa a la fertilidad tras la inseminación artificial de cabras de raza Florida en cada una de las cuatro zonas geográficas estudiadas.

	Sierras	Pedroches	Guadalquivir	Costa
<b>Primavera</b>				
T media	1,079	---	---	---
T máx	---	---	1,056	---
T mín	0,952	---	1,053	0,722
HR	0,978	---	---	---
Radiación solar	---	0,950	---	---
Lluvia	1,041	---	0,843	---
<b>Verano</b>				
T media	---	---	0,886	---
T máx	0,954	---	---	---
T mín	---	---	---	1,316
Lluvia	---	0,844	---	---
<b>Otoño</b>				
T media	0,958	---	1,322	---
T máx	---	---	0,884	---
HR	1,023	---	1,037	---
Radiación solar	1,040	---	---	---
Lluvia	0,961	0,326	0,883	---
<b>Invierno</b>				
T media	0,834	---	---	---
T máx	---	---	---	1,984
T mín	---	---	---	0,667
Lluvia	1,030	---	---	---

#### GEOGRAPHICAL AND SEASONAL DIFFERENCES OF MANAGEMENT AND METEOROLOGICAL FACTORS AFFECTING FERTILITY AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION IN FLORIDA GOATS

**ABSTRACT:** The effect of some management and meteorological factors on fertility after artificial insemination (AI) of 7621 inseminations of Florida goats has been investigated in 46 farms. The different effect of both factors on fertility depended on the geographical region and the season of the year, with differences between seasons within regions. It could be necessary a particular planning of the AI program of this breed throughout the year, considering both geographical and seasonal factors, and improving some management factors in some particular regions.

**Keywords:** goats, insemination, meteorology, fertility

## **EFFECTO DEL ESTÍMULO FÍSICO DE LA CÁNULA DE INSEMINACIÓN SOBRE LA INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN EN CONEJA**

Viudes de Castro, M.P.<sup>1</sup>, Casares-Crespo, L.<sup>1</sup>, Marco-Jiménez, F.<sup>2</sup> y Vicente, J.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Segorbe (Castellón). <sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia  
viudes\_mar@gva.es

### **INTRODUCCIÓN**

El principal mecanismo responsable de la inducción de la ovulación en las especies de ovulación inducida implica una respuesta neuroendocrina a los estímulos genitales que se producen durante el apareamiento (Bakker y Baum, 2000). Dichas especies se pueden dividir en tres grandes categorías en función del estímulo coital requerido (Kauffman y Rissman, 2006), clasificándose los conejos en el grupo de requisitos mínimos, ya que la estimulación coital es por lo general muy rápida, con una duración de menos de un minuto o incluso segundos (Contreras y Beyer, 1979 Beyer et al., 1980). En el caso de los camélidos, pertenecientes a la categoría de requisitos máximos, la copulación se prolonga de 30 a 50 minutos (Bravo et al., 1990) y se ha observado que la ovulación es inducida por una proteína de 14 kDa, el factor de crecimiento nervioso ( $\beta$ -NGF), presente en el plasma seminal. Aunque esta proteína está presente también en el plasma seminal de conejo, no se han encontrado pruebas que apoyen la hipótesis de que su plasma seminal provoque un aumento de la liberación de LH ni de que estimule la ovulación en conejos (Silva et al., 2011). Es posible que los conejos sean más sensibles a los estímulos físicos, ya que se requiere necesariamente una estimulación genital adecuada u otros estímulos relacionados con el apareamiento para que la ovulación sea inducida, existiendo distintas situaciones en las que un porcentaje de hembras ovulan sin haber sido montadas por un macho, como en el caso de la monta de una hembra en celo por otra hembra (pseudomonta) en conejas alojadas en grupo (Staples, 1967; Rommers et al., 2006) o hembras que ovulan sin que se apliquen análogos de la GnRH, como en el caso de la introducción de la cánula de inseminación únicamente con diluyente (Viudes de Castro et al., 2007). Lo que concuerda con los resultados obtenidos por Rebollar et al. (2012) con hembras a las que se les bloqueó el estímulo nervioso mediante anestesia epidural, observando que en ausencia de estímulo vaginal no se desencadenaba la ovulación, lo que viene a recalcar la importancia de la estimulación física en esta especie. De ahí que el objetivo del presente trabajo sea determinar cómo afecta el tipo de cánula utilizada en la inducción de la ovulación y si la estimulación que supone la introducción de la cánula comercial de inseminación y el manejo de la hembra al aplicar la dosis de semen con los dos tipos de cánulas existentes en el mercado puede afectar a los resultados de fertilidad.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron hembras de origen neozelandés blanco (línea A) y machos de aptitud cárnica (línea sintética R) alojados en la granja experimental del Centro de Investigación y Tecnología Animal de Segorbe (CITA-IVIA, Castellón, España). Las hembras receptivas se asignaron aleatoriamente a los grupos experimentales. Se emplearon dos cánulas de inseminación que se comercializan para conejo: cánula de 15,5 cm, recta y de material deformable (cánula corta flexible) y cánula de 23,5 cm, acodada 15° a 4 cm del extremo y de material rígido (cánula larga rígida). En el primer experimento se establecieron dos grupos (cánula corta o larga) y se procedió a inseminar a las hembras únicamente con diluyente, las cuales fueron sometidas a una laparoscopia a los diez días de la inseminación para determinar la presencia de cuerpos lúteos funcionales (tasa de ovulación). En el segundo experimento se establecieron tres grupos experimentales: control (hembras inseminadas con cánulas largas y 0,5mL de semen diluido que recibían una inyección intramuscular de 1  $\mu$ g de acetato de buserelina en el momento de la inseminación para inducir la ovulación), cánula corta (hembras inseminadas con cánulas cortas y 0,5mL de semen diluido que contenía 5  $\mu$ g de de acetato de buserelina) y cánula larga (hembras inseminadas con cánulas largas y 0,5mL de semen diluido que contenía 5  $\mu$ g de de acetato de buserelina). Se registraron los datos de fertilidad y tamaño de camada al parto. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 2002). El efecto



del tipo de cánula sobre la inducción de la ovulación y sobre la fertilidad al parto se llevaron a cabo mediante un análisis probit link con distribución binomial del error. Mientras que la tasa de ovulación y el tamaño de la camada fueron analizados mediante un análisis de varianza. Los datos se muestran como medias mínimo cuadráticas con su error estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el primer experimento (Tabla 1) muestran que la inducción de la ovulación sobre hembras receptivas fue significativamente mayor cuando se utilizó la cánula corta frente a la cánula larga ( $0,64 \pm 0,080$  versus  $0,30 \pm 0,068$ , respectivamente). Lo que demuestra que la cánula corta de inseminación consigue reproducir más fielmente el estímulo nervioso provocado por la monta del macho. En lo que se refiere a los resultados de tasa de ovulación, ésta no se vio afectada por el tipo de cánula utilizada, no observándose diferencias significativas entre ambos grupos. Los resultados de inducción de ovulación con la cánula larga coinciden con los previamente obtenidos por nuestro grupo (Viudes de Castro et al., 2007) cuando un 32,5% de hembras fueron inducidas a ovular por la mera introducción de la cánula larga de inseminación con diluyente. Los resultados obtenidos en el segundo experimento (Tabla 2) no mostraron diferencias significativas de fertilidad al parto ni de prolificidad entre ambos tipos de cánulas y el grupo control, lo que indicaría que una concentración de 5 µg del análogo de GnRH en la dosis de inseminación es suficiente para enmascarar el efecto del tipo de cánula empleado. Estos resultados coinciden con los resultados de Kalaba y Abdel-Khalek (2011) con hembras conducidas por monta natural, los cuales observaron que la fertilidad al parto aumentaba tanto en las hembras que previamente a la monta habían recibido un estímulo mecánico en la vagina como en las que habían recibido una inyección de GnRH. Lo que pone de manifiesto que la utilización de análogos de la GnRH contrarrestaría la posible ventaja en inducción de ovulación que confiere la estimulación vaginal provocada por la utilización de la cánula corta.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bakker, J., Baum, M.J., 2000. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Front. Neuroendocrinol.* 21:220–262.
- Kauffman, A.S., Rissman, E.F., 2006. Neuroendocrine control of mating-induced ovulation. En: *Physiology of Reproduction*. 3rd ed. Elsevier Academic Press, St-Louis, MO, USA, pp. 2283-2326.
- Contreras, J.L., Beyer, C., 1979. A polygraphic analysis of mounting and ejaculation in the New Zealand white rabbit. *Physiol. Behav.* 23:939-943.
- Beyer, C., Velasquez, J., Larsson, K., Contreras, J.L., 1980. Androgen regulation of the motor copulatory pattern in the male New Zealand white rabbit. *Horm. Behav.* 14:179–190.
- Bravo, P.W., Fowler, M.E., Stabenfeldt, G.H., Lasley, B.L., 1990. Endocrine responses in the llama to copulation. *Theriogenology* 33:891–899.
- Silva et al., 2011. Is an ovulation-inducing factor (OIF) present in the seminal plasma of rabbits? *Animal Reproduction Science*, 127(3–4):213–221.
- Staples, R.E., 1967. Behavioural induction of ovulation in the oestrous rabbit. *J. Reprod. Fert.* 13:429-435.
- Rommers, J.M., Boiti, C., de Jons, I., Brecchia, G., 2006. Performance and behaviour of rabbit does in a group-housing system with natural mating or artificial insemination. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:677–687.
- Viudes de Castro M.P., Lavara R., Marco-Jiménez F., Cortell C., Vicente J.S., 2007. Ovulation induced by mucosal vaginal absorption of buserelin and triptorelin in rabbit. *Theriogenology* 68(7):1031-1036.
- Rebollar P.G., Dal Bosco A., Millán P., Cardinali R., Brecchia G., Syllad L., Lorenzo P.L., Castellini C., 2012. Ovulating induction methods in rabbit does: The pituitary and ovarian responses. *Theriogenology*; 77:292-298.
- Kalaba Z.M., Abdel-Khalek A.E., 2011. Effect of repeated GnRH injection and intra-vaginal mechanical stimulation on reproductive performance of doe rabbits. *Asian J Anim Vet Adv*; 6(10):1010-1018.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto RTA2013-00058-00-00 del INIA. L. Casares-Crespo ha sido financiada por una beca de formación del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) y el Fondo Social Europeo.

**Tabla 1.** Efecto del tipo de cánula sobre la inducción de la ovulación y la tasa de ovulación (medias mínimo cuadráticas  $\pm$  error estándar de la media).

Tipo de cánula	Nº hembras	Inducción ovulación	Tasa de ovulación
Corta flexible	35	0,64 $\pm$ 0,080 <sup>a</sup>	11,0 $\pm$ 0,58
Larga rígida	46	0,30 $\pm$ 0,068 <sup>b</sup>	11,8 $\pm$ 0,76

a,b: valores con diferente superíndice en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 2.** Efecto del tipo de cánula sobre la fertilidad y el tamaño de camada (medias mínimo cuadráticas  $\pm$  error estándar de la media).

Tratamiento	Nº hembras	Fertilidad al parto	Nacidos Totales
Control	46	0,83 $\pm$ 0,056	8,5 $\pm$ 0,50
Corta flexible	92	0,75 $\pm$ 0,045	9,2 $\pm$ 0,68
Larga rígida	98	0,72 $\pm$ 0,046	9,2 $\pm$ 0,80
Total	246	0,77 $\pm$ 0,030	9,1 $\pm$ 0,46

#### PHYSICAL EFFECT OF INSEMINATION CANNULA ON OVULATION INDUCTION IN RABBIT DOE

**ABSTRACT:** In induced ovulating does, the main factor responsible for ovulation induction is the genital somatosensory stimuli during the copulation. In camelids, ovulation induction requires multiple ejaculatory series and the seminal plasma contains a protein, the  $\beta$ -NGF, with a potent ovulatory effect. Although this protein has been identified in seminal plasma of rabbit, the physical stimulation of the genital tract during the artificial insemination seems to be the main factor in the induction of ovulation because the rabbit doe requires minimal copulatory stimulation and ovulation can be induced rapidly. The aim of this work was to study the physical stimulation of both types of insemination cannula (short and flexible compared to long and rigid), on ovulation induction and reproductive performance in rabbit doe. The results obtained in this study demonstrate that the type of insemination cannula used affects the ovulation induction of the female. The short cannula obtained significantly higher ovulation induction ( $0.64 \pm 0.080$ ) than the long one ( $0.30 \pm 0.068$ ), so it seems that the first mimics better the stimulation associated with the mating of the male to provoke the ovulation induction. However, when does are inseminated with these two types of cannulas containing the hormone in the semen extender, no differences in fertility nor prolificacy are found between them. This could be due to the use of the analog of GnRH in insemination which masks the effect of the type of cannula used.

**Keywords:** ovulation induction, insemination cannula, rabbit.

## **EFFECTO DEL DETERGENTE UTILIZADO EN LA EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA DEL ESPERMATOZOIDE DE CONEJO SOBRE EL PROTEOMA RESULTANTE**

Casares-Crespo, L., Fernández-Serrano, P., y Viudes-de-Castro, M.P.  
CITA-IVIA. Polígono de la Esperanza, nº 100. 12400. Segorbe (Castellón).  
casares\_luc@gva.es

### **INTRODUCCIÓN**

Nuevos avances en proteómica están provocando un gran impacto en nuestro entendimiento sobre cómo el espermatozoide adquiere su capacidad fecundante (Aitken & Baker, 2007). Los espermatozoides son células excepcionalmente diferenciadas y muestran grandes variaciones en su estructura genética, celular y cromática, lo cual les permite controlar la fertilidad/infertilidad, el desarrollo embrionario y la herencia (Rahman et al., 2013). Los espermatozoides son células que se utilizan como modelo para el análisis proteómico ya que pueden ser purificados en gran número e inducidos a diferentes estados funcionales (no capacitados, capacitados y acrosoma reaccionado) utilizando una serie de manipulaciones farmacológicas validadas (Aitken & Baker, 2007).

La extracción de las proteínas de membrana de los espermatozoides es la primera etapa crítica en el estudio de su proteoma, y habitualmente se lleva a cabo mediante un tampón de lisis que contiene un detergente, seguido de sonicación. Los detergentes más utilizados son el Tritón X-100 (Rajeev & Reddy, 2004; D'Amours et al., 2010; Dietrich et al., 2016), el tampón RIPA (Puri et al., 2008; Scott et al., 2015), la urea (Rajeev & Reddy, 2004; Scott et al., 2015), el dodecilsulfato sódico o SDS (Rajeev & Reddy, 2004; Cheema & Babbar, 2008) y el Tween-20 (Rajeev & Reddy, 2004).

Atendiendo a la bibliografía, no existe ningún trabajo previo en el que se estudie el mejor método de extracción de las proteínas de membrana de los espermatozoides de conejo. Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue comparar la utilización de cinco detergentes (SDS, Tritón X-100, Tween-20, tampón RIPA y urea) en la extracción de las proteínas de membrana del espermatozoide de conejo y estudiar su efecto sobre la cantidad total de proteína obtenida, así como sobre el proteoma resultante.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 9 machos pertenecientes a la línea R de aptitud cárnica. Los machos fueron alojados en la granja experimental del Centro de Investigación y Tecnología Animal de Segorbe (CITA-IVIA, Castellón, España). Las muestras seminales se recuperaron semanalmente a lo largo del mes de noviembre de 2016 mediante vagina artificial. Los eyaculados fueron evaluados individualmente, tomándose una alícuota para evaluar la motilidad, el estado del acrosoma y las formas anormales presentes. Sólo aquellos eyaculados con valores superiores al 70% de motilidad y con menos del 15% de formas anormales o acrosomas dañados, fueron utilizados para constituir la mezcla heterospermica. En total, se usaron 3 mezclas heterospermicas de semanas distintas, que resultaron en un total de 15 muestras (3 por cada detergente). Se midió el volumen total de la mezcla heterospermica y se dividió en cinco fracciones iguales (una para cada detergente). Los espermatozoides se obtuvieron centrifugando a 10500 rpm durante 10 minutos a 22°C. El pellet resultante se resuspendió con 500 µl de PBS frío y se volvió a centrifugar a 3600 rpm durante 10 minutos, repitiéndose esta etapa en las mismas condiciones. Finalmente, el pellet de esta tercera centrifugación fue resuspendido con 500 µl de PBS frío y se le añadieron 5 µl de un cóctel de inhibidores de proteasas y fue almacenado a -80°C hasta su uso. Las soluciones con los distintos detergentes a utilizar fueron preparadas en tampón Tris-cítrico-glucosa (pH 6.8–7.0, 300 mOsmkg<sup>-1</sup>) a la siguiente concentración: 1% SDS, 1% Tritón X-100, 0,1% Tween-20 y 8 M urea. El tampón RIPA empleado fue el medio comercial RIPA Buffer de Thermo Scientific. A todas las soluciones se les añadió un 1% v/v de cóctel de antiproteasas. Las muestras fueron descongeladas y centrifugadas de nuevo a 3600 rpm durante 10 minutos a 4 °C. La extracción de las proteínas de membrana se llevo a cabo resuspendiendo el pellet resultante con 500 µl de cada una de las cinco soluciones y

sometiendo las muestras a 6 ciclos de 5 segundos de sonicación (amplitud del 30%) en hielo. Posteriormente, las muestras se dejaron 15 minutos en hielo y fueron centrifugadas a 13000 rpm durante 10 minutos a 4°C. El sobrenadante obtenido fue almacenado a -80°C hasta su uso. La concentración proteica total de las muestras espermáticas se cuantificó mediante el método del ácido bicinónico (BCA), utilizando BSA como patrón de proteínas (Smith et al., 1985). Sin ajustar la concentración proteica se llevó a cabo una electroforesis en gel de poliacrilamida (4-12%). Brevemente, las muestras fueron diluidas 1:1 con Tampón Laemmli 2x (Sigma-Aldrich), calentadas a 95°C durante 5 minutos y tras dejarlas enfriar se cargaron en el gel. El peso molecular fue estimado utilizando el marcador de pesos Precision Plus Protein™ Dual Xtra Standards (Bio-Rad). Las condiciones del SDS-PAGE fueron 250 voltios durante 3 horas. Tras completarse la electroforesis, las bandas proteicas del gel fueron visualizadas mediante la tinción con Azul de Coomassie Colloidal. El perfil proteico resultante fue analizado con el software Quantity One 1-D (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA).

Las diferencias de concentración proteica total y de cantidad relativa de cada banda proteica en función del detergente utilizado fueron analizadas mediante un test de varianza con el paquete estadístico Statgraphics®Plus5.1 (Statistical Graphics Corp., Rockville, USA). Los datos se presentan como medias mínimo cuadráticas  $\pm$  error estándar de la media.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cantidad de proteína extraída del espermatozoide de conejo fue significativamente diferente en función del detergente empleado en la solución de lisis ( $P < 0,01$ ). Los resultados muestran que las soluciones de SDS y urea son las que más cantidad de proteína lograron extraer, frente al resto de soluciones con las que se obtuvo la mitad e incluso menos proteína total (Tabla 1). Por otro lado, el perfil electroforético del espermatozoide de conejo resultó en múltiples bandas de distinta intensidad que oscilaron entre los 13 y los 343 kDa. En todos los detergentes se obtuvieron las mismas bandas proteicas en el gel, no se observó ninguna ausencia de banda. Para llevar a cabo el análisis con el software Quantity One 1-D se seleccionaron catorce bandas comunes en todas las muestras. En la Tabla 2 se muestran los resultados de la cantidad relativa de las bandas proteicas que resultaron significativamente distintas en función del detergente empleado ( $P < 0,05$ ). La cantidad relativa de seis bandas proteicas resultó estadísticamente significativa entre los cinco detergentes utilizados. En dos de ellas (160 y 52 kDa), la intensidad de banda fue superior en los detergentes con SDS y urea frente al resto. Con la solución de urea se obtuvieron dos bandas proteicas con mayor cantidad relativa (90 y 49 kDa) y con la de SDS una banda con mayor intensidad (122kDa) frente al resto de detergentes. Mientras que los detergentes Tween-20, Tritón X-100 y el tampón RIPA obtuvieron mayor cantidad proteica relativa en la banda proteica de 32 kDa. Por ello, en general, con las soluciones de SDS y urea se obtuvo una mayor cantidad relativa de las bandas proteicas, lo cual concuerda con la mayor concentración de proteína total cuantificada en estos medios.

De la bibliografía se extrae que cada especie animal se comporta de forma diferente y algunos detergentes logran extraer más proteínas de membrana del espermatozoide que otros probablemente debido a su composición. En el caso del esperma de bovino, entre todos los detergentes probados, con el tampón RIPA se obtuvo más proteína y un mayor número de bandas en el gel 1D (Scott et al., 2015). En el caso del conejo, a partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo podemos concluir que para lograr extraer una mayor cantidad proteica de la membrana del espermatozoide, las soluciones de elección serían la de 1% SDS o la de 8 M de urea.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aitken & Baker, 2007. *International Journal of Andrology* 31, 295-302.
- Cheema & Babbar, 2008. *Indian J.Anim.Res.* 42(4), 242-247.
- D'Amours et al., 2010. *Reproduction* 139, 545-556.
- Dietrich et al., 2016. *Journal of Proteomics* 138, 124-135.
- Puri et al., 2008. *Biology of Reproduction* 79, 1183-1191.
- Rahman et al., 2013. *International Journal of Endocrinology*,

Article ID 360986, 11 pages. • Rajeev & Reddy, 2004. Human Reproduction 19(2), 234-242.  
 • Scott et al., 2015. 5<sup>th</sup> International Conference on Proteomics & Bioinformatics – September 1-3, 2015. Valencia, Spain. 8:8. • Smith et al., 1985. Anal. Biochem. 150:76-85.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto RTA2013-00058-00-00 del INIA. L. Casares-Crespo ha sido financiada por una beca de formación del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) y el Fondo Social Europeo.

**Tabla 1.** Concentración proteica media de las muestras de espermatozoides en función del detergente empleado para su extracción.

Detergente	Proteína total (µg/µL)
1% SDS	2,11 ± 0,20 <sup>b</sup>
1% Tritón X-100	1,02 ± 0,20 <sup>a</sup>
0'1% Tween-20	0,71 ± 0,20 <sup>a</sup>
Tampón RIPA	1,16 ± 0,20 <sup>a</sup>
8M UREA	2,22 ± 0,20 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>: valores con distinto superíndice en la misma columna difieren significativamente al 99% (P<0,01).

**Tabla 2.** Cantidad o intensidad relativa (%) de las bandas diferentes significativamente del perfil proteico del espermatozoide de conejo en función del detergente empleado para su extracción.

Tamaño Banda (kDa)	Detergente					E.E.
	1% SDS	1% Tritón X-100	0'1% Tween-20	Tampón RIPA	8M UREA	
160	0,61 <sup>c</sup>	0,12 <sup>ab</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,27 <sup>b</sup>	0,56 <sup>c</sup>	±0,05
122	1,88 <sup>b</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>	±0,20
90	25,06 <sup>c</sup>	19,09 <sup>bc</sup>	18,37 <sup>b</sup>	8,01 <sup>a</sup>	32,65 <sup>d</sup>	±1,20
52	0,46 <sup>b</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,48 <sup>b</sup>	±0,11
49	0,30 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,62 <sup>b</sup>	±0,09
32	0,90 <sup>a</sup>	2,70 <sup>b</sup>	2,18 <sup>b</sup>	2,70 <sup>b</sup>	0,91 <sup>a</sup>	±0,18

E.E.: error estándar; <sup>a,b,c,d</sup>: valores con distinto superíndice en la misma fila difieren significativamente al 95% (P<0,05).

## EFFECT OF THE DETERGENT USED ON THE RESULTANT PROTEOME IN THE RABBIT SPERMATOZOA MEMBRANE PROTEINS EXTRACTION

**ABSTRACT:** New advances in proteomics are having a major impact on our understanding of how the spermatozoa acquire their capacity for fertilization. To our knowledge, sperm proteins in rabbits have not yet been studied. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of the extraction method on sperm protein concentration and proteome profile. Five different detergents were used to extract sperm proteins of rabbit males belonging to genetic line R. Results showed that the lysis buffers containing 1% SDS and 8 M urea were the best buffers to recover sperm rabbit proteins. Both the protein concentration obtained and the relative quantity of five protein bands were higher (P<0.05) in these two buffers compared to the others (1% Triton X-100, 0.1% Tween-20 and RIPA Buffer). From this study, it can be concluded that the solutions of 1% SDS and 8 M urea are the ones of choice in order to extract sperm rabbit proteins.

**Keywords:** sperm, proteome, extraction method, rabbit.

## **EFFECTO DE POTENCIADORES DE PERMEABILIDAD SOBRE LA CALIDAD SEMINAL DE CONEJO**

Fernández-Serrano, P., Casares-Crespo, L., y Viudes-de-Castro, M.P.  
CITA-IVIA. Polígono de la Esperanza, nº 100. 12400. Segorbe (Castellón).  
viudes\_mar@gva.es

### **INTRODUCCIÓN**

La técnica habitual de inseminación artificial (IA) en conejo conlleva la aplicación intramuscular de un análogo de la GnRH tras la aplicación de la dosis seminal, ya que se trata de una especie de ovulación inducida. De cara a optimizar la técnica de IA en conejo, se puede inducir la ovulación añadiendo el análogo de la GnRH al diluyente de inseminación. De esta forma, además de mejorar las condiciones de trabajo del personal inseminador, se contribuye al bienestar animal puesto que se evita el daño ocasionado por la inyección y se reduce el estrés, acortando el tiempo de manejo del animal (Dal Bosco et al., 2014). Por ello, la utilización de diluyentes que incorporen el análogo en su composición simplifica la técnica de inseminación en esta especie. No obstante, la concentración necesaria de GnRH que debe añadirse al diluyente para inducir la ovulación es muy superior a la que se administra intramuscularmente (Vicente et al., 2008). Esto se debe en parte a la elevada concentración de aminopeptidasas presentes en el plasma seminal de conejo, las cuales degradan el análogo de GnRH antes de su incorporación al riego sanguíneo (Viudes-de-Castro et al., 2014). En una primera aproximación, nuestro grupo de trabajo planteó la utilización de inhibidores de proteasas en los diluyentes de inseminación (Casares-Crespo et al., 2016), lo que permitiría una mayor disponibilidad de GnRH. Sin embargo, se evidenció que la adición de un cóctel de inhibidores de proteasas, si bien no afectaba a la calidad seminal *in vitro* ni a la fertilidad *in vivo*, reducía el tamaño de camada al nacimiento, por lo que sería necesario probar la utilización de inhibidores específicos de aminopeptidasas.

Una segunda estrategia sería la utilización de sustancias que permitan aumentar la absorción de la mucosa vaginal, lo que haría incrementar la biodisponibilidad de la GnRH para desencadenar la ovulación. Existen compuestos que presentan propiedades mucoadhesivas que contribuyen a potenciar la permeabilidad de las membranas mucosas como por ejemplo algunas sales biliares y macromoléculas como el quitosano y el polivinil alcohol (PVA) (Sharma et al., 2006; Kharenko et al., 2009; Gupta et al., 2011). En porcino, se han utilizado derivados del quitosano, observándose una mejora en la penetración de ciertos compuestos peptídicos a través de la mucosa bucal y vaginal (Sandri et al., 2004; Bonferoni et al., 2008). En esta misma especie también se ha probado PVA con diferentes pesos moleculares en la formulación de films, observándose un aumento de la mucoadhesividad bucal independientemente del peso molecular utilizado (Padula et al., 2013). Por otra parte, en perro se ha observado que la utilización del glicocolato sódico aumentaba la absorción de insulina a través de la mucosa bucal (Aungst y Rogers, 1989). Por tanto, la administración de estos compuestos junto con inhibidores enzimáticos podría suponer una mejora en los diluyentes de inseminación suplementados con análogos de la GnRH, aumentando así la cantidad de hormona disponible sin tener que aumentar su concentración en el diluyente. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de diferentes potenciadores de permeabilidad al diluyente de inseminación, sobre los parámetros de calidad seminal de conejo (motilidad, viabilidad y estado de las membranas).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El experimento se llevó a cabo entre mayo y septiembre de 2016, realizándose 6 sesiones de trabajo. Se utilizaron machos de aptitud cárnica (línea sintética R), alojados en la granja experimental de Mejora Genética del Instituto de Ciencia y Tecnología Animal de la Universidad Politécnica de Valencia. Los eyaculados se obtuvieron mediante vagina artificial y se llevó a cabo una primera evaluación subjetiva de la calidad seminal. Se realizó una mezcla heterospermica con aquellos que presentaron valores superiores al 70% de motilidad y menos del 15% de formas anormales y acrosomas dañados. De esta mezcla se cogió una alícuota de 20 µL y se diluyó 1:50 en una solución de glutaraldehído al 0,25% para calcular la concentración de espermatozoides mediante recuento en cámara Thoma a 400 aumentos y con contraste de fases. Se utilizaron seis diluyentes experimentales, utilizando como control el TCG (Viudes de Castro et al., 1999) suplementado con inhibidores

de aminopeptidasas (10  $\mu$ M de bestatina y 20 mM de EDTA) y otros cinco diluyentes experimentales que se prepararon añadiendo cada vez un potenciador de permeabilidad diferente al control (2 mM de Glicolato sódico (G2), 5 mM de Glicolato sódico (G5), 0,1% de Quitosano (Q0,1), 0,5% de PVA (PVA0,5) y 1% de PVA (PVA1). Las mezclas seminales se fraccionaron en seis partes, y cada una de ellas fue diluida (1:5; v:v) con uno de los diluyentes experimentales y puesta a incubar a 37°C. Se tomaron muestras a las 3 y 5 horas de incubación y se evaluaron las características seminales. La motilidad fue valorada mediante un sistema computerizado de análisis de imagen (CASA, ISAS versión 1.0.17, Proiser, Valencia, España), la viabilidad e integridad del acrosoma se evaluaron mediante citometría de flujo en un citómetro Cytomics™ FC 500 (Beckman Coulter, IZASA, Barcelona, España); empleando para ello los fluorocromos SYBR Green, FITC-PNA y yoduro de propidio. Adicionalmente, a las 5 horas, se realizó un análisis de la funcionalidad de las membranas de los espermatozoides mediante un HOST (Hypo-Osmotic Swelling Test), para lo cual se utilizó una solución hipoosmótica (75 mOsm) con fructosa y ácido cítrico, con la que se diluyó 1:20 una alícuota de cada grupo experimental. Tras 30 minutos de incubación a 37°C se fijó con una solución de glutaraldehído al 0,25% y se contaron un mínimo de 200 espermatozoides por muestra bajo microscopio de contraste de fases a 400 aumentos, calculándose el porcentaje de espermatozoides con membrana funcional.

El efecto del diluyente empleado y el tiempo de incubación sobre la motilidad, viabilidad, integridad del acrosoma y funcionalidad de membranas fue analizado mediante un análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico STATGRAPHICS® Centurion Profesional (Statistical Graphics Corp., Rockville, USA). Los datos se presentan como medias mínimo cuadráticas  $\pm$  error estándar de la media.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tiempo de incubación no tuvo un efecto significativo sobre los parámetros de motilidad, viabilidad y funcionalidad de membrana. Por el contrario, se observó un descenso significativo ( $P < 0,05$ ) de la integridad media del acrosoma a las cinco horas (86,3%) respecto al valor medio a las 3 horas (76,8%), siendo similar en todos los grupos experimentales (valores no contemplados en tablas). Esta caída de la integridad del acrosoma con el transcurso del tiempo es un resultado esperable, ya que los productos del metabolismo de los espermatozoides aumentan con el tiempo, iniciándose una cascada de reacciones que provocan daños sobre la membrana. Resultados similares se han observado durante la conservación de semen de conejo a 15°C, donde a medida que avanza el tiempo se observa también un incremento progresivo en el porcentaje de espermatozoides con daños en acrosoma (Roca et al., 2000). En la Tabla 1 se muestran los resultados de motilidad, viabilidad, integridad del acrosoma y funcionalidad de membranas a las 5 horas de incubación con los diluyentes experimentales. No se observaron diferencias significativas entre los distintos diluyentes en ninguno de los parámetros de calidad seminal analizados. En base a los resultados experimentales de este trabajo se puede concluir que ninguno de los potenciadores de permeabilidad utilizados afecta a la calidad seminal de conejo. Por ello, los diluyentes de inseminación artificial de conejo pueden ser suplementados con estos potenciadores de permeabilidad de la mucosa vaginal sin que afecten a la calidad seminal. Con la presencia de estos compuestos en el diluyente cabe esperar un aumento de la biodisponibilidad de GnRH tal que permita reducir la concentración del análogo en el diluyente. Por lo que son necesarios trabajos futuros para estudiar el efecto de la adición de potenciadores de permeabilidad en los diluyentes suplementados con análogos de GnRH sobre los resultados de fertilidad y prolificidad, así como sobre su biodisponibilidad en la hembra.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aungst y Rogers, 1989. *International Journal of Pharmaceutics*. 53(3): 227-235.
- Bonferoni et al., 2008. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 33: 166-176.
- Casares-Crespo et al., 2016. *Theriogenology* 85:928-932.
- Dal Bosco et al., 2014. *Animal Reproduction Science*. 150: 44-49.
- Gupta et al., 2011. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*. 5: 82-94.
- Kharenko et al., 2009. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 43(4): 200-208.
- Padula et al., 2013. *AAPS PharmSciTech*. 14(4): 1279-1283.
- Roca et al., 2000. *Animal Reproduction Science*. 64(1-2): 103-112.
- Sandri et al., 2004. *European Journal of*

Pharmaceutical Sciences. 21: 351-359. • Sharma et al., 2006. Pharmazie. 61: 495-504. • Vicente et al., 2008. Livestock Science. 115: 153-157. • Viudes-de-Castro et al., 1999. Ann. Zotech. 48: 407-412. • Viudes-de-Castro et al., 2014. Theriogenology 81: 1223-1228.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto RTA2013-00058-00-00 del INIA. L. Casares-Crespo ha sido financiada por una beca de formación del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) y el Fondo Social Europeo. P. Fernández-Serrano ha sido financiada por el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) y el Ministerio de Empleo y Seguridad Social (Programa de Garantía Juvenil).

**Tabla 1.** Efecto de los distintos potenciadores adicionados al diluyente sobre la motilidad, viabilidad, integridad del acrosoma y funcionalidad de las membranas (HOST) tras 5 horas de incubación a 37°C.

Potenciador	Motilidad (%)	Viabilidad (%)	Integridad Acrosoma (%)	HOST (%)
G2	79,2 ± 3,4	75,9 ± 2,3	78,6 ± 8,8	83,6 ± 3,6
G5	74,0 ± 3,4	75,9 ± 2,3	80,1 ± 8,8	86,8 ± 3,6
Q0,1	77,7 ± 3,4	74,1 ± 2,3	77,5 ± 8,8	85,0 ± 3,6
PVA0,5	81,0 ± 3,4	74,8 ± 2,3	75,3 ± 8,8	85,8 ± 3,6
PVA1	79,8 ± 3,4	73,6 ± 2,3	73,8 ± 8,8	81,2 ± 3,6
CONTROL	76,2 ± 3,4	74,0 ± 2,3	75,4 ± 8,8	82,3 ± 3,6

HOST: Hypo-Osmotic Swelling Test; G2: 2 mM de Glicolato sódico; G5: 5 mM de Glicolato sódico; Q0,1: 0,1% de Quitosano; PVA0,5: 0,5% de PVA; PVA1: 1% de PVA; CONTROL: Tris-ácido cítrico-glucosa.

#### PERMEATION ENHANCERS EFFECT ON SEMINAL QUALITY IN RABBIT

**ABSTRACT:** Several authors have studied the incorporation of the GnRH analogue in the composition of artificial insemination extenders in rabbits. However, aminopeptidases present in seminal plasma and the vaginal mucosa cause degradation and a reduction of the analogue's bioavailability. Permeation enhancers such as sodium glycolate, chitosan or polyvinyl alcohol may increase the absorption of the vaginal mucosa allowing a greater bioavailability of the analogue per female. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of different permeation enhancers on rabbit seminal quality parameters (motility, acrosome status, viability and membrane functionality). Rabbit seminal samples were incubated up to five hours at 37°C with the following permeation enhancers added to the TCG extender: glycolate (2 and 5 mM), 0.1% chitosan and polyvinyl alcohol (0.5 and 1%). Our results showed that the presence of these permeation enhancers had no effect on the sperm quality, so they could be added to the rabbit seminal dose. The next step would be to test them *in vivo* evaluating if they have some effects on fertility and prolificity.

**Keywords:** permeation enhancers, seminal quality, rabbit.



## IDENTIFICACIÓN DE $\beta$ -NGF EN EL PLASMA SEMINAL PURIFICADO DE CONEJO Y LOCALIZACIÓN DE SU RECEPTOR DE ALTA AFINIDAD (TRKA) EN EL TRACTO REPRODUCTOR MASCULINO

Sanchez-Rodriguez, A.<sup>1</sup>, Masdeu, M.<sup>1</sup>, Arias- Alvarez, M.<sup>1</sup>, Lorenzo, P.L.<sup>1</sup>, Bautista, J.M.<sup>1</sup>, Rebollar, P.G.<sup>2</sup> y Garcia- Garcia, R.M.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria. UCM. <sup>2</sup>E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. UPM. Ciudad Universitaria, s/n, 28040, Madrid. rosa.garcia@vet.ucm.es

### INTRODUCCIÓN

En el plasma seminal (PS) de algunas especies, tanto de ovulación inducida como espontánea, se ha descrito la presencia de un factor inductor de la ovulación (FIO) (Adams y col., 2005). Recientemente se ha descubierto que se trata del factor de crecimiento nervioso (NGF) (Ratto y col., 2012), cuyo precursor es el pro-NGF que tiene un peso molecular ~60 kDa y varias isoformas en el rango entre 16-60 kDa (Paoletti y col., 2006). Además, se ha descrito la presencia del receptor de alta afinidad de esta proteína (TrkA) sólo en próstata, testículo y glándula seminal del tracto reproductor de conejo (Maranesi y col., 2015), pero no en otras importantes estructuras con un papel esencial en la producción de PS y en la espermatogénesis. El objetivo del presente trabajo fue localizar por inmunohistoquímica el receptor TrkA en la glándula bulbouretral y en el epidídimo e identificar por espectrometría de masas (MALDI-TOF) la presencia de esta proteína, en una fracción purificada del PS del conejo, que previamente había sido identificada por western blot (WB).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los tejidos y el PS se obtuvieron de conejos adultos reproductores de 8-9 meses de edad de raza Neozelandés x California.

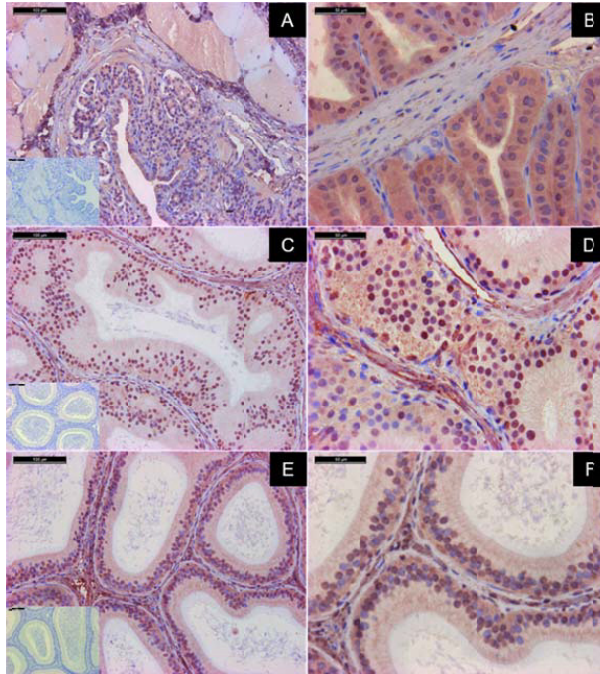
**Inmunohistoquímica:** Para la técnica de inmunohistoquímica, se recogieron la glándula bulbouretral y el epidídimo de 4 conejos. Las muestras fueron desparafinadas y sometidas a un tratamiento con calor. Posteriormente, se trataron con suero de bloqueo caprino y se incubaron con el anticuerpo primario mouse anti-TrkA (ab86474, Abcam, Cambridge, Reino Unido) durante la noche a 4°C en cámara húmeda. Los controles negativos se incubaron sin anticuerpo primario. Después de los lavados, se añadió el anticuerpo secundario biotinilado anti-mouse (H+L) obtenido en cabra® (Vector Laboratories, Ltd., Peterborough, UK) y se revelaron con el kit ABC Vector Elite (Vector Laboratories, Burlingame, CA, EEUU) y peroxidasa (Vector Nova RED substrate kit for Peroxidase, Vector Laboratories). Las muestras se contrastaron con hematoxilina.

**Western blot y MALDI-TOF:** El PS se obtuvo del eyaculado de 12 machos. El semen se diluyó 1:1 con PBS y se centrifugó a 3000 g, 30 minutos a 4°C. Se almacenó a -20°C hasta su utilización. La identificación de  $\beta$ -NGF en el PS entero se realizó mediante el análisis con WB: primeramente se realizó una electroforesis con SDS-PAGE de las muestras disueltas en la mezcla de buffer 5% 2- $\beta$ -mercaptoetanol y Laemli (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA). Después se transfirió a membranas de nitrocelulosa, las cuales se incubaron overnight con anticuerpo monoclonal  $\beta$ -NGF murino (Promega, WI, USA) diluido en la solución de bloqueo. Finalmente se realizaron los lavados y se incubó con el anticuerpo secundario (donkey anti-mouse; Li.CorBiotechnology, Lincoln, Nebraska, USA). Se utilizó para su revelado el sistema Odyssey Infrared (Li.CorBiotechnology). Para la separación de péptidos por la técnica de isoelectroenfoque en solución (OFFGEL-IEF) basado en punto isoelectrico se empleó el kit 3100 OFFGEL pH 3-10 (Agilent Technologies Inc., Waldbron, Germany), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La muestra se enfocó a 20°C a 50  $\mu$ A a 20 KVh de máximo y las fracciones separadas se almacenaron de forma separada. Finalmente, se realizó el MALDI-TOF de las bandas de 13-14 kDa del gel tras SDS PAGE y tinción con Coomassie. Las muestras se trataron según Sechi (2002) y se analizaron en el analizador 4800 Plus Proteomics MALDI-TOF/TOF mass

spectrometer (AppliedBiosystems, MDS Sciex, Toronto, Canada) del centro de Genómica y proteómica de la UCM. El voltaje empleado fue de 20000 V y las condiciones de 1 Kv en modo ión reflector y +/- 4 Da de precursor de masa. Para la identificación de la proteína se utilizó una base de datos hecha ad hoc y la secuencia de NGF (gij655847230) del NCBIInr utilizando la versión MASCOT v 2.3 (www.matrixscience.com) a través de Global Protein Server v 3.6 from ABSCIEX. En todas las proteínas identificadas, la probabilidad de coincidencia fijada por MASCOT fue de  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El receptor de TRKA se inmunolocalizó en ambos tejidos estudiados. En la glándula bulbouretral, la tinción se observó en las células glandulares (núcleo y citoplasma) y células musculares (citoplasma), mientras que en la cabeza y cola del epidídimo, el receptor aparecía en el tejido conjuntivo y en las células principales (núcleo y citoplasma) (Fig. 1). Estos resultados concuerdan con los encontrados en otras especies (glándula bulbouretral en ratas: Li y col., 2005; epidídimo en ratas y monos: Li y col., 2005, Jin y col., 2006), lo que indicaría un posible papel del NGF en estas estructuras que intervienen en la producción del PS y en la maduración del espermatozoide todavía por determinar en esta especie.



**Figura 1.** Inmunolocalización del receptor TrkA (en rojo). Glándula bulbouretral (A: 20x; B: 40x: tinción en músculo liso y en núcleo y citoplasma de células glandulares). Cabeza (C: 20x; D: 40x) y cola del epidídimo (E: 20x; F: 40x): señal en tejido conjuntivo y núcleo y citoplasma de células principales.

Por otro lado, también identificamos  $\beta$ -NGF en PS. Primeramente, en el WB del PS entero sin purificar apareció una banda de ~60 kDa, que posiblemente podría corresponder a pro-NGF (Reinshagen y col., 2000), lo que coincide con lo descrito en el trabajo de Ratto y col. (2012). Sin embargo, en el WB de la fracción separada por OFFGEL-IEF detectamos una banda ~13-14 kDa en la fracción básica (pH=8,24-8,83),

que podría corresponder con la subunidad monomérica de  $\beta$ -NGF. El punto isoeléctrico de la proteína fue similar al descrito en el bovino (9,5-10) y ratón (9,3) (Harper y col., 1982). Las neurotrofinas como el NGF son sintetizadas habitualmente como precursores inactivos o pro-proteínas, que en condiciones desnaturalizantes o de pH extremos pueden madurar (Harper y col., 1982), separándose en monómeros de 13-14 kDa, que generalmente son la forma biológicamente activa. Los péptidos derivados de la banda purificada de ~13-14 kDa, analizados por huella peptídica combinada con espectrometría de masas reveló una alta homología ( $P < 0,05$ ) con la secuencia de conejo registrada en la base de NCBI. Estos resultados concuerdan con los de Crespo-Casares y col. (2016), que también detectaron la presencia de  $\beta$ -NGF en el PS entero de conejo de distintas líneas genéticas. En conclusión, en este trabajo se ha localizado el receptor de alta afinidad de NGF en la glándula bulbouretral y epidídimo de conejo, así como la proteína activa en la fracción básica del PS de conejo, indicando un posible efecto biológico de este factor en la fisiología reproductiva del macho y la hembra todavía por determinar en el conejo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams G.P. y col. *Biol Reprod* 73, 452–457 (2005) • Crespo-Casares I. y col. *Reprod Dom Anim* 51, 294–300 (2016) • Harper, G.P.J. *Biol. Chem.* 257, 8541-8548 (1982) • Jin y col. *Endocrine*, 29, 155–160 (2006) • Li y col. *Zool Sci* 22: 933–937 (2005) • Maranesi M. y col. *Reprod Dom Anim* 50, 918–925 (2015) • Paoletti, F. y col. *Biochem Soc Trans.* 34, 605-6 (2006) • Ratto M. y col. *PNAS* 109 (37): 15042-7 (2012) • Reinshagen, M. J. *Neurochem.* 74, 2127-2133 (2000) • Sechi, S. *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.* 16, 1416-1424 (2002).

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL-201565572-C2-2-R. Los autores quieren agradecer la inestimable ayuda de P. Abad, L. Gutiérrez y M.J. Caverro. ASR disfruta de un contrato predoctoral UCM.

### **$\beta$ -NGF IDENTIFICATION IN PURIFIED RABBIT SEMINAL PLASMA AND IMMUNOLOCATION OF ITS HIGH AFFINITY RECEPTOR (TRKA) IN MALE REPRODUCTIVE TRACT**

**ABSTRACT:** Ovulating inductor factor (OIF) has been described in seminal plasma (SP) of both induced and spontaneously ovulating species (Adams et al., 2005) and recently, it has been identified as beta-nerve growth factor ( $\beta$ -NGF). This is a protein synthesized as a precursor (pro-NGF) with a molecular weight of ~60 kDa and some isoforms, ranging from 16-60 kDa (Paoletti et al., 2006). The high affinity receptor of this protein (TrkA) has been located in prostate, testicle and seminal vesicle of rabbit reproductive tract (Maranesi et al., 2015) but not in other male organs with an important role in SP production and spermatogenesis. Therefore, the objectives of this study were to immunolocalize by immunohistochemistry TrkA in the bulbouretral gland and the epididymis and to identify the presence of NGF in purified rabbit SP by mass spectrometry (MALDI-TOF). The high affinity receptor was detected in bulbouretral gland (nucleus and cytoplasm of glandular cells and cytoplasm of muscle cells) and in caput and cauda of epididymis (connective tissue and nucleus and cytoplasm of principal cells). NGF was identified in non-purified SP by western blot analysis with a molecular weight of ~60 kDa, presumably corresponding to pro-NGF (Ratto et al., 2012). After the peptide separation by OFFGEL-IEF technique, the beta fraction of NGF was identified by peptide mass fingerprinting with high homology with the rabbit sequence submitted to NCBI. These findings indicate that NGF can play an important role in the male and female reproductive physiology in rabbits.

**Key words:** tracto reproductor masculino, TRKA, NGF, plasma seminal

## **EFFECTO DEL 17- $\beta$ ESTRADIOL Y LA PROGESTERONA SOBRE LA CAPACITACIÓN Y LA CAPACIDAD FECUNDANTE DEL ESPERMATOZOIDE OVINO**

Casao, A., Gimeno-Martos, S., Abecia, J.A., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T. y Pérez-Pé, R.

Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Facultad de Veterinaria, Miguel Servet 177, Zaragoza. adriana@unizar.es

### **INTRODUCCIÓN**

Para poder ser capaz de fecundar al ovocito, el espermatozoide debe llevar a cabo una serie de eventos conocidos como capacitación. La capacitación espermática es un proceso complejo y no del todo conocido, que conlleva cambios en la membrana plasmática del espermatozoide, movimientos de calcio intracelular y una serie de cascadas de transducción de señales que concluyen con la reacción acrosómica del espermatozoide (Yanagimachi, 1994). Todos estos procesos ocurren de forma fisiológica en el tracto genital de la hembra, por lo que no hay duda de que factores presentes en ese ambiente, como las hormonas esteroideas (estrógenos, en concreto 17- $\beta$  estradiol (E2) y progesterona (P4) podrían tener un papel importante en su modulación (ver revisión de Baldi et al. (2009)).

En los últimos años se ha especulado que todas estas posibles acciones de las hormonas esteroideas en el espermatozoide se produzcan a través de receptores específicos de membrana. En el caso de la especie ovina, en la que apenas hay estudios sobre el efecto de las hormonas esteroideas sobre el espermatozoide, nuestro grupo ha detectado la presencia de receptores de estrógeno  $\beta$  (Casao et al., 2011) y de progesterona (González-Arto et al., 2013) en la membrana espermática. De esta manera, las hormonas esteroideas (17- $\beta$  estradiol y progesterona) podrían estar involucradas en los procesos de capacitación y en la capacidad fecundante del espermatozoide ovino.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para el análisis del efecto de 17  $\beta$  estradiol y progesterona sobre el espermatozoide ovino se partió de semen obtenido el mismo día de la fecundación in vitro mediante vagina artificial partir de moruecos adultos, pertenecientes a la Asociación Nacional de Ganaderos de la raza Rasa Aragonesa (ANGRA), mantenidos en las instalaciones del Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza. Los espermatozoides se separaron del plasma seminal por el método de swim-up/dextrano (García-Lopez et al., 1996) y se capacitaban in vitro a una concentración de  $1,6 \times 10^8$  céls/ml en medio TALP completo (Parrish et al., 1988), con 5 mg/ml de albúmina sérica bovina, en condiciones capacitantes (5% de CO<sub>2</sub> y 100% de humedad relativa, a 39 °C durante 3 horas). Las muestras espermáticas se incubaron con 17- $\beta$  estradiol 1  $\mu$ M (muestra E2), progesterona 1  $\mu$ M (muestra P4) o sin hormonas esteroideas (control). Tras la incubación se analizó motilidad, viabilidad, estado de capacitación y capacidad fecundante de las muestras.

La evaluación de la motilidad se realizó mediante un sistema de análisis computerizado (ISAS 1.0.4; Proiser SL, Valencia, Spain). La determinación de la viabilidad (integridad de la membrana plasmática) se llevó a cabo mediante la doble tinción con diacetato de carboxifluoresceína (CFDA) y yoduro de propidio (IP) y se analizó por citometría de flujo. La valoración del estado de capacitación se llevó a cabo mediante la tinción con clorotetraciclina (CTC), y se analizó mediante microscopía de fluorescencia.

La capacidad fecundante de las muestras se evaluó por fecundación in vitro (FIV). Los ovocitos se obtuvieron a partir de ovarios procedentes de ovejas adultas que se ovariectomizaron en las instalaciones del Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza el día anterior a la obtención de los espermatozoides, y se maduraron siguiendo el protocolo habitual (Casao et al., 2017). A las 22-24 horas del inicio de la maduración, los ovocitos se denudaron pipeteándolos varias veces suavemente, se lavaron dos veces en medio de fecundación (SOF (Tervit y Whittingham, 1972) sin glucosa con un 2% de suero fetal bovino), y se colocaron en un pocillo con 350  $\mu$ l de dicho medio. Tras la incubación con hormonas, los espermatozoides se añadieron a los ovocitos a una concentración final de  $10^6$  células/ml y los gametos se incubaron durante 24 horas a 39°C y 5% de CO<sub>2</sub>. A las 24 y 48 horas tras la fecundación se identificaron los embriones divididos, que se cultivaron a 39°C, 5% de CO<sub>2</sub> y 5% de O<sub>2</sub> durante 8 días (contando como día 0 el

momento de la fecundación *in vitro*) según el protocolo habitual (Casao et al., 2017). Los ovocitos no divididos se tiñeron con Hoechst 33342 para evaluar su estado de maduración. Los datos obtenidos se analizaron mediante chi-cuadrado, utilizando el programa IBM SPSS Statistics 21 (IBM, Armonk, NY, Estados Unidos).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El uso de estradiol o progesterona no produjo diferencias significativas en el porcentaje de espermatozoides móviles o móviles progresivos cuando se comparó con la muestra control (Tabla 1), aunque se apreció un aumento significativo de la motilidad progresiva de la muestra tratada con estradiol cuando se comparó con la tratada con progesterona ( $P < 0,05$ ). Estos resultados concuerdan con los observados en hámster (Jin et al., 2005) y en caballo (Filannino et al., 2011), en los que el estradiol mejora los parámetros de motilidad en estas especies. En cuanto a la viabilidad espermática (Tabla 1), se observó una mejora de este parámetro en ambas muestras incubadas con hormonas, aunque solo fue significativa en presencia de P4 ( $P < 0,05$ ), de forma similar a la observada en trabajos realizados con espermatozoides porcinos (De Amicis et al., 2012).

Los análisis del estado de capacitación, evaluado por CTC, revelaron que la incubación con ambas hormonas disminuyó el porcentaje de espermatozoides no capacitados, a la vez que aumentó el de capacitados (Figura 1) y en el caso de la progesterona, también el de reaccionados. Estos resultados corroboran los obtenidos en otras especies, en los que el estradiol parece favorecer los procesos de capacitación en espermatozoides humanos (Adeoya-Osiguwa et al., 2003) y porcinos (Ded et al., 2010), mientras que la progesterona ha demostrado un efecto capacitante, e inductor de la reacción acrosómica en la mayor parte de mamíferos (ver revisiones de Baldi et al. (2009) y Witte y Schäfer-Somi (2007)).

A pesar de este aumento del porcentaje de espermatozoides capacitados la adición de hormonas esteroideas *in vitro* a los espermatozoides ovinos no se reflejó en su capacidad fecundante, evaluada mediante FIV, ya que no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de ovocitos fecundados, divididos a las 24 o 48 horas de la fecundación, ni tampoco en el porcentaje de blastocistos obtenidos (Tabla 2). Estos resultados difieren de los obtenidos en hámster (Libersky y Boatman, 1995) o porcino (Barboni et al., 1995) en el caso de la progesterona, y en ratón (Adeoya-Osiguwa et al., 2003) en el caso del estradiol, donde estas hormonas mejoraban la capacidad fecundante evaluada mediante unión a zona pelúcida o pruebas de penetración. En nuestro caso, es probable que el tiempo de co-incubación de los gametos (24 horas) en el medio de fecundación, que incluye bicarbonato en su composición, con cierto efecto capacitante (Grasa et al., 2006), haya hecho que las diferencias apreciadas en el estado de capacitación de las muestras espermáticas no se reflejen en el resultado final de la FIV.

En conclusión, la adición de  $17\text{-}\beta$  estradiol y progesterona a los espermatozoides ovinos aumentó el porcentaje de espermatozoides capacitados, pero este aumento no se reflejó en una mejora de los embriones obtenidos mediante FIV.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeoya-Osiguwa, S. A., et al. 2003. Hum. Reprod. 18: 100-107.
- Baldi, E., et al. 2009. Mol. Cell. Endocrinol. 308: 39-46.
- Barboni, B., et al. 1995. Journal of Endocrinology 144: 13-18.
- Casao, A., et al. 2011. Reprod. Domest. Anim. 46: 93-93.
- Casao, A., et al. 2017. Zygote 25: 98-102.
- De Amicis, F., et al. 2012. Anim. Reprod. Sci. 135: 75-84.
- Ded, L., et al. 2010. Reprod. Biol. Endocrinol. 8: 87.
- Filannino, A., et al. 2011. Reprod. Biol. Endocrinol. 9: 134.
- García-Lopez, N., et al. 1996. Theriogenology 46: 141-151.
- González-Arto, M., et al. 2013. XV Jornadas sobre Producción Animal de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), Zaragoza, Spain.
- Grasa, P., et al. 2006. Reproduction 132: 721-732.
- Jin, W., et al. 2005. J. Androl. 26: 478-484.
- Libersky, E. A. Boatman, D. E. 1995. Biol. Reprod. 53: 483-487.
- Parrish, J. J., et al. 1988. Biol. Reprod. 38: 1171-1180.
- Tervit, H. R. Whittingham, D. G. 1972. J. Reprod. Fert. 30: 493 - 497.
- Witte, T. S. Schäfer-Somi, S. 2007. Anim. Reprod. Sci. 102: 181-193.
- Yanagimachi, R. 1994. Zygote 2: 371-372.

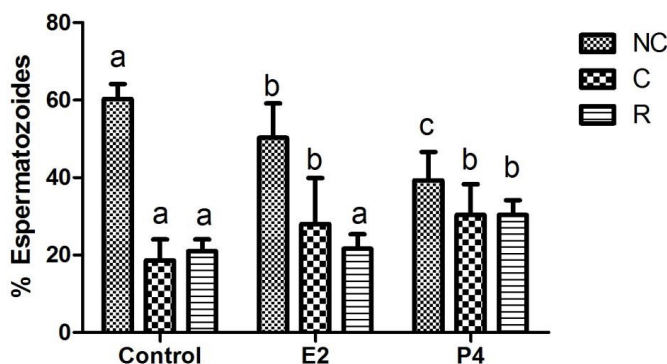
**Agradecimientos:** AGL2013-41200-P, AGL2014-57863-R, BES2015-072034 y DGA-A26

**Tabla 1.** Motilidad, motilidad progresiva y viabilidad de espermatozoides incubados con 1  $\mu\text{M}$  de 17- $\beta$  estradiol (E2), 1  $\mu\text{M}$  de progesterona (P4) o sin hormonas (Control). Los resultados se muestran como media  $\pm$  SEM de  $n = 3$ . Letras distintas indican diferencias significativas ( $P > 0,05$ ).

	Motilidad	Motilidad progresiva	Viabilidad
Control	62,6 $\pm$ 11,5 %	22,0 $\pm$ 4,1 %	40,0 $\pm$ 4,2 % <sup>a</sup>
E2	65,0 $\pm$ 14,1 %	27,7 $\pm$ 4,0 % <sup>a</sup>	46,5 $\pm$ 4,5 %
P4	63,1 $\pm$ 11,9 %	20,3 $\pm$ 2,6 % <sup>b</sup>	48,1 $\pm$ 6,2 % <sup>b</sup>

**Tabla 2.** Tasas de maduración, fecundación, división y de blastocistos de ovocitos fecundados con espermatozoides incubados con 1  $\mu\text{M}$  de 17- $\beta$  estradiol (E2), 1  $\mu\text{M}$  de progesterona (P4) o sin hormonas (Control).

	Maduración	Fecundación	División 24 h	División 48 h	Blastocistos
Control (n=68)	83,8 %	86,0 %	38,2 %	66,2 %	33,3 %
E2 (n=64)	79,7 %	94,1 %	37,5 %	71,9 %	39,1 %
P4 (n=67)	80,6 %	87,0 %	46,3 %	68,7 %	34,4 %



**Figura 1.** Porcentaje de espermatozoides no capacitados (NC), capacitados (C) y reaccionados (R), evaluados mediante la tinción con clorotetraciclina (CTC), en muestras incubadas con 1  $\mu\text{M}$  de 17- $\beta$  estradiol (E2), 1  $\mu\text{M}$  de progesterona (P4) o sin hormonas (Control). Los resultados se muestran como media  $\pm$  SEM de  $n = 3$ . Letras distintas indican diferencias significativas ( $P > 0,05$ ).

### 17- $\beta$ ESTRADIOL AND PROGESTERONE EFFECT ON RAM SPERM CAPACITATION AND FERTILIZING ABILITY

**ABSTRACT:** Steroid hormones (17- $\beta$  estradiol and progesterone) are present in the female reproductive tract. Also, receptors for both hormones are present in ram spermatozoa. In order to determine the effect of these hormones, ram spermatozoa, selected by swim-up were incubated with 1  $\mu\text{M}$  of 17- $\beta$  estradiol or progesterone in TALP medium and capacitating conditions. Estradiol increased the progressive motility ( $P < 0.05$ ) after incubation, whereas progesterone improved the sperm viability ( $P < 0.05$ ). Both hormones decreased the non-capacitated sperm rate and increased the percentage of capacitated sperm ( $P < 0.05$ ), and progesterone also increased the acrosome-reacted sperm rate ( $P < 0.05$ ). However, no differences were found in the fertilizing, cleavage or blastocyst rate when treated spermatozoa were used in IVF procedures. In conclusion, steroid hormones can stimulate *in vitro* ram sperm capacitation and the acrosome reaction.

**Keywords:** Spermatozoa, FIV, steroid hormones.

## INFLUENCIA DE PROGESTERONA Y ESTRADIOL EN LA ORIENTACIÓN ESPERMÁTICA OVINA

Gimeno, S., Alquezar-Baeta, C., Peinado, J., Nadal, P., Casao, A., Cebrián-Pérez, JA., Muíño-Blanco, T., y Pérez-Pé, R.

Dpto. Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Facultad de Veterinaria, Zaragoza. España.  
711778@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

La progesterona ( $P_4$ ) y  $17\text{-}\beta$  estradiol ( $E_2$ ) son dos hormonas esteroideas que juegan un papel fundamental en los procesos reproductivos de los mamíferos, fundamentalmente a través de la regulación de la expresión génica en el eje hipotalámico-hipofisario gonadal mediada por receptores nucleares. Sin embargo, estos últimos años se ha postulado la posible regulación no genómica de la funcionalidad espermática a través de receptores de membrana (Baldi et al., 2009). Diversos estudios sobre el efecto *in vitro* de la progesterona sugieren que estimula la capacitación espermática (Baldi et al., 2009), la hiperactivación y la reacción acrosómica (Sagare-Patil et al., 2012) en diversas especies (Lishko et al., 2011; Witte y Schafer-Somi, 2007). En cuanto al estradiol, los estudios sobre sus efectos en espermatozoides son contradictorios. Mientras que para algunos autores su función parece ser la de modular los efectos de la progesterona (Fujinoki et al., 2010; Sebkova et al., 2012; Vigil et al., 2008) (Fujinoki 2010), otros sugieren un efecto directo y estimulador sobre la capacitación, reacción acrosómica y capacidad fecundante (Adeoya-Osiguwa et al., 2003; Ded et al., 2013). Estas hormonas también podrían jugar un papel importante en la orientación espermática en el oviducto, para que pueda llegar al ovocito y fecundarlo, mediante un mecanismo de quimiotaxis (Armon y Eisenbach, 2011). Los espermatozoides responderían variando su direccionalidad en función de un gradiente de concentración de determinadas sustancias presentes en el fluido folicular y/o secretadas por las células del *cumulus* que rodean al ovocito (Bahat y Eisenbach, 2006). Entre las sustancias candidatas se encuentra principalmente la progesterona (Oren-Benaroya et al., 2008), ya comprobado en espermatozoides humanos (Teves et al., 2009) y de conejo (Guidobaldi et al. 2008). El objetivo del presente estudio es valorar el posible efecto quimiotáctico de la progesterona y el estradiol sobre espermatozoides ovinos.

### 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. Con el objetivo de eliminar las diferencias individuales, se trabajó con una mezcla de los segundos eyaculados de cuatro moruecos obtenidos tras un periodo de abstinencia de dos días (Ollero et al., 1996). Se utilizó el método *swim-up*/dextrano (García-Lopez et al., 1996) para obtener una población espermática libre de plasma seminal. Para inducir la capacitación espermática *in vitro*, alícuotas de  $1,6 \times 10^9$  céls/ml obtenidas tras *swim-up* se diluyeron en medio TALP (Parrish et al. 1988) con una mezcla de sustancias (*cocktail*) con capacidad de inducir la capacitación *in vitro* de los espermatozoides ovinos (Colas et al. 2008), y se mantuvieron a  $39^\circ\text{C}$ , 5% de  $\text{CO}_2$  y 100% de humedad relativa durante 3 horas. La respuesta quimiotáctica se analizó utilizando una cámara Dunn, donde se depositaron 30  $\mu\text{l}$  de muestra de espermatozoides a una concentración de  $1,6 \times 10^7$  céls/ml en el pocillo central, y 90  $\mu\text{l}$  medio de dilución (mHTF) (García-Lopez et al., 1996) con o sin hormonas (progesterona ( $P_4$ ) o estradiol ( $E_2$ )) en el pocillo exterior, creándose un gradiente de concentración de las mismas. Se ensayaron dos concentraciones de cada hormona, 100 pM y 1  $\mu\text{M}$ , disueltas previamente en DMSO por lo que al medio de dilución se le adicionó la misma cantidad de DMSO (1/10000 (v/v)) como control. Se grabó un video durante 3 segundos utilizando una cámara (Basler, Exton, PA)

conectada al microscopio de contraste de fases (Nikon eclipse 50i, Nikon, Tokyo, Japan) y se analizó con un programa desarrollado recientemente por nuestro grupo de investigación basado en el software libre ImageJ (ImageJ Casa Biozar). El programa detecta las coordenadas de las trayectorias de los espermatozoides y las dibuja normalizándolas a un mismo punto de referencia. Se selecciona una región cónica del plano para delimitar el área donde existe gradiente de hormona (cono quimiotáctico) y a partir de estos datos, se calculan dos índices, el índice Q (porcentaje de espermatozoides cuya dirección instantánea en cada fotograma entra dentro del cono quimiotáctico) y el índice SL (porcentaje de espermatozoides cuya trayectoria entra dentro del cono quimiotáctico en base a su posición inicial y final únicamente). El análisis estadístico se llevó a cabo con el software Gradpad InStat (5.01, San Diego, CA, EEUU).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

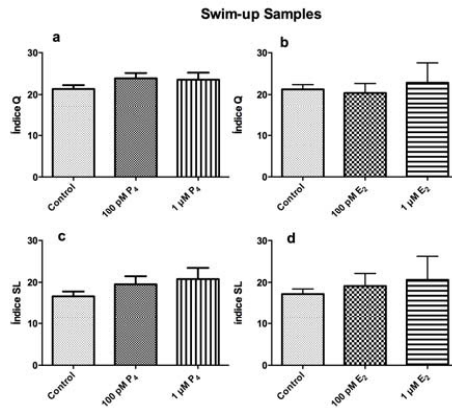
En primer lugar, se evaluó la quimiotaxis en espermatozoides seleccionados por *swim-up*. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre muestras sometidas a un gradiente de progesterona o estradiol y la muestra control, ni en el índice Q (Fig 1, a y b) ni en el índice SL (Fig 1, c y d). En estas muestras seleccionadas por *swim-up* predominan los espermatozoides no capacitados, por lo que este resultado concordaría con estudios previos en los que se demostró que los espermatozoides no capacitados no responden a los fenómenos de atracción quimiotáctica (Perez-Cerezales et al., 2015). Sin embargo, cuando se realizaron los mismos análisis con espermatozoides capacitados *in vitro*, la presencia de P<sub>4</sub> a concentración 100 pM dió lugar a un incremento significativo en los dos índices indicativos de quimiotaxis, el índice Q y el SL respecto al control sin hormona (P<0,001) (Fig 2, a y c). Estos resultados coinciden con los obtenidos en estudios previos en espermatozoides humanos y de conejo (Teves et al., 2006). Con respecto al estradiol, la concentración mayor (1 µM) provocó un aumento significativo en los dos índices estudiados (Fig 2, b y d, P<0,001). Estos resultados revelan, por primera vez para el espermatozoide ovino, la capacidad de una respuesta quimiotáctica frente a la progesterona y el estradiol. Además, únicamente los espermatozoides capacitados y por consiguiente con potencial capacidad fecundante, serían capaces de responder a este estímulo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

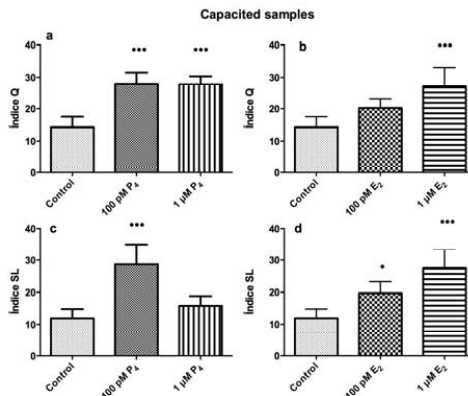
- Adeoya-Osiguwa, S. A., et al. (2003). Hum Reprod 18(1): 100-107.
- Armon, L., et al. (2011). PLoS One 6(12): e28359.
- Bahat, A., et al. (2006). Mol Cell Endocrinol 252(1-2): 115-119.
- Baldi, E., et al. (2009). Mol Cell Endocrinol 308(1-2): 39-46.
- Colas, C., et al. (2008). Reprod Fert Dev 20(6): 649-658.
- Ded, L., et al. (2013). Reproduction 145(3): 255-263.
- Fujinoki, M. (2010). Reproduction 140(3): 453-464.
- Garcia-Lopez, N., et al. (1996). J Chromatogr B Biomed Appl 680(1-2): 137-143.
- Guidobaldi, H. A., et al. (2008). PLoS One 3(8): e3040.
- Lishko, P. V., et al. (2011). Nature 471(7338): 387-391.
- Miki, K., et al. (2013). Curr Biol 23(6): 443-452.
- Ollero, M., et al. (1996). Int J Androl 19(5): 287-292.
- Oren-Benaroya, R., et al. (2008). Hum Reprod 23(10): 2339-2345.
- Parrish, J. J., et al. (1988). Biol Reprod 38(5): 1171-1180.
- Perez-Cerezales, S., et al. (2015). Asian J Androl 17(4): 628-632.
- Sagare-Patil, V., et al. (2012). Int J Androl 35(5): 633-644.
- Sebkova, N., et al. (2012). Reproduction 143(3): 297-307.
- Teves, M. E., et al. (2006). Fertil Steril 86(3): 745-749.
- Teves, M. E., et al. (2009). Plos One 4(12): e3040.
- Vigil, P., et al. (2008). Andrologia 40(3): 146-151.
- Wang, Y., et al. (2001). Gynecol Endocrinol 15(4): 286-292.
- Witte, T. S., et al. (2007). Anim Reprod Sci 102(3-4): 181-193.

**Agradecimientos:** AGL2014-57863-R, DGA-A26, BES-2015-072034





**Figura 1.** Análisis mediante cámara Dunn de los índices quimiotácticos Q (a y b) y SL (c y d) en espermatozoides ovinos seleccionados por swim-up, en presencia de un medio sin hormona (control) o un gradiente de progesterona (P<sub>4</sub>) o de estradiol (E<sub>2</sub>) a partir de una concentración 100 pM o 1 μM. Los resultados se muestran como media ± SEM de n=4.



**Figura 2.** Análisis de los índices quimiotácticos Q (a y b) y SL (c y d) en espermatozoides ovinos capacitados *in vitro*, mediante cámara Dunn, en presencia de un medio sin hormona (control) o un gradiente de progesterona (P<sub>4</sub>) o de estradiol (E<sub>2</sub>) a partir de una concentración 100 pM o 1 μM. Los resultados se muestran como media ± SEM de n=4. \*P<0,05, \*\*\*P<0,001 respecto al control.

## PROGESTERONE AND ESTRADIOL INFLUENCE ON SPERMATIC ORIENTATION IN RAM SPERM

**ABSTRACT:** Progesterone (P<sub>4</sub>) and 17-β estradiol (E<sub>2</sub>) are essential hormones in mammalian reproduction. It has been proposed that steroid hormones could directly regulate the sperm functionality, including guidance towards the oocyte, essential for the sperm-oocyte binding. The aim of this project was to analyse the chemoattractant ability of these hormones. We assayed 100 pM or 1 μM concentration of P<sub>4</sub> and E<sub>2</sub>, on fresh and *in vitro* capacitated ram spermatozoa using a Dunn camera and an experimental software developed by our group. P<sub>4</sub> is able to promoting chemotaxis in *in vitro* capacitated ram spermatozoa at a low concentration (100 pM, P<0,001) while E<sub>2</sub> does it at a high concentration (1 μM, P<0,001). It was demonstrated that both hormones are chemoattractants only for *in vitro* capacitated spermatozoa.

**Keywords:** ram sperm, chemotaxis, progesterone, estradiol

## **OPENCASA: UN PROYECTO ABIERTO PARA EL DESARROLLO DE SOFTWARE LIBRE ORIENTADO AL ANÁLISIS DE ESPERMATOZOIDES**

Alquézar-Baeta C.\*, Gimeno, S.\*, Santorromán, MJ., Santolaria P.\*\*, Yániz J\*\*, Casao, A.\*, Cebrián-Pérez, JA.\*, Muino-Blanco, T.\*, y Pérez-Pé, R\*.

\*Dpto. Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria.

\*\*Grupo de investigación TECNOGAM, Escuela Politécnica Superior de Huesca Universidad de Zaragoza.

Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA)

Email: [alquezar@unizar.es](mailto:alquezar@unizar.es)

### **INTRODUCCIÓN**

El paradigma de la ciencia abierta u Open Science (Dutton y Jeffreys 2010; Woelfle *et al.* 2011) ha ido creciendo en las últimas décadas. El término hace referencia a un tipo de investigación científica transparente y colaborativa, permitiendo el acceso libre a datos, herramientas y resultados (Barandiaran *et al.* 2015). En el campo de la Biología de la reproducción, se ha demostrado la utilidad y potencial que tienen los sistemas informáticos para analizar ciertos parámetros relacionados con la calidad espermática tales como la motilidad, la morfometría o la integridad de la membrana plasmática del espermatozoide (Malmgren 1997). Estos sistemas son conocidos comúnmente como sistemas CASA (Mortimer 2000; Amann y Waberski 2014). En los últimos años ha crecido el interés por analizar el efecto quimioatrayente que tienen ciertas hormonas del tracto reproductor femenino sobre los espermatozoides (Eisenbach y Giojalas 2006). Además, también se sospecha que el fenómeno de la hiperactivación se debe a un mecanismo natural que tienen los espermatozoides para encontrar el gradiente hormonal que les lleva hasta el ovocito (Armon y Eisenbach 2011). Sin embargo, no existe una herramienta software libre que permita estudiar este tipo de fenómenos en el laboratorio. Por ello, dada la necesidad de disponer de un software CASA que permita realizar este tipo de análisis, así como combinar los resultados con otros análisis de funcionalidad espermática, en este trabajo presentamos un nuevo CASA, libre y de código abierto, que permite realizar estudios de quimiotaxis, motilidad, viabilidad y morfometría. Además, se propone que el proyecto sea abierto y colaborativo, y que habilite una infraestructura centralizada mínima para fomentar el desarrollo continuado de dichas herramientas por parte de la comunidad científica.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El proyecto partió del código fuente previamente desarrollado por Wilson-Leedy y Ingermann (2007) para la plataforma abierta ImageJ (Schneider *et al.* 2012; Schindelin *et al.* 2015). Actualmente se está utilizando un repositorio Git (<https://git-scm.com/>) como sistema de control de versiones situado en los servidores de BitBucket (<https://bitbucket.org/>).

Las muestras se prepararon para la evaluación de la morfometría y viabilidad espermáticas como se describió anteriormente (Yániz *et al.* 2012; Yániz *et al.* 2013). Durante las pruebas de validación del software, para los módulos de quimiotaxis y motilidad se registraron videos de espermatozoides ovinos y humanos con una cámara de video (acA1920-155uc, Basler, Exton, PA) a 200 fps, y se utilizaron imágenes de espermatozoides de toro para los módulos de viabilidad y morfometría con una cámara digital Canon EOS 600D (Canon Inc., Tokio, Japón).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Aunque la mayoría de laboratorios y centros de investigación utilizan productos comerciales, en los últimos años han surgido varias alternativas libres y de código abierto (Wilson-Leedy y Ingermann 2007; Purchase y Earle 2012; Giaretta *et al.* 2017). Sin embargo, pese a que estas iniciativas suponen un importante avance dentro del marco de la ciencia abierta, los programas liberados carecen de la estructura y lógica necesarias para favorecer tanto la escalabilidad y continuidad en el desarrollo, como la colaboración y compartición de mejoras y ampliaciones de estos sistemas dentro de la comunidad científica. Esto puede verse reflejado principalmente en: (i) diseños estructurales poco escalables, y (ii) en las plataformas donde se publica el código fuente, normalmente webs estáticas que únicamente

posibilitan la transferencia de información unidireccionalmente, esto es, que los usuarios pueden descargarse los programas, pero no pueden actualizar y complementar dichos programas a la vista del resto de la comunidad, salvo creando otra página web y repitiendo así el esquema anterior.

Para dar solución al primer problema, en este trabajo proponemos estructurar el software por módulos (Figura 1), de tal manera que diferentes desarrolladores puedan trabajar en paralelo sobre diferentes funcionalidades sin que la estructura del programa se vea afectada.

Entre los módulos con los que permite trabajar este software, se encuentran:

1. Módulo de quimiotaxis: permite realizar estudios comparativos de la direccionalidad de los espermatozoides cuando a éstos se les expone en un medio con un agente quimiotáctico frente a la ausencia del mismo.
2. Módulo para el análisis de motilidad: permite obtener parámetros cinéticos individuales para cada espermatozoide y los valores promedio.
3. Módulo de viabilidad: permite realizar el recuento de células con la membrana plasmática dañada o intacta mediante imágenes de fluorescencia.
4. Módulo de morfometría: permite obtener parámetros morfométricos a través de imágenes de espermatozoides.

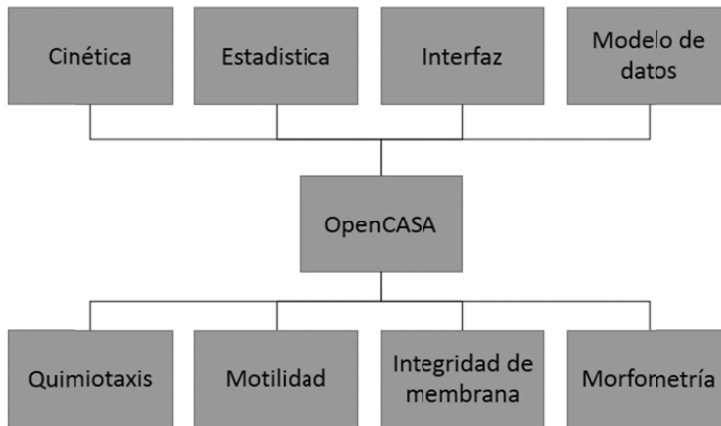
Respecto al segundo problema, se propone el uso de un sistema de control de versiones en la nube, donde diferentes desarrolladores pueden conectarse a estos servidores para realizar cambios en el software y propagarlos al resto de programadores de manera instantánea y controlada.

En conclusión, con este trabajo se pretende avanzar un paso más hacia el desarrollo de una tecnología estándar y libre para el análisis espermático. De momento, hemos analizado la respuesta de espermatozoides ovinos frescos y capacitados a varias hormonas, y las diferencias son significativas (Nadal, 2016; Peinado, 2016). Como trabajo futuro sería necesario ampliar y completar el conjunto de módulos para habilitar nuevos análisis, así como trabajar en una mejor experiencia de usuario disminuyendo la complejidad de la interfaz del sistema.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amann, R. P.yD. Waberski (2014). *Theriogenology* 81(1): 5-17.e13.
- Armon, L.yM. Eisenbach (2011). *PLOS ONE* 6(12): e28359.
- Barandiaran, X. E., *et al.* (2015). Asociación aLabs: 143-222.
- Dutton, W. H.yP. W. Jeffreys. (2010/T16:06:57Z). MIT Press.
- Eisenbach, M.yL. C. Giojalas (2006). *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7(4): 276-285.
- Giaretta, E., *et al.* (2017). *Animal Reproduction Science* 176: 11-19.
- Malmgren, L. (1997). *Theriogenology* 48(4): 523-530.
- Mortimer, S. T. (2000). *Journal of Andrology* 21(4): 515-524.
- Nadal, P. (2016) (<https://zaguan.unizar.es/record/59176?ln=es>)
- Peinado, J. (2016) (<https://zaguan.unizar.es/record/59068?ln=es>)
- Purchase, C. F.yP. T. Earle (2012). *Journal of Applied Ichthyology* 28(6): 1013-1016.
- Schindelin, J., *et al.* (2015). *Molecular Reproduction and Development* 82(7-8): 518-529.
- Schneider, C. A., *et al.* (2012). *Nature Methods* 9(7): 671-675.
- Wilson-Leedy, J. G.yR. L. Ingermann (2007). *Theriogenology* 67(3): 661-672.
- Woelfle, M., *et al.* (2011). *Nature Chemistry* 3(10): 745-748.
- Yániz, J., *et al.* (2013). *Reproduction in Domestic Animals* 48(4): 598-603.
- Yániz, J. L., *et al.* (2012). *Theriogenology* 77(7): 1343-1350.

**Agradecimientos:** AGL2014-57863-R, DGA-A26, AGL2014-52775-P, DGA-FSE-A40. Parte de este trabajo se realizó gracias a un contrato financiado por el Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA). Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Quirónsalud Zaragoza.



**Figura 1.** Esquema modular de OpenCASA. En la parte superior se pueden ver los principales paquetes de funciones que incorpora para desarrolladores. En la parte inferior se pueden ver las principales líneas de análisis que ofrece OpenCASA en esta versión prelanzamiento.

#### **OPENCASA: AN OPEN PROJECT FOR DEVELOPING OPEN SOURCE SOFTWARE ORIENTED TO SPERMATOZOA ANALYSIS**

**ABSTRACT:** In the field of Biology of Reproduction, it has been proved the utility and potential of computer assisted sperm analysis with the aim to assess some parameters related to sperm quality. Furthermore, in recent years some studies have been published pointing that some female reproductive tract hormones have a chemoattractant effect on spermatozoa, in order to guide them to the oocyte. But, due to the lack of specific software for measuring this kind of phenomenon, here we propose a free and open source tool with this purpose. Also, the structure of this software has been design to favour the collective development and features improvement by the scientific community.

**Keywords:** OpenSource, OpenScience, OpenCASA, CASA, chemotaxis, motility, viability, morphometry

## **CALIDAD DEL SEMEN COLECTADO MEDIANTE ELECTROEYACULACIÓN EN CHIVOS NO TRATADOS, SEDADOS O ANESTESIADOS**

Abril-Sánchez<sup>1</sup>, S., Beracochea, F., Crosignani, N., Terrazas, A., Silveira, P., Damián, JP., Fernández, A., Ungerfeld, R.

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia  
Campus *Mare Nostrum*, 30100, Murcia e IMIB, Murcia.

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República,  
Lasplacetas 1550, Montevideo 11600, Uruguay <sup>1</sup> [silvia.abril@um.es](mailto:silvia.abril@um.es)

### **INTRODUCCIÓN**

La electroeyaculación (EE) es una herramienta muy utilizada en sistemas de producción y ganadería, ya que permite colectar semen fuera de la estación reproductiva, y no requiere de un entrenamiento previo del animal. Sin embargo, se ha observado que la EE provoca estrés (Abril-Sánchez et al., 2017; Damián y Ungerfeld, 2011) y podría ser dolorosa para los animales (Bath, 1998). De acuerdo a la directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010 relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos, los procedimientos que puedan causar dolores severos no pueden ser aplicados sin anestesia. Por lo tanto en los países miembros de la UE la EE debe aplicarse bajo anestesia general. Por otra parte, la calidad del semen colectado mediante EE puede ser baja en comparación con vagina artificial (Memon et al., 1986) y presentar riegos de contaminación por orina (Marco-Jimenez et al., 2005). Las drogas utilizadas para la anestesia pueden provocar cambios en las características del semen, mejorando su calidad. De hecho, los agonistas  $\alpha_2$ -adrenérgicos favorecen la estimulación de las contracciones de las glándulas sexuales accesorias, epidídimo y vaso deferente (Knight, 1974), ya que estas zonas están inervadas por fibras adrenérgicas (Kaleczyc et al., 1993; Sjöstrand, 1965). Además, el cuello vesical que conecta la vejiga y la uretra también presenta inervación adrenérgica (McConnell et al., 1982), por lo que los agonistas  $\alpha_2$ -adrenérgicos pueden además favorecer su cierre y disminuir el riesgo de contaminación del semen por orina. Sin embargo, estos agonistas pueden a su vez bloquear la relajación del músculo retractor del pene, obteniendo un efecto opuesto al provocado por la EE (Cheah et al., 2002). Por tanto, la aplicación de agonistas  $\alpha_2$ -adrenérgicos como la xilacina puede provocar varios efectos simultáneos que modifiquen la calidad espermática. Por otra parte, aunque de acuerdo a Santiago-Moreno et al. (2011) el protocolo anestésico utilizado en este trabajo no afectó la calidad del semen, estos autores recomendaron el uso de dosis bajas de ketamina para lograr una correcta erección y protrusión del pene y así facilitar la colección del semen con menor riesgo de contaminación en rumiantes. Una alternativa a la anestesia puede ser la inducción de sedación, ya que esta requiere una menor dosis de ketamina, y por consiguiente probablemente se afecte menos la calidad del semen. Por todo ello, el objetivo de este trabajo fue comparar las características del semen colectado mediante EE en chivos no tratados, sedados y anestesiados.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en Octubre (primavera) con 8 chivos de Gabón (8-9 años de edad, 33,0  $\pm$  1,7 kg, media  $\pm$  error estándar) localizados en las instalaciones del Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria (35°S, Montevideo, Uruguay). Todos los animales permanecieron en ayunas 24 h antes de la colección de semen y administración de las drogas anestésicas y sedantes según el tratamiento. Tras el estudio, todos los animales se alimentaron con alfalfa de heno y tuvieron acceso libre a agua.

Se colectó semen de 8 chivos usando 3 procedimientos diferentes (EE, EE+sedación, y EE+anestesia) en un diseño de cuadrado latino. Todos los animales pasaron por los 3 procedimientos en 3 periodos diferentes, de manera que en el primer periodo el semen se colectó alternando 3 animales con EE, 3 con EE + sedación y 2 con EE + anestesia y en el resto de periodos se intercambiaron los procedimientos. Cuando el semen se colectó mediante EE (control), a los chivos no se les administró drogas. Cuando el semen se colectó bajo anestesia (EE + anestesia) se inyectó a los chivos vía intravenosa una combinación de ketamina al 5% (5 mg/kg) (Pharmaservice, Norepley SA, Montevideo, Uruguay) y xilacina al 2% (0,05 mg/kg) (Vetcross, Portinco SA, Montevideo, Uruguay). Finalmente, cuando el semen se colectó bajo sedación (EE + sedación) se administró a los chivos la misma

combinación de drogas que en el grupo de anestesia pero con ketamina al 0,5% (0,5 mg/kg). La anestesia y sedación fueron revertidas después de la EE mediante la administración intravenosa de yohimbina al 1% (0,01 mg/kg) (Reverze, Vetcross, Portinco SA, Montevideo, Uruguay).

Para llevar a cabo la EE la sonda se lubricó con carboximetil celulosa y se introdujo en el recto del animal. Todos los chivos fueron estimulados con series de 10 pulsos eléctricos aplicando un voltaje creciente a partir de 3 V hasta que los animales eyacularon. Cada pulso se aplicó durante 3 s con descansos de la misma duración.

En el semen colectado se determinó el volumen, concentración espermática, motilidad masal (escala 0-5), vigor (escala 0-5), así como el porcentaje de espermatozoides móviles y con motilidad progresiva mediante su observación bajo microscopía de contraste de fases. Además, se evaluaron la vitalidad mediante tinción con eosina/nigrosina y la integridad de la membrana de los espermatozoides mediante el test hipo-osmótico (HOST) así como el daño acrosomal y la morfología de espermatozoides fijados en glutaraldehído al 2%, usando microscopía de contraste de fases.

Los datos de calidad seminal se compararon entre los 3 procedimientos con un ANOVA incluyendo en el modelo el procedimiento como efecto fijo y el periodo y los animales como efectos aleatorios. Los datos son presentados como media  $\pm$  error estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La motilidad masal fue mayor en el semen colectado de chivos que fueron tratados previamente a la EE con anestesia y sedación que de aquellos que no fueron tratados (control) ( $P = 0.049$ ; Tabla 1). Además, hubo una tendencia en la concentración ( $P = 0.08$ ). No hubo diferencia entre los procedimientos en el resto de parámetros (Tabla 1).

Las drogas usadas para la anestesia y sedación mejoraron levemente la calidad del semen, ya que se observaron mejores resultados en motilidad masal. Esto puede ser explicado por una contracción más intensa de las glándulas sexuales accesorias, epidídimo y vaso deferente inducida por la xilacina durante la eyaculación (Knight, 1973), lo que favorece la colección del semen, y por tanto podría mejorar su calidad. La similitud de las características entre los grupos anestesia y sedación refuerzan esta interpretación, ya que ambos recibieron la misma dosis de xilacina.

En conclusión, la sedación y anestesia mejoraron levemente la calidad del semen colectado mediante EE en chivos de Gabón. Además, puede ser interesante considerar si el uso de la sedación disminuye el estrés y dolor provocado por la EE, ya que requiere la administración de una menor cantidad de fármaco (ketamina) sin que por esto se afecte la calidad del semen.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril-Sanchez, S., Freitas-de-melo, A., Damián, J.P., Giriboni, J., Villagrà-García, A., Ungerfeld, R., 2017. *Reprod. Domest. Anim.* Doi: 10.1111/rda.12922
- Bath, G., 1998. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 59, 147–156.
- Cheah, L.S., Gwee, M.C.E., Nirthanam, S., 2002. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 47, 79–85.
- Damián, J.P., Ungerfeld, R., 2011. *Reprod. Domest. Anim.* 46, 646–650.
- Kaleczyc, J., Majewski, M., Całka, J., Lakomy, M., 1993. *Folia Histochem. Cytobiol.* 31, 117–123.
- Knight, T.W., 1974. *J. Reprod. Fertil.* 40, 19–29.
- Marco-Jimenez, F., Puchades, S., Gadea, J., Vicente, J.S., Viudes-De-Castro, M.P., 2005. *Theriogenology* 64, 1756–1765.
- Mcconnell, J., Benson, S., Wood, J.O.E.G., 1982. *Brain Resear Bull.* 9, 679–694.
- Memon, M.A., Bretzlaff, K.N., Ott, R.S., 1986. *Theriogenology* 26, 823–827.
- Santiago-Moreno, J., Toledano-Díaz, A., Sookhthezary, A., Gómez-Guillamón, F., de la Vega, R.S., Pulido-Pastor, A., López-Sebastián, A., 2011. *Res. Vet. Sci.* 90, 150–155.
- Sjöstrand, N.O., 1965. *Acta Physiol. Scand.* 65, 1–81.

**Agradecimientos:** este trabajo fue financiado y realizado en la Universidad de la República, Uruguay.

**Tabla 1.** Volumen, concentración, motilidad masal, vigor, motilidad total y progresiva, integridad de la membrana (HOST), daño acrosomal y morfología de espermatozoides colectados mediante electroeyaculación (EE) en chivos sin tratamiento (control) y tratados con sedación o anestesia previamente a la colección de semen.

Variables	Procedimientos			Valor de P
	EE (Control)	EE+Sedación	EE+Anestesia	
Volumen (mL)	0,51 ± 0,08	0,46 ± 0,08	0,56 ± 0,08	NS
Concentración (10 <sup>6</sup> /mL)	989,2 ± 450,3	2649,3 ± 481,3	1733,2 ± 450,3	0,08
Motilidad masal (0-5)	1,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,5 <sup>b</sup>	2,7 ± 0,4 <sup>b</sup>	0,049
Vigor (0-5)	3,0 ± 0,3	3,5 ± 0,3	3,4 ± 0,3	NS
Motilidad total (%)	64,1 ± 5,6	67,0 ± 6,0	66,0 ± 5,6	NS
Motilidad progresiva (%)	59,7 ± 6,10	61,7 ± 6,5	61,0 ± 6,1	NS
Vitalidad (%)	71,8 ± 4,0	73,4 ± 4,2	79,3 ± 4,0	NS
HOST (%)	55,1 ± 8,1	50,2 ± 8,5	54,7 ± 8,1	NS
Daño acrosomal (%)	18,2 ± 5,0	16,3 ± 5,0	16,0 ± 5,0	NS
Morfología (%)	72,1 ± 5,8	66,7 ± 5,9	74,5 ± 5,9	NS

NS: sin diferencias significativas entre los procedimientos.

Diferentes letras indican diferencias significativas entre los procedimientos.

#### QUALITY OF SEMEN COLLECTED BY ELECTROEJACULATION IN NON-TREATED, ANESTHETIZED AND SEDATED GOAT BUCKS

**ABSTRACT:** In European Union, anesthesia should be used when semen is collected by electroejaculation because this provokes stress and pain. Drugs from anesthesia as  $\alpha_2$ -adrenergics may favor the contractions in accessory sex glands, epididymis and vas deferent improving the semen collection, and thus, sperm characteristics. However, those, in turn, may provoke erection dysfunction. Hence, the effects of anesthetic drugs on semen quality are controversial. Therefore, the aim of this study was to compare semen quality in non-treated, sedated and anesthetized Gabon bucks. Semen was collected in 8 bucks by electroejaculation with three treatments (control, sedation and anesthesia). Ejaculated volume, sperm concentration, sperm mass motility (scale 0-5), sperm vigor (scale 0-5), the percentages of motile and progressive motile sperm, of sperm vitality, of sperm with plasma membrane integrity, and with acrosome damage and morphological abnormalities were assessed. The sperm mass motility was greater in anesthetized and sedated than non-treated bucks ( $p = 0.049$ ). There was a tendency in the concentration ( $p = 0.08$ ). The rest of sperm parameters were not affected by treatments. In conclusion, sedation and anesthesia improves slightly the characteristics of semen collected by electroejaculation in goat bucks.

**Keywords:** ketamine, sperm collection, small ruminants, xylazine.

## ANÁLISIS INTEGRADO DE LA CALIDAD SEMINAL EN RUMIANTES

J.L. Yániz<sup>1</sup>, C. Soler<sup>2</sup>, C. Alquézar-Baeta<sup>3</sup>, P. Santolaria<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de investigación TECNOGAM, Instituto IUCA, Escuela Politécnica Superior de Huesca, Universidad de Zaragoza, Ctra. Cuarte S/N 22071 Huesca. [lyaniz@unizar.es](mailto:lyaniz@unizar.es)

<sup>2</sup>Departamento de biología celular, biología funcional y antropología física, Universidad de Valencia, Valencia

<sup>3</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Celular y Molecular, Instituto IUCA Universidad de Zaragoza, Zaragoza

### INTRODUCCIÓN

La capacidad predictiva del espermiograma sobre la fertilidad potencial del semen es todavía limitada (Rodríguez-Martínez, 2003; Santolaria et al., 2015), aunque puede mejorarse combinando diferentes tipos de análisis (Sellem et al., 2015; Utt, 2016). En consecuencia, la complejidad de los análisis del semen se ha incrementado progresivamente con la esperanza de mejorar las predicciones de fertilidad (Fraser et al., 2001; Yániz et al., 2008). Sin embargo, algunos de estos parámetros de calidad están altamente correlacionados, y el simple aumento del número de pruebas analíticas no siempre mejora la capacidad predictiva del espermiograma (Brito et al., 2003; Utt, 2016).

Una limitación de las pruebas de calidad *in vitro* es que los diferentes parámetros se evalúan por separado sobre la muestra en su conjunto, perdiendo la capacidad de integrar las variables. El desarrollo de métodos de análisis de calidad seminal más integradores, que permitan evaluar diferentes parámetros simultáneamente, célula a célula, podría aportar información muy valiosa para el análisis de la funcionalidad espermática. En este trabajo presentamos un nuevo test multi-paramétrico capaz de discriminar diferentes subpoblaciones de espermatozoides en base a su patrón de fluorescencia y características de motilidad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron muestras de semen congelado de 20 toros Frisones comerciales en los análisis. Las pajuelas con 0,25 ml de semen congelado se descongelaron durante 1 minuto a 37°C al baño maría y se procesaron para la evaluación de la calidad seminal. Las muestras se tiñeron con el kit ISAS@3Fun (Proiser, Paterna, España), desarrollado por el grupo de investigación TECNOGAM. En resumen, se pipetearon 40 µl de la muestra en viales de 1,5 ml, se añadieron 4 µl de la combinación fluorocromo proporcionada por el kit y se incubaron las muestras durante 5 minutos a 37°C en un baño maría. Las alícuotas de la muestra se colocaron directamente en un portaobjetos precalentado para evaluar la motilidad de las subpoblaciones espermáticas fluorescentes.

Las imágenes de los espermatozoides marcados con fluorescencia se obtuvieron utilizando un microscopio de epifluorescencia (DM4500B Leica, Wetzlar, Alemania) equipado con una base calefactada y un filtro de banda triple (filtro de banda triple B/G/R, Leica, Wetzlar, Alemania). Se utilizó una cámara CCD JenOptik ProgRes CF (JenOptik AG, Jena, Alemania) junto con el software de adquisición de imágenes Jenoptik Progress Capture Pro para la evaluación de la motilidad. La detección de las diferentes subpoblaciones fluorescentes y la evaluación de sus características de motilidad se realizó con el software ISAS® (ISAS®, Versión 1.1, PROISER, Valencia, España). Las variables de motilidad medidas incluyeron el porcentaje de espermatozoides móviles (MS,%), la velocidad curvilínea (VCL, µm / s), la velocidad rectilínea (VSL, µm / s), la velocidad de la trayectoria media (VAP, µm / s), la linealidad (LIN, VSL / VCL), la rectitud (STR, VSL / VAP), la oscilación (WOB, VAP / VCL) y la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (ALH, µm).

Para un estudio más detallado de la morfología de las subpoblaciones espermáticas fluorescentes, se obtuvieron imágenes digitales a partir de muestras inmovilizadas con formaldehído. Para ello se utilizó el mismo microscopio descrito anteriormente, equipado con un objetivo plano 63X al que se incorporó una cámara Canon Eos 400D (Canon Inc., Tokio, Japón). La cámara se controló con un ordenador utilizando el software DSLR Remote Pro (Breeze Systems, Camberley, Reino Unido).

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete SPSS, versión 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). La normalidad de la distribución y la homogeneidad de varianza se verificaron mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene, respectivamente. Como



los datos de la motilidad espermática en las muestras fluorescentes teñidas no presentaron una distribución normal, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar la motilidad, seguida de la prueba a posteriori de Mann-Whitney.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El nuevo método permitió una clara discriminación de las subpoblaciones espermáticas, basada en la integridad de la membrana plasmática y acrosomal, la motilidad y la morfología. La subpoblación con membrana plasmática y acrosoma intactos mostró una mayor proporción de espermatozoides móviles que aquellos con acrosoma dañado o una mayor intensidad de fluorescencia. Los espermatozoides con plasmalema intacto y acrosoma dañado se encontraban inmóviles o exhibían un movimiento débil.

También fue posible observar espermatozoides vivos con signos de capacitación, como una motilidad hiperactivada, cambios en la estructura acrosomal y aumento de la actividad enzimática en acrosoma y flagelo. La hiperactivación del espermatozoide y la capacidad de someterse a la reacción acrosómica son dos signos determinantes de la capacitación. Este proceso fisiológico es un requisito previo para la fecundación, pero debe tener lugar en el tracto reproductivo femenino, no durante el enfriamiento o almacenamiento del semen (Del Valle et al., 2010). Se ha sugerido que el enfriamiento del semen puede inducir la formación prematura de espermatozoides (Watson, 1995), y su magnitud puede afectar la capacidad de fecundación del semen. En consecuencia, el estudio de este parámetro puede ser de interés en semen de toro criopreservado.

El nuevo método abre la posibilidad de evaluar simultáneamente los diferentes cambios asociados a la capacitación de los espermatozoides célula a célula. Concluimos que el ISAS@3Fun es un método integrado que representa un avance en el análisis de la calidad seminal con el potencial de mejorar las predicciones de fertilidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brito, L.F.C. 2003. *Theriogenology* 60, 1539-1551.
- Del Valle, I. 2010. *Reprod. Domest. Anim.* 45, 260-268.
- Fraser, L. 2001. *Reprod. Domest. Anim.* 36, 325-329.
- Rodríguez-Martínez, H. 2003. *Reprod. Domest. Anim.* 38, 312-318.
- Santolaria, P. 2015. *Anim. Reprod. Sci.* 163, 82-88.
- Sellem, E. 2015. *Theriogenology* 84, 1447-1454.
- Utt, M.D. 2016. *Anim. Reprod. Sci.* 169, 37-44.
- Watson, P.F. 1995. *Reprod. Fertil. Dev.* 7(4), 871-891.
- Yániz, J.L. 2008. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 184-184.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado por el MINECO Español (proyecto AGL2014-52775-P), y la DGA-FSE (proyecto A40).

## INTEGRATED SPERM ANALYSIS IN RUMINANTS

**ABSTRACT:** In this work, we present a new multi-parametric fluorescent test able to discriminate different sperm subpopulations based on their labeling pattern and motility characteristics. Cryopreserved semen samples from 20 Holstein bulls were multi-parametric assessed by the ISAS@3Fun kit. The new method allows a clear discrimination of sperm subpopulations based on membrane and acrosomal integrity, motility and morphology. It was also possible to observe live spermatozoa showing signs of capacitation such as hyperactivated motility, changes in acrosomal structure and increased enzymatic activity in acrosome and flagellum. Sperm subpopulation with intact plasma membrane and acrosome showed a higher proportion of motile sperm than those with damaged acrosome or increased fluorescence intensity. Spermatozoa with intact plasmalemma and damaged acrosome were static or exhibit weak movement. We concluded that the ISAS@3Fun is an integrated method that represents an advance in sperm quality analysis with the potential to improve fertility predictions.

**Keywords:** bull, semen, sperm quality, sperm subpopulations, multi-parametric

## EFFECTOS DE LA MELATONINA SOBRE LA CAPACITACIÓN DE ESPERMATOZOIDES DE CIERVO ROJO IBÉRICO

Fernández-Alegre<sup>1</sup>, E., Álvarez-Fernández<sup>1</sup>, I., González-Hidalgo<sup>1</sup>, S., Salman<sup>1</sup>, A., y Martínez-Pastor<sup>1</sup>, F.

<sup>1</sup>INDEGSAL, Universidad de León, 24071 León, España.  
felipe.martinez@unileon.es

### INTRODUCCIÓN

La melatonina es una hormona ampliamente distribuida en los seres vivos que regula múltiples funciones fisiológicas y neuroendocrinas. Es producida principalmente y de forma circadiana por la glándula pineal (Rosa et al., 2012), aunque también es producida por otros tejidos extrapineales (Kvetnoy, 2002). La melatonina tiene un papel importante en la reproducción masculina, con influencia directa en los niveles de testosterona y la calidad espermática (Li y Zhou, 2015), e influye en las diferencias de calidad espermática entre las épocas reproductiva y no reproductiva de las especies estacionales (Palacin et al. 2008). Se ha comprobado que está relacionada con el incremento de motilidad espermática progresiva (Casao, Vega et al., 2010), disminuye los daños apoptóticos y modula la capacitación espermática (Casao, Mendoza et al., 2010). La hipótesis de una acción directa de la melatonina sobre los espermatozoides, está apoyada por la presencia de los receptores de membrana para esta hormona MT1 y MT2 en espermatozoides de varias especies animales domésticas y en ciervo (González-Arto et al., 2016). La capacitación es un proceso complejo, que implica cambios en la membrana plasmática, movimiento de calcio (Lishko et al., 2011), así como reacción acrosómica y la capacidad para fecundar el ovulo (González-Arto et al., 2014). El fin del presente estudio es comprobar la influencia directa de la melatonina sobre los principales parámetros fisiológicos de los espermatozoides de ciervo rojo ibérico (*Cervus elaphus hispanicus*) en condiciones capacitantes y no capacitantes.

### MATERIAL Y METODOS

Los reactivos generales fueron comprados a Sigma (St. Louis, MO, EE.UU.), y los fluorocromos fueron comprados a Invitrogen (Carlsbad, CA, EE.UU.). Utilizamos muestras epididimarias criopreservadas de cinco ciervos, diluidas en TALP-Hepes (sin glucosa ni heparina) a  $50 \cdot 10^6$  ml<sup>-1</sup>. El experimento está orientado a estudiar los cambios en la capacitación espermática debidos a la presencia de melatonina. Las muestras se incubaron en medio capacitante (TALP-Hepes con heparina 2 U/ml) y no capacitante (TALP-Hepes sin heparina), durante 4 h a 39 °C y 5% CO<sub>2</sub>, con melatonina (1 µM, 10 nM, 100 pM, 1 pM) y sin la hormona. Las muestras fueron analizadas antes y después de la incubación con cada tratamiento, mediante citometría de flujo. Se utilizaron las sondas YO-PRO-1 (100 nM), yoduro de propidio (IP, 3 µM), Mitotracker deep red (100 nM), Fluo4 (100 nM), PNA-FITC (1 µg/ml), merocianina 540 (2 µM), mitoSOX (1 µM), CM-H<sub>2</sub>DCFDA (5 µM) y Hoechst 33342 (5 µM), incubando 15 min a 39 °C. Para estudiar los cambios de la concentración de calcio intracelular, se incluyó un tratamiento con ionóforo de Ca<sup>2+</sup> (3 µM 10 min) para todos los tubos. El análisis se realizó con un citómetro CyAn ADP (Beckman Coulter, Brea, CA, USA), provisto de tres láser de diodo (405 nm, violeta; 488 nm, azul; 635 nm, rojo). Los datos se analizaron con el paquete estadístico R (<http://www.r-project.org>) mediante modelos lineales de efectos mixtos. Los resultados se muestran como media±e.e.m. (error estándar de la media).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados más relevantes se muestran en la Tabla 1. Tras 4 horas de incubación se observó una disminución significativa en la viabilidad espermática, (IP y YO-PRO-1). La concentración intracelular de Ca<sup>2+</sup> en los espermatozoides viables ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) se incrementó significativamente tras la incubación, independientemente de la presencia de heparina. La misma dinámica se observó tras añadir ionóforo de Ca<sup>2+</sup> (ión-[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>), aunque el aumento de Ca<sup>2+</sup> en las muestras incubadas con heparina fue menor (17,08±0,84) que en las incubadas sin heparina (19±3,78; P=0,01). La proporción de calcio celular (%[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>: [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>/ión-[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)×100 fue mayor (P<0,05) en las muestras incubadas en condiciones capacitantes (50,32%±3,6) que las incubadas sin heparina (40,66%±7,74). También se observaron diferencias en los acrosomas dañados entre las muestras con heparina (27,16%±1,5) y sin

heparina (18,69%±9,3, P<0,001). Tras incubar se detectó un aumento de los espermatozoides capacitados, siendo mayor al incubar con heparina (0,63%±1,1 antes de incubar, 2,16%±0,70 sin heparina, 2,58%±0,26 con heparina; P=0,001).

Dentro de la población espermática viable, detectamos una disminución de los niveles del ión superóxido (MitoSOX) y de las especies reactivas del oxígeno (ROS, principalmente peróxido, CM-H<sub>2</sub>DCFDA) en casi todos los tratamientos que contenían melatonina. El efecto fue más pronunciado en las concentraciones de melatonina 1 pM y 1 μM. La melatonina reduce los niveles de estrés oxidativo del medio intra y extracelular gracias a su capacidad de eliminar radicales libres (Reither et al., 2000). No obstante, es más plausible que el efecto a las concentraciones más bajas (pM) pueda deberse a la unión a los receptores de membrana MT1 y MT2, que podrían estimular vías de señalización, resultando en una menor producción de ROS. Los ROS, en concentraciones relativamente bajas, actúan como mensajeros secundarios en varios procesos fisiológicos, entre ellos la capacitación (DeLamirande y Gagnon, 1984), por lo que la modulación de sus niveles podría tener efectos sobre este proceso.

Asimismo, la melatonina podría modular la capacitación actuando sobre los niveles intracelulares de Ca<sup>2+</sup>. El calcio y el bicarbonato son moléculas clave en el inicio de la capacitación y en la reacción acrosómica del espermatozoide (Grasa et al., 2006), y en este estudio hemos detectado un posible efecto de la melatonina sobre los niveles de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> y ión-[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, principalmente de 1 pM y 1 μM, aunque no así sobre % [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>.

En paralelo con los resultados de ROS y Ca<sup>2+</sup>, la menor respuesta a la capacitación apareció en los tratamientos con 1 μM y 1 pM, mientras que, solo en la incubación con heparina, 100 pM y 10 nM incrementaron ligeramente la respuesta. En otros estudios realizados con espermatozoides de caballo, la incubación con melatonina a 1 μM presentó efectos protectores, mientras que los efectos capacitantes aparecieron con 200 pM y 50 pM (Da Silva, et al., 2011). Casao et al. (2014) observaron que la capacitación decrecía en espermatozoides de ovino a 1 μM, pero se incrementaba a 100 pM, en cierto modo de manera similar a lo observado en nuestro estudio.

En conclusión, en los espermatozoides epididimarios de ciervo rojo ibérico las concentraciones de melatonina de 1 pM y 1 μM produjeron los efectos más evidentes durante la incubación. Teniendo en cuenta estudios anteriores, es posible que los efectos en el rango pM se deban a la acción sobre los receptores de membrana, mientras que los efectos de 1 μM se deban a la acción antioxidante de la melatonina. Los efectos en las concentraciones intermedias podrían deberse a hiperestimulación de los receptores de membrana o de otros receptores, sin un efecto antioxidante directo como compensación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Casao, A., Mendoza, N., Perez-Pe, R., Grasa, P., Abecia, J. A., Forcada, F., Cebrián-Perez, J. A. & Muiño-Blanco, T. 2010. *J Pineal Res* 48:39-46. • Casao, A., Vega, S., Palacin, I., Perez-Pe, R., Lavina, A., Quintin, F. J., Sevilla, E., Abecia, J. A., Cebrián-Perez, J. A., Forcada, F. & Muiño-Blanco, T. 2010. *Reprod Domest Anim* 45:425-432. • Da Silva, C. M., Macías-García, B., Miró-Morán, A., González-Fernández, L., Morillo-Rodríguez, A., Ortega-Ferrusola, C., Gallardo-Bolaños, J. M., Stilwell, G., Tapia, J. A. & Peña, F. J. 2011. *J Pineal Res* 51(2):172-179. • DeLamirande, E. & Gagnon, C. 1984. *J Androl* 5, 269-276. • Grasa, P., Cebrian-Perez, J. A. & Muino-Blanco T. 2006. *Reproduction* 132:721-732. • González-Arto, M., Luna, C., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A. & Casao, A. 2014. *Reproduction, Fertility and Development*. • González-Arto, M., Vicente-Carrillo, A., Martínez-Pastor, F., Fernández-Alegre, E., Roca, J., Miró, J., Rigau, T., Rodríguez-Gil, J. E., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J. A. & Casao, A. 2016. *Theriogenology* 86:1958-1968. • Kvetnoy I. 2002. *Neuro Endocrinol Lett* 23(1):92-6. • Li, C. & Zhou, X. 2015. *Clin Chim Acta* 446:175-80. • Lishko, P. V., Botchkina, I. L., and Kirichok, Y. 2011. *Nature* 471:387-391. • Palacin, I., Abecia, J. A., Forcada, F., Casao, A., Cebrian, J. A., Muino, T., Palacios, C. & Pontes, J. M. 2008. *Italian J Anim Sci* 7:199-206. • Reiter, R. J., Tan, D. X., Osuna, C. & Gitto, E. 2000. *J Biomed Sci* 7:444-458. • Rosa, H. J. D., Silva, C. C. & Bryant, M. J. 2012. *Small Rumin Res* 102:197-201.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a los celadores de la Reserva de Caza de Riaño por su ayuda en la recogida de las muestras de ciervo.

**Tabla 1.** Efectos de los tratamientos según el modelo estadístico. Media del control (tiempo 0)±e.e.m. y tamaño del efecto±e.e.m. (diferencia control-tratamiento tras 4 h de incubación con y sin heparina) para los principales parámetros estudiados (excepto para ACR, en espermatozoides viables): ión superóxido, ROS, Ca<sup>2+</sup> intracelular ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>), [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> tras exposición al ionóforo (ión-[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>), %[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>/ión-[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)×100, capacitación y espermatozoides con acrosomas reaccionados o dañados (ACR). Todos los números son % excepto ROS, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> e ión-[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> (MFI, mediana de la intensidad de la fluorescencia de CM-H<sub>2</sub>DCFDA o Fluo4). Los asteriscos indican el nivel de significación de cada efecto: (\*) P<0,05; (\*\*) P<0,001.

Tratamiento/[melatonina]	Superóxido	ROS	[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub>	ión-[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub>	%[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub>	Capacitados	ACR
Control 0 M	1,07±0,22	4,5±0,42	5,02±0,90	11,62±2,18	50,28±3,53	0,62±1,12	3,44±8,52
Incubación sin heparina							
0 M	-0,17	-0,66	1,86*	7,32*	-11,85	1,52*	16,42**
1 pM	-0,44**	-0,86*	2,20*	6,82*	-3,36	0,74*	13,85*
100 pM	-0,44**	-0,62	1,92*	5,66*	-7,15	1,06*	12,95*
10 nM	-0,26**	-0,52	2,24*	7,96*	-12,86	1,18*	16,82**
1 µM	-0,42**	-0,54	2,48*	9,98*	-15,33	0,76*	16,23**
e.e.m.	± 0,17	± 0,37	± 0,66	± 2,19	± 6,95	± 0,64	± 4,99
Incubación con heparina							
0 M	-0,26	-0,70*	1,80*	5,40*	-3,87	1,94*	24,37**
1 pM	-0,61*	-0,70*	2,41*	7,52*	-4,65	1,57*	26,81**
100 pM	-0,60*	-0,64*	2,18*	5,08*	0,44	2,15*	24,84**
10 nM	-0,44	-0,70*	1,98*	5,28*	-1,83	2,14*	20,69**
1 µM	-0,52*	-0,76*	1,60*	4,04	8,58	1,80*	23,45**
e.e.m.	± 0,26	± 0,28	± 0,63	± 1,83	± 6,82	± 0,95	± 6,50

## MELATONIN EFFECTS ON CAPACITATION OF RED DEER SPERMATOZOA

**ABSTRACT:** Melatonin plays an important role in male reproduction, including sperm quality (Li y Zhou, 2015). In this study, we investigate the hypothesis that in vitro treatment with melatonin affects red deer sperm quality and capacitation. Cryopreserved samples of epididymal sperm from five deer were incubated for 4 h at 39 °C and 5% CO<sub>2</sub> in TALP-Hepes with (capacitant) and without heparin (non-capacitant) in the medium, with melatonin at 0 M, 1 pM, 100 pM, 10 nM and 1 µM. Flow cytometry showed that melatonin produced significant decreases in superoxide ion and reactive oxygen species levels, especially 1 pM and 1 µM. Incubating without heparin yielded a lower proportion of intracellular calcium (%[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, 40,66%±7,74 vs. 50,32%±3,6; P<0,05), reacted acrosomes (P<0,001) and capacitated spermatozoa (P<0,01). Melatonin (mainly 1 pM and 1 µM) affected the levels of [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> with and without ionophore treatment, but not %[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. Melatonin at 1 pM and 1 µM could reduce capacitation. This results suggest that melatonin affects deer sperm physiology not only as a direct antioxidant, but also by interacting with membrane receptors at picomolar concentrations.

**Keywords:** red deer, sperm, melatonin, capacitation.

## ADICIÓN DE N- ACETILCISTEÍNA AL MEDIO DE CONGELACIÓN SEMINAL DE SEMENTALES PURA SANGRE LUSITANO

Matilla E<sup>1</sup>, González-Fernández L<sup>2</sup>, Antunes L<sup>3</sup>, Bettencourt E<sup>3</sup> Macías-García B<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón Ctra N 521 Km 41,8. Cáceres. España  
E-mail del autor responsable [ematilla@ccmijesususon.com](mailto:ematilla@ccmijesususon.com)

<sup>2</sup>Grupo de Investigación Señalización Intracelular y Tecnología de la Reproducción (SINTREP) Universidad de Extremadura, Cáceres. España

<sup>3</sup>Instituto de Investigação e Formação Avançada da Universidade de Évora, Portugal

### INTRODUCCIÓN

Debido al alto contenido de ácidos grasos insaturados, los espermatozoides equinos son propensos a la oxidación (Macías-García et al., 2011). El desequilibrio en el balance oxidativo se traduce en la producción en exceso de especies reactivas de oxígeno (EROS) (Gavella y Lipovac, 1992) que dañan la membrana plasmática, disminuyendo la motilidad y la capacidad de fecundante del espermatozoide (Aitken y baker, 2004). Estudios anteriores han probado que la adición de antioxidantes como el ácido ascórbico o la catalasa han mantenido la integridad de la membrana y la motilidad de los espermatozoides (Aurich et al., 1997; Bruemmer et al., 2002). El antioxidante n-acetil cisteína disminuye las eros formadas por el estrés oxidativo pudiendo prevenir el daño en la membrana plasmática (Bilodeau et al., 2001; Baker et al., 1996). El objetivo del estudio fue evaluar los efectos de distintas concentraciones de N-acetilcisteína añadidas al medio de congelación de semen equino de baja calidad en la motilidad total y progresiva así como en la producción de eros post-descongelación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 4 caballos pura raza Lusitano con menos de un 50% de motilidad antes de la congelación fueron utilizados en el estudio. El semen se extrajo utilizando una vagina artificial. El eyaculado se centrifugó a 600 g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Tras la eliminación de sobrenadante, se adicionó INRA 96® calculando la concentración mediante cámara Neubauer. Tras una segunda centrifugación a 600g durante 10 minutos, se añadió el medio de congelación (2,5% (v/v) dimetilformamida (DMF), 2,5% glicerol (v/v) y 2% de yema de huevo en INRA 96®) hasta alcanzar una concentración de  $200 \times 10^6$  spz/ml. Se establecieron tres grupos de estudio: grupo control sin adición de NAC y dos grupos de tratamiento (1mM o 2,5 mM de NAC). Las pajuelas utilizadas fueron de 0,5 ml selladas mediante bolas de cristal. Tras 1 hora de refrigeración a 4°C y 20 minutos en vapores de nitrógeno, el semen fue almacenado en tanques de nitrógeno líquido un mínimo de 7 días antes de su análisis. La descongelación se realizó a 37°C durante 1 minuto. Todas las muestras fueron examinadas utilizando un sistema computerizado de análisis de semen. El análisis se basó en el examen de imágenes consecutivas digitalizadas valorando la motilidad total y progresiva. Los espermatozoides marcados por la sonda de fluorescencia mitosox se analizaron mediante citometría de flujo. Los resultados fueron expresados mediante el porcentaje positivo de espermatozoides produciendo ros. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Sigma Plot versión 12.3 para windows (Systat software, Chicago, IL, EE.UU.) los datos se sometieron a prueba de normalidad usando un test de Shapiro-Wilk y los resultados obtenidos se expresaron como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM). Los grupos se compararon utilizando un Anova de una vía.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se observa una leve tendencia de mejora de motilidad total, progresiva y disminución de ros tras la adición del antioxidante, aunque las diferencias no fueron significativas. La suplementación a concentración 1 mM obtuvo mejores resultados que 2,5 mM para todos los resultados analizados (Tabla 1). Los efectos positivos de los antioxidantes dependen del medio de congelación utilizado, del antioxidante y la concentración utilizada. El alto valor genético de algunos ejemplares conlleva a la necesidad de congelación de sus eyaculados aunque la motilidad inicial no sea elevada. Son

necesarios más estudios sobre la suplementación del antioxidante NAC al medio de congelación de semen de sementales lusitanos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- García BM, Fernández LG, Ferrusola CO, Salazar-Sandoval C, Rodríguez AM, Martínez HR, Tapia JA, Morcuende D, Peña FJ. *Reprod Domest Anim.* 2011 Feb;46(1):141-8.
- Kodama, H., Y. Kurbayashi, and C. Gagnon, 1996. *J. Androl.* 17, 151–157.
- Gavella, M., and V. Lipovac, 1992. *Arch. Androl.* 28, 135–141.
- Aitken, R. J., and M. A. Baker, 2004. *Reprod. Fertil. Dev.* 16, 581–588.
- Aurich, J. E., U. Schonherr, H. Hoppe, and C. Aurich, 1997. *Theriogenology* 48, 185–192.
- Bruemmer, J. E., R. C. Coy, E. L. Squires, and J. K. Graham, 2002. *J. Anim. Sci.* 80, 12–18.
- Baker HWG, Brindle J, Irvine DS, Aitken RJ. *Fertil Steril* 1996;65: 411–9.
- Bilodeau JF, Blanchette S, Gagnon C, Sirard MA. *Theriogenology* 2001;56:275–86.

**Agradecimientos:** Agradecemos a todo el equipo de Alter Real (Portugal) su disponibilidad y trabajo desinteresado.

**Tabla 1.** Motilidad total y progresiva de semen descongelado de caballo Lusitano. Los valores representan las medias  $\pm$  SEM para motilidad total (MT), motilidad progresiva (MP) y porcentaje de producción de ROS (ROS+).

TRATAMIENTO	N	MT	MP	ROS+
0 mM	4	19,3 $\pm$ 8,6	3,4 $\pm$ 1,7	77,7 $\pm$ 6,6
1 mM	4	24,7 $\pm$ 7,9	6,6 $\pm$ 3,3	72,6 $\pm$ 8,3
2,5 mM	4	21,7 $\pm$ 8,5	4,6 $\pm$ 2,3	74,8 $\pm$ 6,7

### EFFECTS OF N-ACETYLCYSTEINE ADDITION TO PURO SANGUE LUSITANO STALLION SPERM FREEZING EXTENDER

#### ABSTRACT

Loss of sperm motility and fertilizing ability in frozen equine sperm has been partially attributed to lipid peroxidation of the plasma membrane due to reactive oxygen species (ROS) overproduction. In the horse, addition of anti-oxidants to freezing extenders has resulted in improved maintenance of membrane integrity and motility post-thaw. In this study, we have determined the effect of the addition of N-acetylcysteine or NAC (a ROS scavenger) at different concentrations (0 mM, 1 mM or 2.5 mM) to a semi-defined sperm freezing extender (INRA 96® added with 2.5% (v/v) dimethylformamide, 2.5% (v/v) glycerol and 2% egg yolk (v/v)). Ejaculates of 4 Puro Sangue Lusitano stallions with less than 50% motile sperm before freezing were selected. Total motility and ROS production were evaluated. Our results shows a slight improvement of progressive (3.4  $\pm$  1.7, 6.6  $\pm$  3.3 and 4.6  $\pm$  2.3; control, 1 mM and 2 mM NAC respectively) and total motility (19.3  $\pm$  8.6, 24.7  $\pm$  7.9 and 21.7  $\pm$  8.5 control, 1 mM and 2 mM NAC respectively) and less ROS production (77.7  $\pm$  6.6 vs. 72.6  $\pm$  8.3 and 74.8  $\pm$  6.7 control, 1 mM and 2 mM NAC respectively) when NAC was added but differences were not statistically significant. Besides, supplementation of the freezing extender with 1 mM NAC seems to yield better results than 2.5 mM. More studies are need to fully elucidate the effect of NAC addition to equine sperm freezing media.

**Keywords:** Antioxidant, freezing extender, N-acetylcysteine, stallion

## INFLUENCIA RACIAL Y DEL PLASMA SEMINAL EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN DE GALLOS (*Gallus gallus domesticus*)

C. Castaño<sup>1</sup>, S. Romo<sup>1,3</sup>, A. Toledano-Díaz<sup>1</sup>, M.G. Gil<sup>2</sup>, M.C. Estesó<sup>1</sup>, A. López.-Sebastián<sup>1</sup>, J. Santiago-Moreno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Reproducción Animal, INIA. Avd. Puerta de Hierro s/n. Km 5,9. 28040 Madrid. España

<sup>2</sup>Dpto. Mejora Genética Animal, INIA. Avd Puerta de Hierro s/n. Km 7,5, 28040 Madrid.

<sup>3</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM. México, [cristina.castano@inia.es](mailto:cristina.castano@inia.es)

### INTRODUCCIÓN

El plasma seminal presenta componentes nutritivos y con propiedades tampón, que neutralizan diferentes productos finales del metabolismo de los espermatozoides (Etches, 1996), además de tener un papel importante en la funcionalidad y fertilidad del esperma. A diferencia del plasma seminal en mamíferos, donde existen varios estudios describiendo las distintas proteínas del mismo (Novak et al. 2010; Starita-Geribaldi et al. 2001), en aves son escasos los trabajos que describen los componentes del plasma seminal (Marzoni et al. 2013; Al-Aghbari et al. 1992), habiendo importantes incógnitas en cuanto a su total composición y su función. Por otra parte, se sabe que en el plasma seminal pueden existir factores estimuladores de la motilidad (Ashizawat and Wishart, 1987); puede ser hipotetizado que variaciones en las características del plasma seminal sean claves en diferencias raciales de los parámetros de motilidad (Prieto et al. 2011). Por otro lado, en mamíferos, se ha apuntado la existencia de componentes del plasma seminal que pueden favorecer (Caballero et al., 2012) o afectar negativamente (Coloma et al. 2009) a la criopreservación espermática. En gallos, la influencia del plasma seminal en la criopreservación seminal no ha sido previamente establecida, aunque se han descrito posibles efectos negativos, in vitro, del plasma seminal sobre los fosfolípidos de la membrana del espermatozoide en semen refrigerado de pavo (Douard et al. 2003). El objeto del presente trabajo fue evaluar la influencia del componente racial y de la presencia de plasma seminal en la viabilidad espermática durante el proceso de congelación-descongelación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 120 gallos (12 por raza) de 1 año de edad, de las razas autóctonas españolas: Española Cara Blanca, Andaluza Azul, Castellana Negra, Andaluza Perdiz, Castellana Codorniz, Castellana Silver, Prat Leonado, Prat Blanca, Franciscana, Pardo de León, Vasca Roja Barrada y Villafranguina Roja, pertenecientes al Programa de Conservación de Gallinas del INIA. Los gallos se mantenían en condiciones climáticas y de fotoperiodo natural. La alimentación consistía en una dieta comercial que contenía 16% proteína cruda, 2700 kcal energía metabolizable/kg, 3,5% Ca y 0,5% P disponible. Durante un periodo de 6 meses (junio a noviembre), dos veces por semana, se recogieron muestras de semen obteniendo un pool de cada raza mediante masaje abdominal (Burrows y Quinn, 1937). Las muestras se diluyeron 1:1 (vol:vol) a temperatura ambiente con medio de conservación Lake-Ravie (Lake and Ravie, 1984) y conservadas a 5°C durante 45 min. hasta el análisis. Se evaluó la viabilidad espermática mediante microscopía de fluorescencia con yoduro de propidio y SYBR-14 (Chalah y Brillard, 1998). Una vez realizado el test de viabilidad, cada pool se dividía en dos alícuotas; una de ellas se congelaba con el plasma seminal, y la otra alícuota se sometía a un lavado con el diluyente Lake-Centri a 600g durante 10 min (Abouelezz et al., 2015) para retirar el plasma seminal, antes de la congelación. La congelación se realizó utilizando glicerol como crioprotector y envasado en pajuelas, según la técnica descrita por Khaled et al. (2015). Tras la descongelación a 5°C durante 3 min. se volvió a evaluar el porcentaje de espermatozoides viables. La influencia del componente racial y de la presencia del plasma seminal en la viabilidad espermática se analizó mediante ANOVA y t-test. Para evitar la influencia del efecto del lavado seminal, en el análisis

estadístico se incluyó la diferencia entre los valores de viabilidad en fresco/centrifugado y tras la descongelación.

### RESULTADOS Y DISCUSION

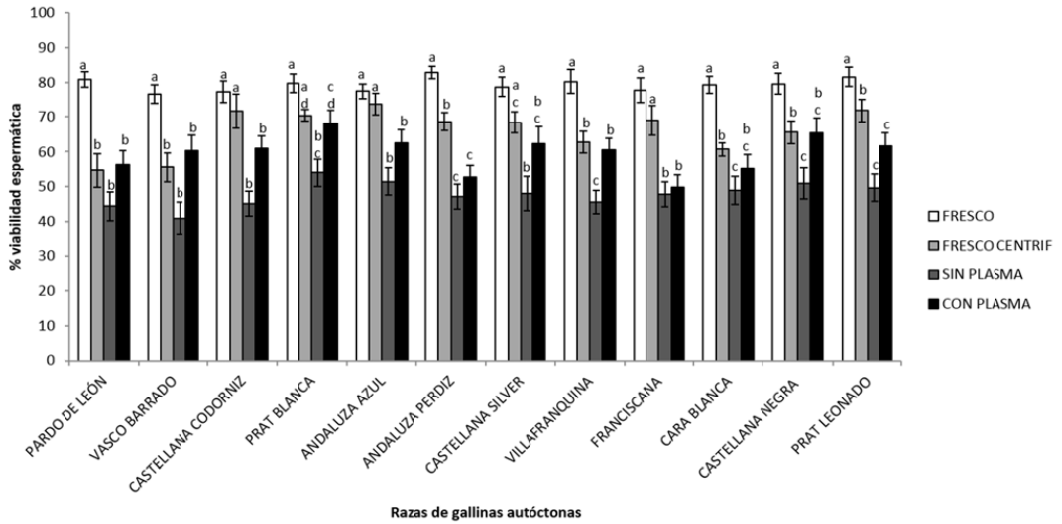
En semen fresco no existían diferencias significativas en la viabilidad espermática entre las diferentes razas. Los valores de viabilidad a la descongelación, en las muestras congeladas con plasma, fueron mayores ( $P < 0,05$ ) en todas las razas con respecto a las muestras sin plasma (Figura 1). Este resultado se pudo deber a que la centrifugación determinó una alteración en los parámetros de viabilidad. La respuesta a la congelación, en muestras sin plasma seminal, no mostró un efecto del componente racial. Sin embargo, en las muestras con plasma seminal se detectó una influencia de la raza ( $P < 0,05$ ), siendo la que mejor respondía a la congelación la Prat Blanca, frente al Pardo de León, Andaluza Perdiz, Franciscana y Española Cara Blanca. En el otro extremo, la raza que respondió peor a la congelación, con presencia de plasma seminal, fue la Andaluza Perdiz ( $P < 0,05$ ) con respecto al Pardo de León, Castellana Codorniz, Franciscana y Castellana Negra. Los resultados sugieren una influencia del plasma seminal, variable según la raza, en la viabilidad espermática tras el proceso de congelación-descongelación, mejorando la viabilidad espermática en el caso de la Prat Blanca y produciendo un efecto negativo en la Andaluza Perdiz.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Aghbari A., Engel, Harold N., JR, Froman, DP. 1992. *Biology of Reproduction* 47: 1059-1063 • Burrows, WH., Quinn, JP. 1937. *Poult. Sci.* 16: 19-24 • Caballero, I. Parrila, I., Almiñana, C., del Olmo D., Roca, J., Martinez, EA., Vázquez, JM., 2012. *Reprod Dom Anim* 47: 12-21 • Chalah, T., Brillard, JP, 1998. *Theriogenology* 50: 487-493 • Etches, R.J., 1996. *Cab International, Wallingford*; 1996: 221-246 • Abouelezz, FMK., Castaño, C., Toledano-Díaz, A., Esteso, MC., López-Sebastián, A., Campo, JL., Santiago-Moreno, J. 2015. *Reprod Dom Anim* 50: 135-141 • Coloma, MA., Toledano-Díaz, A., López-Sebastián, A., Santiago-Moreno, J. 2010. *Theriogenology* 73: 900-908 • Prieto, MT., Campo, JL., Santiago-Moreno, J. 2011. *Poult. Sci.* 90: 2845-2854 • Marzoni, M., Castillo, A., Sagona, S., Citi, L., Rocchiccioli, S., Romboli, I., Felicioli, A. 2013. *Animal Reproduction Science* 140: 216-223 • Novak, S., Ruiz-Sanchez, A., Dixon, WT., Foxcroft, GR., Dyck, MK., 2010. *J. Androl.* 31: 188-200 • Starita-Geribaldi, M., Poggioli, S., Zucchini, M., Garin, J., Chevallier, D., Fenichel, P., Pointis, G., 2001. *Mol. Hum. Reprod.* 7: 715-722 • Douard, V., Hermier, D., Labbe, C., Maagistrini, M., Blesbois, E. 2005. *Theriogenology* 63: 126-137 • Ashizawat, K., Wishart, G.J. 1987. *J. Reprod. Fert.* 81: 495-499 • Lake, PE., Ravie O., 1984. *Br Poult Sci* 25: 145-150.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto europeo 677353 IMAGE-H2020





**Figura 1.** Porcentaje de viabilidad espermática en el semen fresco, fresco centrifugado, congelado/descongelado sin plasma seminal, y congelado/descongelado con plasma seminal, en las diferentes razas autóctonas de gallos. Diferentes letras (a-d) entre columnas para cada raza indica diferencias significativas para  $P < 0,05$ .

## INFLUENCE OF BREED AND SEMINAL PLASMA ON CRIOPRESERVATION OF ROOSTER (*Gallus gallus domesticus*) SPERM

**ABSTRACT** It is not well known the role of seminal plasma on freezing-thawing process in roosters (*Gallus gallus domesticus*). The aims of the present study were conducted to evaluate the influence of breed and the presence of seminal plasma on sperm viability of fresh and frozen-thawed sperm. We used pool semen samples from 12 Spanish chicken breeds (Black-Barred Andaluza, Black-Red Andaluza, Blue Andaluza, Black Castellana, Buff Prat, White Prat, Red-Barred Vasca, Red Villafranquina, Birchen, Leonesa, White-Faced Spanish, Quail Castellana and Quail Silver Castellana). Sperm viability was assessed by Propidium iodide and SYBR-14 as fluorochromes. Ours findings didn't reveal significant differences in fresh sperm viability among breeds. There weren't differences among breeds in freezing-thawing response of samples without seminal plasma. Sperm samples with seminal plasma returned highest viability data in White Prat. In contrast, the presence of seminal plasma returned lowest results in Black-Red Andaluza.

**Keywords:** Rooster, seminal plasma, cryopreservation, sperm viability



# *Genética*



## IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS Y REDES GÉNICAS IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DEL METABOLISMO LIPÍDICO EN HÍGADO Y EN LA DETERMINACIÓN DE CARACTERES DE CALIDAD DE LA CARNE EN CERDO

Ballester<sup>1</sup>, M., Ramayo-Caldas<sup>1</sup>, Y., Revilla<sup>2,3</sup>, M., Corominas<sup>2,3</sup>, J., Castelló<sup>2,3</sup>, A., Estellé<sup>4</sup>, J., Fernández<sup>5</sup>, A.I. y Folch<sup>2,3</sup>, J.M.

<sup>1</sup>IRTA, Genètica i Millora Animal, Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España.

<sup>2</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Campus UAB, Bellaterra, 08193, España. <sup>3</sup>Plant and Animal Genomics, Centre de Recerca en Agrigenòmica (Consorci CSIC-IRTA-UAB-UB), Edifici CRAG, Campus UAB, Bellaterra, 08193, España. <sup>4</sup>Génétique Animale et Biologie Intégrative, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350, Jouy-en-Josas, Francia. <sup>5</sup>Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. de la Coruña km. 7, 28040, Madrid, España  
maria.ballester@irta.cat

### INTRODUCCIÓN

La composición de ácidos grasos de la grasa subcutánea e intramuscular son caracteres de gran importancia para la industria alimentaria debido a su efecto directo sobre la calidad de la carne (Wood et al., 2008). Además, durante los últimos años, han adquirido una mayor relevancia debido a su impacto sobre la salud humana (Lorgeril y Salen, 2012). Se trata de caracteres complejos, determinados por factores ambientales, como la dieta, y múltiples factores genéticos. En los últimos años, el uso de nuevas aproximaciones como la detección de *quantitative trait loci* asociados con los niveles de expresión génica (eQTLs) ha permitido la identificación de redes de regulación génica y ha evidenciado como la variación de estas redes explica mejor los mecanismos funcionales implicados en los caracteres complejos (Schadt et al., 2008). Estas aproximaciones unidas a los análisis de redes de co-expresión génica se han convertido en herramientas importantes para profundizar en el estudio de la arquitectura genética de los caracteres complejos (Villa-Vialaneix et al., 2013).

Uno de los principales órganos implicados en el metabolismo lipídico es el hígado. En cerdos, el hígado está implicado en la síntesis y secreción de lipoproteínas, en la síntesis *de novo* del colesterol, en la oxidación de los ácidos grasos y junto con el tejido adiposo, pero en menor grado, en la síntesis *de novo* de los ácidos grasos. Un estudio en el retrocruce BC1\_LD (25% Ibérico, 75% Landrace) ha identificado genes diferencialmente expresados en el transcriptoma de hígado de cerdos con fenotipos extremos para la composición de ácidos grasos en grasa intramuscular (Ramayo-Caldas et al., 2012a). En esta misma población se han identificado mediante GWAS regiones genómicas asociadas con la composición intramuscular de ácidos grasos (Ramayo-Caldas et al., 2012b). El presente trabajo tiene como objetivo profundizar en el estudio de genes y rutas reguladoras en hígado que puedan estar implicados en la determinación de caracteres de calidad de la carne en el BC1\_LD. Para ello se han seleccionado 44 genes candidatos relacionados con el metabolismo lipídico y se ha analizado su expresión en hígado con el fin de realizar análisis de eGWAS y de redes de co-expresión.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Material animal y genotipado:** El material utilizado en este trabajo procede de un cruce entre 3 machos Ibéricos (Guadyerbas) con 31 hembras Landrace (Pérez-Enciso et al., 2000). En este trabajo se han analizado 111 animales pertenecientes al retrocruce BC1\_LD obtenido del cruce de cinco machos de la generación F1 con 26 hembras Landrace. Se recogieron muestras del hígado de estos animales que fueron congeladas con nitrógeno líquido y almacenadas a -80°C. Se genotiparon los animales con el *Porcine SNP60K BeadChip* (Illumina) y se eliminaron aquellos SNPs que no pasaron los controles de calidad estándar y con frecuencia alélica mínima (MAF) < 5%.

**Extracción de ARN y análisis de la expresión génica:** Se aisló el ARN total a partir de muestras de hígado de 111 animales utilizando el kit *RiboPure™* (Ambion). El ARN total se cuantificó en un espectrofotómetro *NanoDrop ND-1000* (*NanoDrop*) y fue convertido a ADNC utilizando el kit *High-Capacity cDNA Reverse Transcription* (*Applied Biosystems*). El estudio de expresión se realizó utilizando el chip *Dynamic Array 48.48* (*Fluidigm*) en un sistema *BioMark* (*Fluidigm*). Se analizaron los niveles de expresión de 48 genes, 44 genes diana y 4 genes de referencia. Los datos fueron normalizados utilizando los dos genes endógenos

más estables, *ACTB* y *TBP*. Los datos de expresión fueron analizados con el programa *DAG Expression* (Ballester et al., 2013). Se comprobó la normalidad de los datos mediante el test *Shapiro-Wilk* de R (<http://R-project.org>) y se normalizó la expresión de aquellos genes que no presentaban una distribución normal aplicando el log2 de los valores de RQ.

**Análisis de asociación de los genotipos con los valores de expresión:** El análisis se realizó mediante el programa *Qxpack 5.0* (Pérez-Enciso y Misztal, 2011) con el modelo:

$$y_{ijk} = \text{Sexo}_i + \text{Lote}_j + \lambda_{ik} a_k + u_i + e_{ijk},$$

Donde:  $y_{ijk}$  es el valor fenotípico de cada individuo;  $\text{Sexo}_i$  y  $\text{Lote}_j$  son los efectos fijos (con 2 y 5 niveles, respectivamente);  $\lambda_{ik}$  corresponde al genotipo del SNP  $k$  para el individuo  $i$ ; siendo  $\lambda = -1(\text{aa}), 0(\text{Aa}), +1(\text{AA})$ ;  $a_k$  es el efecto aditivo de sustitución alélica del SNP  $k$ ;  $u_i$  el efecto infinitesimal con distribución  $N(0, A\sigma_u)$  donde  $A$  es la matriz de parentesco y  $\sigma_u$  la varianza genética aditiva; y  $e_{ijk}$  es el residuo.

La corrección de los p-valores se realizó con la librería de R *q-value* (Storey y Tibshirani, 2003) considerando como significativos aquellos valores con un q-valor  $< 0,05$ .

**Anotación génica, clasificación funcional y análisis de redes génicas:** Los intervalos de los eQTLs se definieron como  $\pm 1$  Mb de los SNPs más significativos y se anotaron mediante la herramienta *BioMart* de Ensembl (<http://www.ensembl.org>) utilizando la última versión del genoma de referencia porcino *Sscrofa10.2*. Los eSNPs identificados fueron clasificados como *cis* cuando se encontraban a una distancia menor o igual de 1 Mb del gen analizado y *trans* los situados a una distancia superior a 1 Mb. Para el análisis de redes génicas se utilizó el programa *IPA* (Ingenuity Systems).

**Análisis funcional y de co-expresión:** El análisis de co-expresión se realizó utilizando el algoritmo *PCIT* (Reverter y Chan, 2008). La red génica resultante fue visualizada con el programa *Cytoscape* (Shannon et al., 2003).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el presente trabajo se seleccionaron un total de 44 genes candidatos relacionados con el metabolismo lipídico teniendo en cuenta trabajos anteriores del BC1\_LD y/o identificados por otros autores mediante búsqueda bibliográfica. Con los valores de expresión de los genes analizados en 111 animales pertenecientes al retrocruce BC1\_LD se realizó un estudio de asociación genómico utilizando un total de 40.502 SNPs que pasaron el control de calidad.

Se detectaron un total de 92 eSNPs significativos localizados en siete regiones cromosómicas en SSC2, SSC3, SSC4, SSC8 y SSC13, para un total de ocho genes: *CROT*, *CYP2U1*, *DGAT1*, *EGF*, *FABP1*, *FABP5*, *PLA2G12A* y *PPARA*. La mayoría de los eQTLs se identificaron en *trans* (5 de 7), mientras que la expresión de los genes *FABP1* y *FABP5* se asoció con dos eQTLs en *cis*, sugiriendo la presencia de una mutación en el mismo gen afectando directamente a su expresión. Además, se identificaron dos regiones *hotspot* en el SSC8 (8:86-88 Mb y 8:116-123 Mb) asociados en *trans* con la expresión de los genes *CYP2U1* y *PPARA*; y *DGAT1*, *EGF* y *PPARA*, respectivamente. El análisis de esta región a nivel cromosómico mostró que la expresión de los genes *DGAT1* y *HADH* también estaba asociada con el *hotspot* a 86-88 Mb y la expresión de los genes *AGPAT2*, *APOB*, *CYP2U1*, *ESRRA* y *HADH* con el *hotspot* de la región 116-123 Mb. Cabe resaltar que ambas regiones han sido previamente asociadas con la composición de ácidos grasos en grasa intramuscular en *Longissimus dorsi* en un análisis GWAS realizado en el mismo BC1\_LD (Ramayo-Caldas et al., 2012b). Con el fin de estudiar el patrón de co-expresión de los genes regulados por los mismos *hotspots*, se construyó una red génica de co-expresión con el algoritmo *PCIT*, obteniéndose correlaciones positivas ( $r=0.24-0.77$ ) entre los genes regulados por el mismo eQTL (Figura 1), lo que sugiere una regulación común.

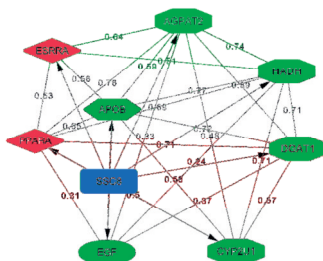
La anotación de los intervalos de eQTLs permitió la identificación de genes candidatos implicados en la regulación de los fenotipos de expresión analizados. Destacar el gen *PIK3CA*, un mediador clave en la regulación del metabolismo lipídico a través de la ruta Akt/PKB (Sopasakis et al., 2010), como gen candidato a explicar la variación de los niveles de expresión del gen *CROT*. El gen *NR3C1*, un receptor nuclear que puede activar la transcripción uniéndose directamente a los promotores de genes implicados en el metabolismo lipídico y de la glucosa (Ratman et al., 2013), como gen candidato a regular el gen *PLA2G12A*. Para la región *hotspot* a 86-88 Mb del SSC8 no se detectó ningún gen

relevante que pudiese regular la expresión de los genes asociados. No obstante, en la región *hotspot* a 116-123 Mb del SSC8, tres SNPs del gen *TBCK* estaban asociados en *trans* con la expresión de todos los genes exceptuando el *CYP2U1*, *EGF* y *HADH*. El estudio de Liu et al. (2013) muestra como la inhibición de este gen altera la ruta de señalización mTOR, la cual interviene en la regulación de la homeostasis lipídica controlando factores de transcripción clave del metabolismo lipídico como el *PPARA* y el *SREBF1*. Los resultados obtenidos incrementan nuestro conocimiento sobre los mecanismos reguladores implicados en el metabolismo lipídico y proporcionan nuevos conocimientos sobre los mecanismos moleculares implicados en los caracteres lipídicos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ballester, M. 2013. PLoS One 8: e80385.
- Liu, Y. 2013. PLoS One 8: e71349.
- Lorgeril, M.D. 2012. BMC Med. 10: 50.
- Mackay, T.F.C. 2009. Nat. Rev. Genet. 10: 565-77.
- Pérez-Enciso, M. 2000. J. Anim. Sci. 78: 2525-31.
- Pérez-Enciso, M. 2011. BMC Bioinformatics 12: 202.
- Ramayo-Caldas, Y. 2012a. BMC Genomics 13: 547.
- Ramayo-Caldas, Y. 2012b. J. Anim. Sci. 90: 2883-93.
- Ratman, D. 2013. Mol. Cell. Endocrinol. 380: 41-54.
- Reverter, A. 2008. Bioinformatics 24: 2491-7.
- Schadt, E.E. 2008. PLoS Biol. 6: 1020-32.
- Shannon, P. 2003. Genome Res. 13: 2498-504.
- Sopasakis, V.R. 2010. Cell Metab. 11: 220-30.
- Storey, J.D. 2003. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100: 9440-5.
- Villa-Vialaneix, N. 2013. PLoS One 8: e60045.
- Wood, J.D. 2008. Meat Sci. 78: 343-58.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por los proyectos MINECO AGL2011-29821-C02 y AGL2014-56369-C2. El material animal fue generado en el contexto del proyecto INIA CPE03-010-C3 con la colaboración de investigadores del INIA, IRTA y UAB. M. Ballester está financiada con un contrato Ramón y Cajal (RYC-2013-12573) del MINECO. M. Revilla está financiado con una beca FI-DGR de la Generalitat de Catalunya (ECO/1639/2013).



**Figura 1.** Red de co-expresión de los genes asociados con los hotspots del SSC8.

### IDENTIFICATION OF DNA VARIANTS AND MOLECULAR PATHWAYS IMPLICATED IN THE FUNCTIONAL REGULATORY MECHANISMS OF MEAT QUALITY TRAITS IN PIGS

**ABSTRACT:** In the present study, liver co-expression networks and expression Genome Wide Association Study (eGWAS) were performed to identify DNA variants and molecular pathways implicated in the functional regulatory mechanisms of meat quality traits in pigs. With this purpose, the liver mRNA expression of 44 candidate genes related with lipid metabolism was analyzed in 111 Iberian x Landrace backcross animals. The eGWAS identified 92 eSNPs located in seven chromosomal regions and associated with eight genes: *CROT*, *CYP2U1*, *DGAT1*, *EGF*, *FABP1*, *FABP5*, *PLA2G12A* and *PPARA*. Furthermore, a hotspot on SSC8 associated with the gene expression of eight genes was identified and the *TBCK* gene was pointed out as candidate gene regulating it. Our results also suggested that the PI3K-Akt-mTOR pathway plays an important role in the control of the analyzed genes highlighting nuclear receptors as the *NR3C1* or *PPARA*. We provide a list of DNA variants, candidate genes and networks that increase our knowledge of the genetic architecture underlying fat composition traits.

**Keywords:** co-expression, liver, hotspot, eGWAS

## ANÁLISIS DEL TRANSCRIPTOMA MUSCULAR DE CERDOS IBÉRICOS PROCEDENTES DE UN CRUCE DIALÉLICO COMPLETO RETINTO × TORBISCAL

Pena<sup>1</sup>, R.N., Ibáñez-Escriche<sup>2,3</sup>, N., Magallón<sup>4</sup>, E., Gonzalez<sup>5</sup>, E., Tejada<sup>5</sup>, J.F. y Noguera<sup>2</sup>, J.L.

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida-Agrotecnio Center, Lleida. <sup>2</sup>IRTA, Genètica i Milllora Animal, Lleida. <sup>3</sup>The Roslin Institute, Edinburgh University, UK. <sup>4</sup>INGA FOOD S.A. C/ Balears SN, Casetas, Zaragoza. <sup>5</sup>Tecnología de los Alimentos, Universidad de Extremadura. romi.pena@ca.udl.cat

### INTRODUCCIÓN

La deposición de altos niveles de grasa intramuscular, particularmente rica en ácido oleico, es característica del cerdo ibérico. Estos dos parámetros, que definen en gran parte la alta calidad de sus productos curados (López-Bote, 1998), presentan gran variabilidad entre las estirpes que componen la población de cerdo ibérico (Juárez et al., 2009; Ibáñez-Escriche et al., 2016a). En un experimento previo se realizó un cruce dialélico completo entre las estirpes Retinto, Entrepelado y Torbiscal, reconocidas en el libro genealógico de la raza gestionado por la Asociación Española de Cerdo Ibérico (AECERIBER). Con este material, se realizó un estudio de asociación del genoma completo (GWAS) que permitió identificar varias regiones genómicas asociadas al contenido de ácido oleico y de ácidos grasos monoinsaturados en músculo (Ibáñez-Escriche et al., 2016b), algunas de ellas específicas de una estirpe. El objetivo del presente trabajo es complementar estos resultados con información de expresión diferencial de genes en tejido muscular, analizada por secuenciación masiva del transcriptoma, y utilizar estos datos para describir nuevas mutaciones específicas del cerdo ibérico y/o de cada estirpe.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Diseño experimental.** Los animales usados en este estudio proceden del experimento dialélico completo (3 × 3) de la empresa Inga Food S.A. Para este estudio se utilizarán únicamente dos de las estirpes de ibérico (Retinto: RR y Torbiscal: TT) y sus cruces recíprocos. Durante el experimento, los animales fueron criados en condiciones intensivas comerciales. Los animales fueron engordados “ad libitum” y sacrificados en un matadero comercial con una edad media de 340 días (~160 kg), momento en el que se obtuvo una muestra del músculo *longissimus thoracis* (LT). En este tejido se determinó el % de grasa intramuscular (GIM) y el % de ácidos grasos Saturados (SFA), Monoinsaturados (MUFA) y Poliinsaturados (PUFA) (Ibáñez-Escriche et al., 2016a).

**Secuenciación del transcriptoma.** Se extrajo ARN total mediante el kit *RiboPure* (Ambion, LifeTechnologies) de un subgrupo de 28 muestras de LT, correspondiente a 7 cerdos de cada tipo de cruce (RR, TT, RT y TR). Se comprobó la calidad del ARN mediante electroforesis en un 2100 *Bioanalyzer* (Agilent) y se secuenció por una aproximación de RNA-seq en una plataforma *Illumina HiSeq 2500* con lecturas pareadas de una longitud de 100 pb. Se utilizó el programa *fastqc* para analizar la calidad de las lecturas, que fueron posteriormente alineadas usando el genoma de referencia porcino (*Sscrofa10.2*) con la herramienta *Tophat2 v2.1.0*. El ensamblaje e identificación de nuevos genes o isoformas fue realizada mediante inferencia bayesiana con *Cufflinks v2.2.1*.

**Análisis de expresión diferencial.** El proceso de cuantificación génica fue realizado por el método *cufflinks*. Para el estudio de expresión diferencial, se utilizó el algoritmo propuesto por *cuffdiff* utilizando una distribución binomial negativa para la determinación de la significación estadística. Se consideró gen e isoforma diferencialmente expresado (DE) aquel que presenta un valor de tasa de cambio (*Fold Change*) inferior a -2 o superior a 2 y con un valor de p-value ajustado mediante FDR de 0,05.

**Validación por PCR cuantitativa.** El ARN total se convirtió a ADNc utilizando el kit *SuperScript IV* (LifeTechnologies). Los niveles de expresión génica los genes diana y 2 genes de referencia (*RPL32* y *B2M*), fueron medidos por PCR cuantitativa con las condiciones descritas en Pena et al. (2012).



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

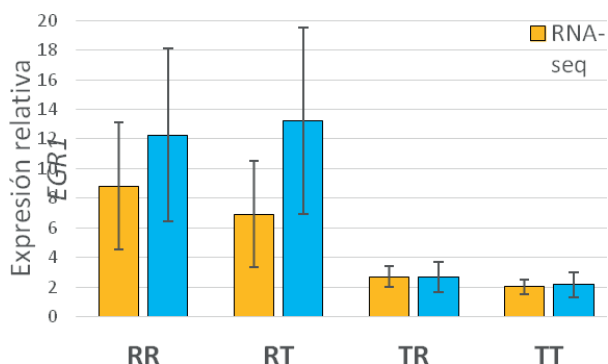
Tras la secuenciación, se obtuvieron una media de 47 millones de lecturas pareadas por muestra, el 91,5% de los cuales eran localizables en el genoma de referencia. Una vez ensamblados los transcritos, se realizó un estudio de expresión diferencial entre animales de distintos cruces. En general se detectaron pocos genes (rango 14-45) diferencialmente expresados (DE) a una FDR de 0,05 (Tabla 1). El rango de la tasa de cambio de los genes DE era de 2 a 27,8. En su conjunto, había 110 transcritos DE, 47 de los cuales aparecían en más de una comparación. Es más, algunos genes DE se localizaban en regiones genómicas asociadas con el contenido de MUFA, ácido oleico y ácido palmítico detectadas, con este material animal, en un trabajo de asociación genómica (GWAS) anterior (Ibáñez-Escriche et al., 2016b) (Tabla 2). Estos genes se convierten en genes candidatos tanto posicionales como funcionales para explicar el efecto de estos QTL. De entre ellos es destacable el gen *EGR1*, cuya expresión diferencial se detectó en 4 de las 6 comparaciones que coinciden en las combinaciones en las que el padre de un cruce era Torbiscal y el padre del comparado era Retinto. Estos datos sugieren que la expresión de este gen está marcada por el origen parental del gen. Por PCR cuantitativa se han validado los resultados de expresión obtenidos por secuenciación (Figura 1). Actualmente estamos secuenciando la región promotora y dos intensificadores (*enhancers*) putativos asociados con la trans-activación de este gen, donde hemos identificado mutaciones que afectan sitios putativos de unión a factores de transcripción como C/EBP $\beta$ , C/EBP $\delta$ , FOS y RXR $\alpha$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ibáñez-Escriche, N. et al. 2016a. J. Anim. Sci. 94: 28-37.
- Ibáñez-Escriche, N., et al. 2016b. XVII Reunión Mejora Genética • Juárez, M., et al. 2009. Meat Sci. 81: 573-579.
- López-Bote, C.J. 1998. Meat Sci. 49: 17-27.
- Pena, R.N., et al. 2013. Anim. Genet. 44: 648-60.

**Tabla 1.** Número de genes diferencialmente expresados (DE) en el músculo longissimus thoracis entre cerdos procedentes de un cruce dialélico Retinto (R) por Torbiscal (T).

Comparación	N. genes DE
RR-RT	21
RR-TR	19
TR-RT	41
TT-RR	35
TT-RT	45
TT-TR	14



**Figura 1.** Comparación de la expresión del gen *EGR1* (unidades relativas) en músculo longissimus thoracis de cerdos de distintos cruces de estirpes ibéricas Retinto y Torbiscal.

**Tabla 2.** Genes diferencialmente expresados que se localizan en regiones genómicas (GWAS) detectadas en un trabajo anterior (Ibáñez-Escriche et al., 2016b). FC – Tasa de cambio de la expresión diferencial

Comparación	Acrónimo (Gen)	SSC(Mb)	FC	GWAS	Caracteres GWAS
RR-RT	<i>RGS5</i> (regulator of G-protein signaling 5)	1(126)	-6,53	1(113-117)	Oleico, MUFA/SFA
TT-RT	<i>PLIN5</i> (lipid storage droplet protein 5)	2(747)	-2,22	2(74-76)	Palmítico, MUFA, MUFA/SFA
TT-RR			-4,36		
TT-RT			-3,37		
TR-RT	<i>EGR1</i> (early growth response 1)	2(146)	-2,59	2(140)	Oleico
TR-RR			-3,34		
TT-RT	<i>GLRX</i> (Glutaredoxin-1)	2(146)	-2,57	2(103-105)	Oleico, MUFA, MUFA/SFA
TT-RT	<i>XLOC_027260</i>	3(116)	-2,09	3(115-117)	MUFA/SFA
TT-RR	<i>PPP1R11</i>	7(25)	3,03	7(29)	Oleico, MUFA, MUFA/SFA
TT-TR			-4,06		
TT-RT	<i>XLOC_005316</i>	10(16)	-2,76	10(15-22)	Palmítico, MUFA/SFA
TT-TR	<i>MYH10</i> (myosin, heavy chain 10, non-muscle)	12(56)	-2,80	12(57-58)	Palmítico
TT-RT					
TT-TR	<i>PLEKHH2</i> (pleckstrin homology, MyTH4 and FERM domain containing H2)	12(56)	-2,44	12(57-58)	Palmítico
TT-RR					
RR-TR	<i>MAN2B2</i> (mannosidase alpha class 2B member 2)	16(81)	-4,18	16(78-79)	Palmítico

**Agradecimientos:** Financiado por INIA (RTA 2012-0054-C02-01) y el CDTI (IDI-20140447). Los autores expresan su agradecimiento a la empresa Inga Food S. A. y a sus veterinarios participantes en el experimento: M. Ramos, M.J. García, L. Muñoz y P. Díaz, así como al Dr. Luis Varona de la Universidad de Zaragoza.

## MUSCLE TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF IBERIAN PIGS OBTAINED BY A RETINTO x TORBISCAL COMPLETE DIALLELIC CROSS

**ABSTRACT:** The deposition of intramuscular fat and the content of oleic fatty acid present great variability among the strains that make up the Iberian pig population. In a previous experiment a complete diallelic cross generated using Retinto, Entrepelado and Torbiscal strains and a genome association study (GWAS) was carried out to identify several genomic regions associated with the content of oleic acid and of monounsaturated fatty acids in muscle. In the present work we have complemented these results with muscle transcriptome data of 28 animals of Retinto and Torbiscal crosses. A mean of 47 million reads were obtained per each sample, 91.5% of which could be mapped to the reference genome. Overall, there was a reduce number of genes differentially expressed between crosses, with an expression fold change ranging from 2 to 27.8. Some of the differentially expressed genes co-localized with GWAS regions. Among these genes, the expression of *EGR1* exhibited a parent-of-origin effect, with enhanced expression in Retinto-sired pigs when compared to Torbiscal-sired animals. We are now analysing the promoter and two putative *EGR1* enhancers in order to describe strain or Iberian-specific mutations responsible for this effect.

**Keywords:** intramuscular fat, Iberian pig, RNA-seq, oleic acid

## EFFECTO DE LA SELECCIÓN POR TASA DE OVULACIÓN EN EL TRANSCRIPTOMA DE TEJIDO OVÁRICO EN CONEJO

Peiró<sup>1,2</sup>, R., Serna<sup>1,3</sup>, M., Serna<sup>3</sup>, E. y Santacreu<sup>1</sup>, M.A.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València. <sup>2</sup>Dirección actual: Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universitat Politècnica de València. <sup>3</sup>Unidad Central de Investigación de Medicina, Universitat de València. msantacr@dca.upv.es

### INTRODUCCIÓN

Una de las alternativas que se ha propuesto para mejorar la respuesta en tamaño de camada en conejo es la selección por tasa de ovulación. En la Universitat Politècnica de València se ha llevado a cabo un experimento de selección por tasa de ovulación durante 10 generaciones. La selección por tasa de ovulación ha tenido éxito; la línea seleccionada presenta un aumento de tres óvulos pero no ha habido una respuesta correlacionada en tamaño de camada debido a un aumento en la mortalidad prenatal (Laborda et al., 2012). Este incremento de la mortalidad podría ser debido, en parte, a un aumento del número de ovocitos inmaduros producidos por el ovario de acuerdo con lo observado en cerdas seleccionadas por tasa de ovulación (Koenig et al., 1986). El objetivo de este trabajo es estudiar cuál ha sido el efecto de la selección sobre la expresión génica diferencial en el tejido ovárico mediante el uso de microarrays.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado seis muestras de tejido ovárico (entre 34-40 mg) de seis conejas nulíparas sacrificadas a las 16 horas post-monta. Tres muestras de tejido ovárico procedían de conejas de una línea seleccionada por tasa de ovulación durante 10 generaciones y las otras tres muestras de una población control. La población control se reconstituyó en la generación 10 a partir de embriones vitrificados de hembras de la generación base de selección.

La integridad del RNA total extraído se ha determinado utilizando el kit RNA 6000 Nano LabChip® y el Bioanizador Agilent 2100 (Agilent Technologies) y la cuantificación se ha realizado utilizando el espectrofotómetro GeneQuant Pro™ (GE Healthcare).

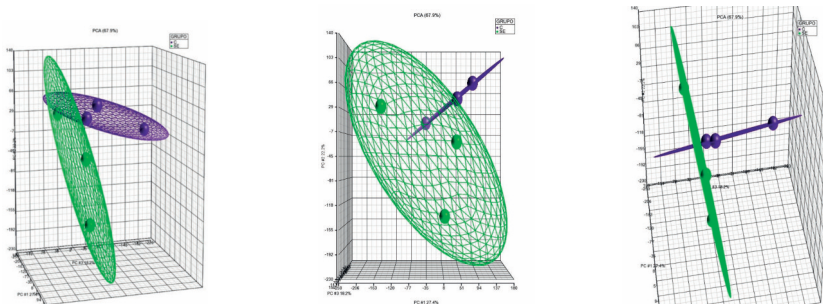
El microarray *GeneChip® Rabbit Gene 1.0 ST Array* permite analizar un total de 23.282 genes mediante 496.321 sondas distintas, con una mediana de 22 sondas por gen. Para ello, utiliza secuencias de transcritos anotados procedentes de las bases de datos Orycun 2.0 y Ensembl (Mayo 2009). Previamente al análisis de expresión génica, se ha realizado un control de calidad para cada uno de los chips mediante el análisis de la imagen del biochip, el control de la hibridación del oligo B2 y el análisis de parámetros a nivel de sonda, de set de sondas y de categorías. Para ello se ha utilizado el software *Expression Console™ 1.4.1.46* de Affymetrix. Para la realización del análisis transcriptómico, se ha realizado un análisis de componentes principales y un análisis de expresión diferencial mediante un análisis de la varianza utilizando el software comercial Partek Genomics Suite 6.6. Los p-values obtenidos en el ANOVA se han ajustado por el método False Discovery Rate (FDR) de Benjamini y Hochberg (1995) para estudios de comparaciones múltiples. Finalmente, los genes diferencialmente expresados se introdujeron en el programa Pathway Studio versión 9 (Ariadne Genomics® software, Elsevier® Inc, Rockville, MD, USA) para la identificación de la red asociada a muerte celular.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las muestras analizadas han presentado valores de RIN (acrónimo de *RNA Integrity Number*) superiores a 8, por lo que ninguna de las muestras está degradada. La pureza del RNA total de las seis muestras también ha sido adecuada ya que han presentado valores del ratio A260/A280 cercanos a 2,00. La concentración de RNA total en las muestras ha sido elevada (1.500 ng/μl en promedio) y similar. Las muestras analizadas han mostrado unos parámetros adecuados de calidad para el análisis de la imagen del biochip y la hibridación del oligo B2. El análisis del pre-procesado de las muestras mediante el método RMA (acrónimo de *Robust Multiarray Average*) indican un adecuado control de calidad de los datos de expresión obtenidos (visión global de la calidad de los datos de expresión, control de sesgos y

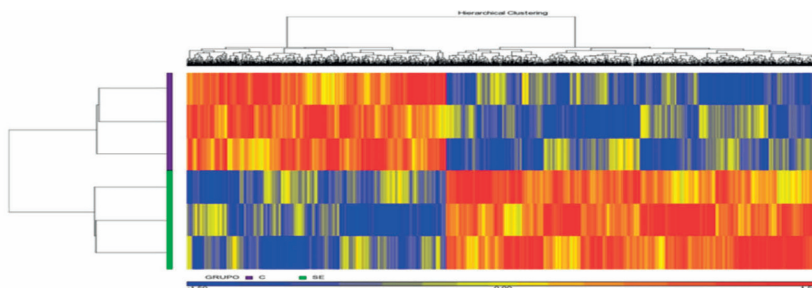
comparabilidad de las muestras, control de calidad del marcaje de las muestras y control de calidad de la hibridación de las muestras).

En la figura 1 se representa el análisis de componentes principales de las seis muestras analizadas (tres muestras de la población control y tres de la línea seleccionada). Las tres primeras componentes principales explican aproximadamente el 65 % de la variación y se puede observar que las muestras de ambas poblaciones, control y seleccionada, se diferencian desde el punto de vista transcriptómico.



**Figura 1.** Tres representaciones gráficas del resultado del análisis de componentes principales para muestras de tejido ovárico procedentes de tres conejas de una línea seleccionada por tasa de ovulación durante 10 generaciones (verde) y tres conejas de la población control (morado).

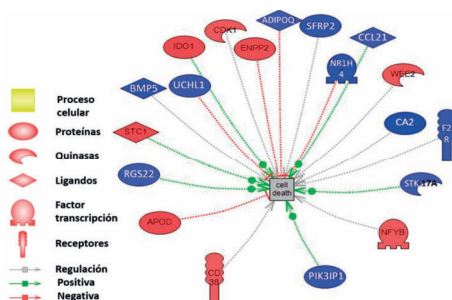
El número de genes diferencialmente expresados ha sido de 1.357 ( $p$  valores  $\leq 0,05$ ). Se ha realizado la representación de los genes con diferente expresión mediante un *heatmap* para cada una de las muestras estudiadas (Figura 2) y se ha observado un patrón de expresión similar entre las muestras del mismo grupo pero diferente entre los grupos selección y control. De los 1.357 genes, 800 genes han presentado unos valores de cambio de expresión (*fold change*) positivos en la población seleccionada, de los cuales 59 presentaban un valor de cambio de expresión mayor de 1,5. El resto, 557, son genes infraexpresados en la población seleccionada, de los cuales 44 presentan valores inferiores a -1,5. De todos los genes expresados diferencialmente, 922 genes están anotados (529 sobreexpresados y 393 genes infraexpresados). De éstos, 14 y 19 genes presentan valores superiores e inferiores a un cambio de expresión de 1,5, respectivamente.



**Figura 2.** Heatmap de los 1.357 genes diferencialmente expresados en tejido ovárico procedente de tres conejas de una línea seleccionada por tasa de ovulación durante 10 generaciones (verde) y las otras muestras de tres conejas de la población control (morado). Los genes sobreexpresados se representan en rojo y los infraexpresados en azul.

De los 33 genes anotados y expresados diferencialmente en las hembras de las poblaciones seleccionada y control, 19 genes están implicados directamente con la muerte celular: *STC1*, *IDO1*, *CDK1*, *CD38*, *APOD*, *ENPP2*, *WEE2*, *NFYB*, *CCL21*,

*SFRP2*, *ADIPOQ*, *UCHL1*, *BMP5*, *NR1H4*, *RGS22*, *F2R*, *STK17A*, *PIK3IP1*, *CA2* (Figura 3). Entre estos genes destaca el gen *STC1* (*Stanniocalcin 1*) que sintetiza una glicoproteína implicada en la regulación de múltiples procesos biológicos, incluyendo la angiogénesis y la esteroidogénesis, ambos eventos fundamentales en la función ovárica (Gerritsen y Wanner, 2005). Es la primera vez que se describe la expresión del gen *STC1* en tejido ovárico de conejos. En porcino, *STC1* tiene un papel fisiológico y modulador en la esteroidogénesis en el folículo ovárico. Además, *STC1* tiene un efecto negativo en la producción de estradiol 17B y un efecto positivo en la producción de progesterona de las células de la granulosa (Baioni et al., 2009). Estos resultados indican que el gen *STC1* tiene una función importante en la maduración del folículo y podría ser uno de los genes implicados en el aumento de la tasa de ovulación y/o mortalidad prenatal observada en el experimento de selección por tasa de ovulación en conejo (Laborda et al., 2012).



**Figura 3.** Representación de 19 genes diferencialmente expresados en tejido ovárico procedente de tres conejas de una línea seleccionada por tasa de ovulación y de tres conejas de la población control. Los genes sobreexpresados e infraexpresados en la población seleccionada se representan en rojo y en azul, respectivamente.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baioni, L., Basini, S., Bussolati, F. & Grasselli, F. 2009. Vet. Res. Commun. 33:73-76.
- Benjamini, Y. & Hochberg, Y. 1995. J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol. 57:289-300.
- Gerritsen, M.E. & Wanner, G.F. 2005. Vitam. Horm. 70:105-135.
- Koenig, J.L.F., Zimmerman, D.R., Eldrige, F.E. & Kopf, J.D. 1986. J. Anim. Sci. 63:202 (Abstr).
- Laborda, P., Santacreu, M.A., Blasco, A. & Mocé, M.L. 2012. J. Anim. Sci. 90:3392-3397.

**Agradecimientos:** El trabajo ha sido financiado por el MEC (AGL2014-55921-C2-1-P) y la Generalitat Valenciana (Prometeo 2009/125).

### EFFECT OF SELECTION FOR OVULATION RATE ON OVARY TISSUE TRANSCRIPTOME IN RABBITS

**ABSTRACT:** Selection for ovulation rates has been proposed to improve the response in litter size. After 10 generations of selection, an increase of three ova was achieved increasing prenatal mortality. The aim is to study the effect of selection on differential gene expression in ovarian tissue using microarrays. A total of six samples, three from females belong to selection line and three to the control line, were recovered 16 hours after mating. Total RNA was processed for genome-wide expression analysis using Affymetrix gene arrays. A total of 1,357 genes were differentially expressed. A total of 14 annotated genes were overexpressed (differential expression higher than 1.5) in the selection line, whereas 19 annotated genes were underexpressed (differential expression lower than -1.5). *Stanniocalcin 1* is one of the overexpressed genes and it seems to be relevant gene since it is related to reproductive procedures.

**Key words:** litter size, microarrays, ovary, ovulation rate, rabbit.

## IDENTIFICACIÓN DE GENES ASOCIADOS A LA EFICIENCIA ALIMENTARIA EN PORCINO MEDIANTE UN ENFOQUE INTEGRATIVO APLICADO AL TRANSCRIPTOMA DE HÍGADO Y DUODENO

Ramayo-Caldas<sup>1</sup>, Y., Ballester<sup>1</sup>, M., González-Rodríguez<sup>1</sup>, O., Sánchez<sup>1</sup>, J.P., Revilla<sup>2</sup>, Soler<sup>3</sup>, M.J., Torrallardona<sup>4</sup>, D. y Quintanilla<sup>1</sup>, R.

<sup>1</sup>Genética y Mejora Animal, IRTA-Torre Marimón, Caldes de Montbui, 08140 Barcelona,

<sup>2</sup>CRAG, Consorcio CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus UAB, 08193 Barcelona,

<sup>3</sup>Genética y Mejora Animal, IRTA-Monells, Finca Camps i Armet, 17121 Girona,

<sup>4</sup>Nutrición Animal, IRTA-Mas de Bover, Constantí, 43120 Tarragona.

yulixaxis.ramayo@irta.cat

### INTRODUCCIÓN

La eficiencia alimentaria actualmente es uno de los factores más importantes en la producción porcina, debido a su incidencia en la cuenta de resultados de las explotaciones y en el impacto ambiental. En este contexto se enmarcan los objetivos del proyecto europeo ECO-FCE—*A whole systems approach to optimising feed efficiency and reducing the ecological footprint of monogastrics*. El objetivo principal de este estudio, llevado a cabo dentro del proyecto ECO-FCE, es identificar genes candidatos asociados a caracteres relacionados con la eficiencia alimentaria en porcino mediante un enfoque holístico que combine información fenotípica y del transcriptoma de dos tejidos particularmente relevantes en los procesos de uso de nutrientes alimentarios, como son el hígado y el duodeno.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En el marco del proyecto ECO-FCE se llevó a cabo un ensayo con cerdos blancos para contrastar la eficiencia alimentaria bajo diferentes estrategias de alimentación. El material animal consistió en 288 animales (144 machos enteros y 144 hembras) seleccionados de 25 camadas. Durante la fase de engorde en la granja experimental de porcino de IRTA-Monells se controló el peso y el espesor de grasa dorsal, y se registró la ingesta individual de alimento mediante comederos automáticos. Se analizó la eficiencia alimentaria de estos animales mediante distintos criterios, entre ellos la ingesta de alimento residual (RFI—*Residual Feed Intake*), y la ingesta y ganancia de peso residuales (RIG—*Residual intake and body weight gain*) de cada individuo.

El análisis del transcriptoma de hígado y duodeno mediante RNA-Seq se llevó a cabo en 80 animales seleccionados de modo divergente para RFI dentro de sexo\*estrategia alimentaria, e incluyendo también algunos animales con fenotipos intermedios. El mRNA total de las 160 muestras se extrajo usando el kit RiboPure (Ambion, Austin, TX). Se verificó la pureza e integridad del mRNA en un dispositivo Bioanalyzer-2100 y se envió al Centro Nacional de Análisis Genómico para su secuenciación. La preparación de librerías para RNA-Seq se realizó con TruSeq (Illumina Inc), y la secuenciación se realizó en una plataforma HiSeq2000, obteniéndose ~50-60M de lecturas de 2x75 bp por muestra. Se utilizaron herramientas de mapeo STAR/2.5.2a (Dobin et al., 2013) para alinear las secuencias con el genoma de referencia porcino *Sscrofa10.2*. La cuantificación fue realizada por HTSeq (Ander et al., 2015), y la anotación con *Sscrofa.10.2.86*.

Posteriormente se analizaron los niveles de expresión del transcriptoma de hígado y duodeno conjuntamente con los datos fenotípicos mediante una combinación de análisis multivariantes y de análisis de redes de co-expresión génica tal como se detalla:

- 1— Para cada tejido (hígado y duodeno), se identificaron módulos de genes co-expresados mediante el procedimiento de redes ponderadas de co-expresión génica utilizando para ello la librería WGCNA (Langfelder y Horvath, 2008);
- 2— Se seleccionaron aquellos módulos de genes asociados a los fenotipos de eficiencia alimentaria (RFI y RIG) a partir de la correlación entre el primer componente principal (*module eigengene*) y los fenotipos;
- 3— Para resaltar los genes más relevantes dentro de cada módulo, se realizaron análisis multifactoriales dentro de los módulos seleccionados, así como análisis de correlación canónica regularizada (Cao et al., 2016);
- 4— Se realizó una comparación entre los genes identificados en hígado y duodeno, para identificar aquellos cuya expresión se asocia a la eficiencia en ambos tejidos.

Finalmente las listas de genes identificados se utilizaron para identificar procesos y vías metabólicas sobre-representadas mediante análisis de ontología de genes (GO) utilizando *ClueGO Cytoscape plug-in* (Bindea et al., 2009). El umbral para considerar significativa la sobre-representación de los términos GO se estableció mediante la corrección por contraste múltiple de Benjamini and Hochberg ( $p_{adj} \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de redes de co-expresión mostraron parámetros topológicos similares entre las redes de hígado y duodeno, si bien las redes inferidas en el transcriptoma de duodeno se ajustaron mejor a la topología libre de escala a la que suelen ajustarse las redes biológicas. La clusterización de los genes en base a su conectividad permitió identificar en hígado y duodeno un total de 23 y 25 módulos (clústers) de genes con un patrón de expresión similar. El análisis de asociación de estos módulos con distintos fenotipos productivos evidenció que cuatro de estos módulos de co-expresión, uno de hígado y tres de duodeno, estaban significativamente asociados con los fenotipos de eficiencia alimentaria RFI y/o RIG (Tabla 1). Vale la pena destacar que en todos los módulos de ambos tejidos la correlación con estos fenotipos tuvo siempre patrones opuestos, de acuerdo con lo descrito para estos caracteres en vacuno por Pamela et al. (2015).

Los análisis multifactoriales y la comparativa de los módulos de co-expresión asociados a la eficiencia mostraron que 12 de los genes eran comunes en los dos tejidos (hígado y duodeno). Así mismo, un análisis más pormenorizado de los genes contenidos dentro de los módulos reveló que para algunos de estos genes ya se habían descrito asociaciones con la eficiencia alimentaria o caracteres relacionados en otras especies, en estudios tanto de genómica estructural como funcional. Los genes más relevantes se detallan en la Tabla 2. Por ejemplo, el gen *SGK1* se identificó como un gen candidato asociado al comportamiento alimentario en cerdos (Ngoc et al., 2013) y también se observó que mostraba una expresión diferencial en pollos con fenotipos extremos para eficiencia alimentaria (Bottje et al., 2012; Lee et al., 2015). Asimismo, para los genes candidatos identificados tanto en hígado como en duodeno *HSPH1*, *DNAJA1* y *STIP1* también se habían observado como diferencialmente expresados en el transcriptoma del bazo de vacunos con fenotipos extremos para la eficiencia alimentaria (Lindholm-Perry et al., 2016).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Anders et al. 2015. *Bioinformatics* 31:166. • Bindea et al. 2009. *Bioinformatics* 25:1091. • Botte et al. 2012. *Poult. Sci.* 91:2576. • Cao et al. 2016. *PLoS ONE* 11:e0160169. • Connor et al. 2010. *Funct. Integr. Genomics* 10:39. • Dobin et al. 2013. *Bioinformatics* 29:15. • Graczyk et al. 2016. *AFZ* 19:3. • Keogh et al. 2013. *PLoS ONE* 11: e0149373. • Kern et al. 2017. *Anim. Genet.* 48:90. • Langfelder & Horvath. 2008. *BMC bioinformatics* 9: 559. • Lee et al. 2012. *Anat. Cell Biol.* 45:160. • Lee et al. 2015. *Mol. Genet. Genomics* 290:1673. • Lindemans et al. 2013. *Nature* 528: 560. • Lindholm-Perry et al. 2016. *A. Front. Genet.* 7:127. • Mignon-Grasteau et al. 2016. *PLoS One* 10: e0135488. • Ngoc et al. 2013. *PLoS ONE* 8:e71509. • Pamela et al. 2015. *BMC Genomics* 6:1073. • Serão et al. 2013a. *BMC Genetics* 14:94. • Serão et al. 2013b. *PLoS ONE* 8:e78530. • Xu et al. 2016. *BMC Genomics* 17: 594. • Zhou. 2015. PhD Thesis.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto ECO-FCE (FP7-KBBE-2012-6). Los autores agradecen a los técnicos de la granja experimental de porcino y del matadero experimental de IRTA-Monells su colaboración en la fase experimental y la obtención de las muestras biológicas.

**Tabla 1.** Número de genes, valores de correlación (p-valores) de los módulos significativamente asociados con RFI o RIG en hígado o duodeno.

Módulos	# Genes	RFI	RIG
Higado_M1	444	0,38 (0,02)	-0,35 (0,03)
Duodeno_M1	41	0,34 (0,04)	-0,30 (0,07)
Duodeno_M2	126	0,32 (0,04)	-0,27 (0,10)
Duodeno_M3	37	-0,33 (0,05)	0,30 (0,07)

**Tabla 2.** Lista de los genes más relevantes contenidos en los módulos de co-expresión significativamente asociados con los fenotipos de eficiencia alimentaria, indicando el tejido al que pertenece el módulo y funciones o asociaciones descritas en otros estudios.

Gene ID	Tejido	Función o asociación previamente descrita: Fenotipo / Especie / Tipo de asociación	Referencia
<i>GADD45G</i>	Hígado	Eficiencia alimentaria / bovina / transcriptoma	<i>Alexandre et al. 2015</i>
<i>MAP3K8</i>	Hígado	Eficiencia alimentaria / bovina / GWAS	<i>Serão et al. 2013a</i>
<i>NFKBI</i>	Hígado	Eficiencia alimentaria / aviar / RNA-Seq	<i>Zhou 2015</i>
<i>SGKI</i>	Hígado	Comportamiento alimenticio / porcina / GWAS Eficiencia alimentaria / aviar / transcriptoma Eficiencia alimentaria / aviar / transcriptoma	<i>Ngoc Do et al. 2013</i> <i>Bottje et al. 2012</i> <i>Lee et al. 2015</i>
<i>IL22</i>	Duodeno	Regeneración epitelial de células intestinales	<i>Lindeman et al. 2015</i>
<i>SIN3A</i>	Duodeno	Consumo y crecimiento / bovina / GWAs	<i>Serão et al. 2013b</i>
<i>NQO1</i>	Duodeno	Eficiencia alimentaria / bovina / transcriptoma	<i>Kern et al. 2017</i>
<i>CSMD2</i>	Duodeno	Eficiencia alimentaria / bovina / GWAS	<i>Serão et al. 2013a</i>
<i>CDC37LI</i>	Duodeno	Eficiencia alimentaria / aviar / SNPs	<i>Graczyk et al. 2016</i>
<i>PSAT1</i>	Duodeno	Eficiencia alimentaria / bovina/ transcriptoma	<i>Connor et al. 2010</i>
<i>LECT2</i>	Duodeno	RFI / aviar / GWAs y transcriptoma	<i>Xu et al. 2016</i>
<i>HSPH1</i>	Hígado & Duodeno	Eficiencia alimentaria / bovina / transcriptoma Restricción alimentaria / bovina / transcriptoma	<i>Lindholm-Perry et al. 2016</i> <i>Keogh et al. 2016.</i>
<i>BAG3</i>	Hígado & Duodeno	Eficiencia digestiva & microbiota / aviar / QTL Motilidad intestinal / ratones / transcriptoma	<i>Mignon-Grasteau et al. 2015</i> <i>Lee et al. 2012</i>
<i>DNAJAI</i>	Hígado & Duodeno	Eficiencia alimentaria / bovina/ transcriptoma	<i>Lindholm-Perry et al. 2016</i>
<i>STIP1</i>	Hígado & Duodeno	Eficiencia alimentaria / bovina/ transcriptoma	<i>Lindholm-Perry et al. 2016</i>

### INTEGRATIVE APPROACH APPLIED TO LIVER AND DUODENUM TRANSCRIPTOME HIGHLIGHTS CANDIDATE GENES ASSOCIATED WITH EFFICIENCY-RELATED TRAITS IN PIGS

**ABSTRACT:** The main goal of this study was to identify candidate genes associated with efficiency-related traits in pigs through an integrative approach. Liver and duodenum transcriptome of 80 individuals divergently selected for residual feed intake (RFI) was analysed by RNA-Seq. Expression data was explored through a combination of weighted gene co-expression network (WGCNA) and multivariable methods combining transcriptomic and phenotypic information. Genes were clustered according to their connectivity, and a total of 23 (liver) and 25 (duodenum) modules were identified. Four of these co-expressed gene modules (one in liver and three in duodenum) were significantly correlated with feed efficiency traits. Modules showed opposite correlation patterns with RFI and RIG in both tissues. The intra-module analysis revealed interesting tissue-specific candidate genes as well as 12 common genes associated with efficiency-related traits in pigs, previously reported in other species.

**Keywords:** feed efficiency, pigs, integrative approach, RNA-Seq, liver, duodenum



## ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN MÚSCULO POR MEDIO DE RT-qPCR.

Martínez Del Pino<sup>1</sup>, L., Echeverría, I., Arana, A., Alfonso, L., Mendizábal, J.A. y Soret, B.  
<sup>1</sup>ETSIA, Universidad Pública de Navarra, 31006 Pamplona. lara.martinez@unavarra.es

### INTRODUCCIÓN

La reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa a tiempo real (RT-qPCR) permite la cuantificación de cambios en la expresión génica de forma precisa y produce resultados de cuantificación fiables y rápidos (Pfaffl, 2001). Sin embargo, un amplio rango de factores además del animal, el tejido o el tratamiento experimental utilizados, pueden afectar a la expresión génica (Steibel et al., 2009) aumentando la variabilidad total del experimento y, por lo tanto, dificultando la interpretación de los resultados obtenidos. El objetivo principal de este trabajo es el estudio de las principales fuentes de variabilidad experimental que afectan a la cuantificación de la expresión génica por medio de RT-qPCR de genes clave en el desarrollo de la grasa intramuscular (GIM). Para ello, se ha estudiado la expresión de 4 genes relacionados con la adipogénesis en terneros de las razas Pirenaica y Frisona en dos músculos: *longissimus thoracis* (LT) y *masseter* (MS). Conocer en qué medida los distintos factores experimentales contribuyen a la variabilidad de los resultados contribuirá a minimizarla y mejorar así los diseños experimentales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se extrajo ARNm de muestras de los músculos LT y MS de terneros de las razas Pirenaica (n=4) y Frisona (n=4) sacrificados con edades y pesos comerciales. Posteriormente se procedió a la síntesis de ADNc, utilizando en ambas etapas kits comerciales, para después amplificarlo por medio de RT-qPCR (SYBR Green). Se estudió la expresión de 4 genes relacionados con la formación de grasa intramuscular (GIM): *peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$*  (PPARG), *CCAAT/enhancer-binding protein  $\alpha$*  (CEBPA), *fatty acid binding protein 4* (FABP4) y *wingless-type MMTV integration site family 10B* (WNT10B) y de dos genes de referencia:  *$\beta$ -actin* (ACTB) y *Topoisomerase II-beta* (TOP2B). Se siguió un diseño anidado que tenía en cuenta los animales (A), la muestra, es decir, las extracciones de RNA realizadas de cada porción de músculo muestreado (M), la transcripción reversa (RT) y la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR): [(nA=4) x (nM=3) x (nRT=2) x (nqPCR=2)]. Se realizó una descomposición de la varianza de los factores que contribuyen a la varianza total del experimento analizando los resultados de la RT-qPCR mediante el procedimiento NESTED (SAS 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Para ello se usó el siguiente modelo para cada raza (i) y cada gen (j):  $Y_{ijklmn} = \mu + A_k + M_l(A_k) + R_m(M_l(A_k)) + e_{ijklmn}$ . Donde;  $Y_{ijklmn}$  es el dato de Cq obtenido,  $A_k$  es el efecto del k<sup>th</sup> animal;  $M_l(A_k)$  es el efecto de la l<sup>th</sup> muestra tomada del k<sup>th</sup> animal;  $R_m(M_l(A_k))$  es el efecto de la m<sup>th</sup> reacción de RT de la l<sup>th</sup> muestra tomada del k<sup>th</sup> animal y  $e_{ijklmn}$  es el efecto residual de cada qPCR.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La raza Frisona, de aptitud lechera pero cuyos terneros machos se utilizan para la producción de carne, presenta un desarrollo precoz mientras que la Pirenaica, muy valorada por su aptitud cárnica, es considerada de desarrollo tardío (Soret et al., 2016). Por otro lado, el músculo LT tiene un metabolismo predominantemente glicolítico (Hwang et al., 2010) mientras que, por el contrario, el metabolismo que domina en el músculo MS es el oxidativo (Picard et al., 1996), lo que está relacionado con un mayor contenido en fosfolípidos y triglicéridos (Hocquette et al., 2010). Teniendo en cuenta las diferencias mencionadas en cuanto al desarrollo de la grasa de ambas razas y al metabolismo de los dos músculos incluidos en este estudio, podrían esperarse diferencias en la expresión de los genes PPARG, CEBPA y FABP4, cuya expresión se relaciona positivamente con la deposición de GIM (Duarte et al., 2013; Michal et al., 2006) y WNT10B, bloqueador de la adipogénesis y que parece tener relación con la inhibición de la deposición de GIM (Luo et al., 2009). Sin embargo, la capacidad para detectar una expresión diferencial entre los genes estudiados puede estar limitada por una alta variabilidad asociada a los resultados en experimentos de RT-qPCR y la confusión entre la variación biológica y la variación asociada al trabajo experimental lo que podría dificultar la detección de diferencias con relevancia biológica. Además de la etapa de amplificación (qPCR), las etapas experimentales que le preceden,

como el muestreo y la RT, también pueden tener un efecto significativo en la variabilidad total (Tichopad et al., 2009). En el presente trabajo se han tenido en cuenta las contribuciones a la varianza total de cada una de las etapas analíticas indicadas: Animal, Muestra, RT y qPCR, para el estudio de los citados genes adipogénicos. Los factores Muestra y RT mostraron el mayor porcentaje de variabilidad (Tablas 1 y 2) (Figura 1), lo que concuerda con lo observado por otros autores (Tichopad et al., 2009) y presentaron entre los dos factores un total de 76% de la variabilidad total en el caso del músculo *LT*, tanto para los terneros Pirenaicos como para los Frisones, y de 84% en el caso del músculo *MS* en ambas razas (Figura 1). La aportación de la qPCR a la variabilidad total fue baja para los dos músculos en las dos razas y en los genes estudiados, siendo el factor que mostraba la repetibilidad más alta. Por este motivo, la inclusión de repeticiones de qPCR en el diseño de experimentos es recomendable solo para evitar la pérdida de un resultado en caso de reacciones fallidas. La variabilidad debida al animal, aunque fue menor en comparación con el resto de factores, también resultó ser la más difícil de estimar adecuadamente dado el escaso número de animales utilizados. Por lo tanto, en vista de los resultados obtenidos, sería adecuado incluir réplicas de Muestra y RT en el diseño de futuros experimentos debido a la alta variabilidad que aportan a los resultados, independientemente de la raza o el músculo utilizados. De esta forma se podrían detectar de manera más eficiente cambios en la expresión génica, de menor magnitud pero con un efecto biológico relevante en el proceso de la deposición de GIM.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pfaffl, M.W. 2001. *Nucleic Acids Res.* 29(9):e45
- Steibel, J.P., Poletto, R., Coussens, P.M. & Rosa, G.J. 2009. *Genomics.* 94(2):146-52
- Soret, B., Mendizabal, J.A., Arana, A. & Alfonso, L. 2016. *Animal.* 10(12):2018-26.
- Hwang, Y.H., Kim, G.D., Jeong, J.Y., Hur, S.J. & Joo, S.T. 2010. *Meat Sci.*;86(2):456-61.
- Picard, B., Helene, G. & Geay Y. 1996. *Appl Myol.*;6(5).
- Hocquette, J.F., Gondret, F., Baeza, E., Medale, F., Jurie, C. & Pethick, D.W. 2010. *Animal.* 4(2):303-19.
- Duarte, M.S. et al. 2013. *J. Anim. Sci.* :91(6):2938-46.
- Michal, J.J., Zhang, Z.W., Gaskins, C.T. & Jiang, Z. 2006. *Anim. Genet.* 37(4):400-2
- Luo, H.F., Wei, H.K., Huang, F.R., Zhou, Z., Jiang, S.W. & Peng, J. 2009. *Lipids.*44(11):999-1010.
- Tichopad, A., Kitchen, R., Riedmaier, I., Becker, C., Stahlberg, A. & Kubista, M. 2009. *Clin. Chem.* 55(10):1816-23

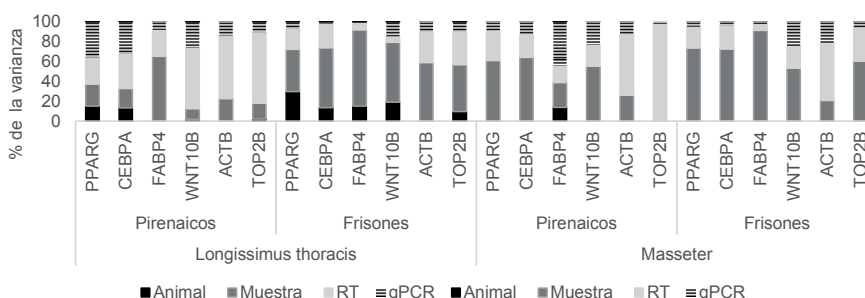
**Agradecimientos:** Los autores agradecen a la asociación ASPINA la ayuda con la selección de los animales y a las empresas "La Protectora" y "Vacuno de Navarra" la ayuda para la realización del muestreo. Parte de este trabajo forma parte del proyecto de investigación RTA2013-00046-C03-03 (INIA)

**Tabla 1.** Valores de *Cq* medio, y desviaciones estándar estimadas para el factor animal y los factores instrumentales (muestra, RT y qPCR) y desviación estándar total en el músculo *longissimus thoracis* de terneros Frisones y Pirenaicos para los genes adipogénicos *PPARG*, *CEBPA*, *FABP4* y *WNT10B* y los genes de referencia *ACTB* y *TOP2B*.

	Pirenaicos						Frisones					
	<i>PPARG</i>	<i>CEBPA</i>	<i>FABP4</i>	<i>WNT10B</i>	<i>ACTB</i>	<i>TOP2B</i>	<i>PPARG</i>	<i>CEBPA</i>	<i>FABP4</i>	<i>WNT10B</i>	<i>ACTB</i>	<i>TOP2B</i>
<i>Cq</i> medio	26,43	28,90	25,63	32,20	22,98	24,21	26,28	26,93	22,19	30,17	20,52	23,93
Animal	0,40	0,31	0,00	0,28	0,00	0,22	0,48	0,37	0,48	0,44	0,00	0,22
Muestra	0,49	0,37	1,51	0,69	0,80	0,60	0,57	0,79	1,09	0,78	0,66	0,48
RT	0,53	0,50	0,96	1,64	1,45	1,27	0,40	0,50	0,33	0,24	0,48	0,41
qPCR	0,62	0,48	0,54	1,08	0,72	0,48	0,23	0,14	0,13	0,39	0,27	0,22
Total	1,03	0,84	1,87	2,10	1,80	1,50	0,87	1,02	1,24	1,01	0,86	0,71

**Tabla 2.** Valores de Cq medio, y desviaciones estándar estimadas para el factor animal y los factores instrumentales (muestra, RT y qPCR) y desviación estándar total en el músculo *masseter* de terneros Pirenaicos y Frisones para los genes adipogénicos PPARG, CEBPA, FABP4 y WNT10B y los genes de referencia ACTB y TOP2B.

	Pirenaicos						Frisones					
	PPARG	CEBPA	FABP4	WNT10B	ACTB	TOP2B	PPARG	CEBPA	FABP4	WNT10B	ACTB	TOP2B
Cq medio	26,38	28,79	26,72	31,34	22,12	23,91	26,09	26,80	22,41	29,69	20,31	23,36
Animal	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Muestra	0,77	1,05	0,57	0,87	0,72	0,00	0,58	0,68	1,43	0,53	0,27	0,48
RT	0,54	0,63	0,47	0,54	1,10	1,49	0,31	0,39	0,37	0,34	0,45	0,36
qPCR	0,29	0,48	0,76	0,56	0,52	0,22	0,15	0,15	0,23	0,37	0,28	0,14
Total	0,99	1,31	1,14	1,17	1,41	1,51	0,68	0,79	1,50	0,73	0,60	0,62



**Figura 1.** Aportaciones a la varianza de los distintos factores considerados en el estudio (Animal, muestra, RT y qPCR) expresados como porcentajes en los músculos *LT* y *MS* de terneros Pirenaicos y Frisones para los genes adipogénicos PPARG, CEBPA, FABP4 y WNT10B y los genes de referencia ACTB y TOP2B.

#### VARIABILITY STUDY OF THE GENETIC EXPRESSION ANALYSIS IN MUSCLE BY RT-qPCR

**ABSTRACT:** Real time reverse transcription PCR (RT-qPCR) allows quantification of the changes in gene expression and can be a useful technique due to its specificity, sensitivity and simplicity. However, a wide range of analytical situations, apart from the animal, the tissue or the experimental treatment assayed, may affect gene expression and produce variability which reduces the ability to detect statistical significance. In the present study, gene expression of some key adipogenic genes (PPARG, CEBPA, FABP4 and WNT10B) was analyzed in the muscles *longissimus thoracis* (*LT*) and *masseter* (*MS*) of Pirenaica (N=4) and Friesian (n=4) young bulls. RT-qPCR results were analyzed following a nested design in order to implement appropriate experimental designs minimizing gene expression variability. Regarding the results of the variability study, the analytical factors that added higher variability to the gene expression were the Sampling and the reverse transcription (RT), representing together 76% of total variability in *LT* muscle and 84% in *MS* muscle of Pirenaica and Friesian young bulls. Therefore, it would be appropriate to include those replicates in the design of future experiments in order to achieve a more accurate analysis of the results and detect lower relevant differences in gene expression.

**Keywords:** qPCR, Nested design, Variability.

## **EFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO POR CALOR EN EL PERFIL TRANSCRIPTÓMICO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS EN CABRAS LECHERAS A MITAD DE LACTACIÓN**

Contreras-Jodar, A.<sup>1</sup>, Salama, A.A.K.<sup>1,2</sup>, Hamzaoui, S.<sup>1</sup>, Caja, G.<sup>1</sup>, Vailati-Riboni, M.<sup>3</sup> y Loor, J.J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España. <sup>2</sup>Animal Production Research Institute, Dokki, Egipto. <sup>3</sup>Mammalian NutriPhysioGenomics, University of Illinois, Urbana, EEUU.  
ahmed.salama@uab.cat

### **INTRODUCCIÓN**

El cambio climático es evidente y los modelos de IPCC (2013) predicen que a finales del siglo XXI se incrementará la temperatura media anual entre 3 y 10°C. Bajo alta temperatura y humedad ambiental, la capacidad de los animales de disipar el calor se reduce, causando un incremento en su temperatura corporal y estrés por calor (EC). Los animales de granja tendrán que enfrentarse a una mayor frecuencia, intensidad y duración de olas de calor que afectarán negativamente su salud, bienestar y desarrollo (Salama et al., 2016). El calor ambiental junto con la humedad favorece la supervivencia de vectores de enfermedades, por lo que los animales estarán más expuestos a sufrir enfermedades. Además, parece que existe una correlación entre el EC y una menor respuesta inmune en animales lecheros (Thompson et al., 2014). El objetivo del presente estudio es evaluar la respuesta en la expresión génica de las células sanguíneas y conocer las rutas biológicas afectadas por EC en cabras lecheras que permitiría ayudar a entender los mecanismos de la respuesta inmune y establecer nuevas estrategias para mejorar la salud animal bajo EC.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Un total de 8 cabras lecheras multíparas de raza Murciano-Granadina a mitad de lactación (43,3 ± 1,6 kg PV; 2,00 ± 0,04 l/d; 81 ± 3 d en lactación) se dividieron en dos grupos balanceados de 4 y se alojaron en cámaras metabólicas bajo dos condiciones climáticas diferentes (temperatura, °C; humedad, %) durante 35 días: 1) termo-neutral (TN: 15-20°C, 40-45%, índice temperatura-humedad (THI) = 59 a 65), y 2) estrés por calor (EC: 12 h a 37°C-40%, 12 h a 30°C-40%, THI = 86 y 77, respectivamente).

Para el análisis de expresión génica, se tomaron muestras de sangre el día 35 utilizando vacutainers de 10 ml con EDTA (BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ) y conservados en hielo. El RNA se extrajo inmediatamente utilizando RiboPure-Blood Kit (Thermo Fisher Scientific, Madrid, Spain). El RNA extraído se congeló a -80°C hasta su posterior análisis. Se utilizaron chips de microarrays de Affymetrix GeneChip Bovine Genome Array y 3' IVT Express Kit (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) según las instrucciones del fabricante. Los arrays fueron escaneados mediante Affymetrix GeneChip Scanner 3000 y las imágenes cuantificadas por Affymetrix GeneChip Operating Software.

El análisis bioinformático y estadístico de los datos se realizó con R (versión 3.0.3). Los perfiles de expresión génica (format CEL) se convirtieron en valores de expresión mediante la función Microarray Suite 5.0 (MAS5) del paquete estadístico Affy (Gautier et al., 2004). Se corrigió el fondo de los datos crudos y se normalizó mediante transformación por log<sub>2</sub>. Se corrió el algoritmo Absent/Present del paquete Affy y los genes con niveles de expresión dudosa se excluyeron. La selección de los genes diferencialmente expresados se obtuvo realizando una comparación de medias por T Student para cada gen entre los grupos TN y EC. El índice de falsos descubrimientos se controló con el procedimiento Benjamini-Hochberg ( $P < 0,05$ ). La identificación de las sondas de Affymetrix y sus respectivos FC y FDR p-valores se sometieron a un análisis funcional mediante el software Dynamic Impact Approach (DIA; Bionaz et al., 2012) junto con la Enciclopedia de Kyoto de Genes y Genomas (KEGG). Los resultados obtenidos por DIA se basan en el impacto calculado y la dirección del

impacto (ej. subexpresado o sobreexpresado) de los genes diferencialmente expresados en las rutas biológicas. De este modo, el cambio en el flujo de una ruta se determina mediante el cambio significativo y la magnitud de las proteínas relacionadas en una ruta determinada. Para el presente análisis, se usaron los ajustes estándar del DIA (mínimo 4 genes en una ruta y cobertura mínima del 20%).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De un total de 24.128 sondas, después del proceso de filtración, 14.316 fueron consideradas para su posterior análisis. El tratamiento estadístico reveló que sólo 143 genes estaban diferencialmente expresados (DEG, 55 sobreexpresados y 88 subexpresados) por EC. Además, el FC de los DEG no fue elevado (sólo 43 genes tuvieron  $FC \geq 1/1$ ). Esto podría ser debido a que el muestreo de sangre se realizó tras 35 días de experimental. Es posible que se detectaran más cambios en la expresión génica si se hubieran tomado las muestras con anterioridad. De hecho, Hamzaoui et al. (2013) observó que las cabras EC sufrieron fuertes cambios fisiológicos durante la semana 1 de tratamiento y posteriormente, se fueron recuperando parcialmente, aunque las diferencias seguían siendo significativas en la semana 5.

Se han detectado 31 rutas biológicas impactadas por EC: 28 de ellas subexpresadas y sólo 3 sobreexpresadas (Tabla 1). Las cabras lecheras bajo EC parecen sufrir inmunodisfunción y daño en los tejidos. Se encontró una inhibición del linaje de células hematopoyéticas (ruta #9, Tabla 1) además de una fuerte inhibición de la migración de leucocitos de la sangre a los tejidos, una reducción en la función en las moléculas de adhesión celular y una menor señalización de calcio (rutas #1, #4 y #14, Tabla 1). Todo junto, afecta a la diapédesis a través del endotelio vascular, lo que reduciría la respuesta inmune innata y adaptativa contra los patógenos (Muller, 2011).

Se detectó también una inhibición de las rutas de adipocitocinas y señalización PPAR (#10 y #11, Tabla 1), indicando una alteración en el metabolismo lipídico de las células inmunitarias y, en consecuencia, en sus funciones, ya que hay una relación clara entre la composición lipídica de las células inmunitarias y sus funciones (Calder, 2008).

Además, se observó una fuerte activación de la ruta del catabolismo de las purinas y las pirimidinas y de la degradación de xenobióticos vía citocromo p450 (CYP450), junto con una inhibición del transporte de RNA del núcleo al citoplasma en cabras EC (#2, #3, #5, #8, Tabla 1). Estos cambios podrían ser el resultado de una crisis de estrés oxidativo inducidos por calor, produciendo radicales libres y peróxidos, causando desacoplamiento de proteínas y muerte celular (Trachootham et al., 2008). Esta muerte celular, a su vez, activa una cascada de enzimas detoxificantes como los CYP450, encargados del catabolismo de los nucleótidos y de las toxinas liberadas (Hannemann et al., 2007). Además, las proteínas dañadas se acumulan masivamente en el retículo endoplasmático, activando una señal de respuesta compensatoria para disminuir la síntesis de proteínas, bloqueando su transporte de RNA y su posterior traducción (Kumar, 2007). La alteración de estas 4 rutas metabólicas puede estar indicando toxicidad química, inmunodeficiencia, e inflamación (Hibbs et al., 2016) en cabras EC.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bionaz, M., Periasamy, K., Rodriguez-Zas, S.L., Hurley, W.L. & Loor, J.J. 2012. *PLoS One* 7: e32455.
- Calder, P.C. 2008. Prostagl., Leukotrienes Ess. Fatty Ac. 79: 101–108.
- Gautier, L., Cope, L., Bolstad B.M. & Irizarry R.A. 2004. *Bioinformat.* 20: 307–315.
- Gómez, L., Allona, I., Ramos, A., Núñez, P., Ibáñez, C., Casado, R. & Aragoncillo, C. 2005. *Invest. Agrar.: Sist. Recur. For.* 4: 307-317.
- Hamzaoui, S., Salama, A.A.K., Albanell, E., Such, X. & Caja, G. 2013. *J. Dairy Sci.* 96: 6355-6365.
- Hannemann, F., Bichet, A., Ewen, K.M. & Bernhardt, R. 2007. *Biochim. Biophys. Acta.* 1770: 330-44.
- Hibbs, J.B., Vavrin, Z. & Cox, J.E. 2016. *Redox Biol* 8: 271-284
- IPCC. 2013. Cambridge University Press.
- Kumar, V., Abbas A.K., Fausto, N., Mitchell

& Robbins, R. Basic Pathology. 2007. Ed. Elsevier Health Sciences. • Muller, W.A. 2011. Ann. Rev. Pathol. 6: 323–344. • Salama, A.A.K., Caja, G., Hamzaoui, S., Such, X., Albanell, E., Badaoui, B. & Loor, J.J. 2016. Chapter 2 in Animal Welfare in Extensive Production Systems. • Stallings, J.D., Ippolito, D.L., Rakesh, V., Baer, C.E., Dennis, W.E., Helwig, B.G., Jackson, D.A., Leon, L.R., Lewis, J.A. & Reifman, J. 2014. BMC Genomics 15(1): 1058. • Thompson, I.M.T., Tao, S., Monteiro, A.P.A., Jeong, K.C., & Dahl, G.E. 2014. J. Dairy Sci. 97:7426–7436. • Trachootham, D., Lu, W., Ogasawara, M.A., Nilsa, R.D. & Huang, P. 2008. Antioxid. Redox. Signal. 10: 1343–1374.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2013-44061-R).

**Tabla 1.** Listado de las 15 rutas metabólicas más afectadas en células sanguíneas de cabras lecheras en lactación tras 35 días de exposición a estrés por calor

#	Pathway	Impact	-Flux	+Flux
1	Leukocyte transendothelial migration	Blue bar	Green bar	
2	Pyrimidine metabolism	Blue bar		Red bar
3	Purine metabolism	Blue bar		Red bar
4	Cell adhesion molecules (CAMs)	Blue bar	Green bar	
5	Drug metabolism - cytochrome P450	Blue bar		Red bar
6	Tight junction	Blue bar	Green bar	
7	Fat digestion and absorption	Blue bar	Green bar	
8	RNA transport	Blue bar	Green bar	
9	Hematopoietic cell lineage	Blue bar	Green bar	
10	Adipocytokine signaling pathway	Blue bar	Green bar	
11	PPAR signaling pathway	Blue bar	Green bar	
12	Adherens junction	Blue bar	Green bar	
13	ECM-receptor interaction	Blue bar	Green bar	
14	Calcium signaling pathway	Blue bar	Green bar	
15	Arginine and proline metabolism	Blue bar	Green bar	

### EFFECTS OF HEAT STRESS ON THE TRANSCRIPTOMIC PROFILE OF BLOOD CELLS IN LACTATING DAIRY GOATS

**ABSTRACT:** High temperature is a major stress that hinders the immune system leading animals to be more prone to diseases. Although productive and physiological responses of dairy animals to heat stress are well known, there is still a lack of knowledge about transcriptomic adaptation of the immune system. This work aimed to evaluate the changes in blood transcriptomics of goats under heat stress. Eight adult Murciano-Granadina dairy goats in mid-lactation were submitted to 2 climatic treatments for 35 d. Treatments and temperature-humidity index (THI) were: 1) thermal neutral (TN: 15-20°C, 40-45%, THI = 59-65), and 2) heat stress (HS: 12 h at 37°C-40%, THI = 86; 12 h at 30°C-40%, THI = 77). Blood samples were collected at d 35 and RNA was extracted for microarray analyses (Affymetrix GeneChip Bovine Genome Array). The analysis revealed 143 differentially expressed genes. The Dynamic Impact Approach revealed that 31 biological pathways were impacted by HS. Pathways of leukocyte transendothelial migration, hematopoietic cell lineage, and PPAR signaling were negatively impacted by HS, whereas nucleotide metabolism increased. Overall, these changes indicate alteration in the functionality and efficiency of immune cells, which might be linked to a greater immune susceptibility to diseases under HS conditions.

**Keywords:** goats, heat stress, transcriptomics, immune system

## **CERTIFICACIÓN DE LA LECHE CRUDA DE VACA PRODUCIDA EN BASE A PASTOS Y FORRAJES UTILIZANDO MIRNA: RESULTADOS PRELIMINARES.**

Abou El Qassim<sup>1</sup>, L., Zhao<sup>2</sup>, K., Vicente<sup>1</sup>, F., Guan<sup>2</sup>, L.L. y Royo<sup>1</sup>, L.J.

<sup>1</sup>Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). 33300 Villaviciosa (Asturias).

<sup>2</sup>Agriculture and Forestry Center Universidad de Alberta, Edmonton (Canadá).  
lroyo@serida.org

### **INTRODUCCIÓN**

La cornisa Cantábrica y Galicia cuentan con unas condiciones edafoclimáticas que la dotan de una gran capacidad potencial para la producción de pastos y forrajes utilizables para la alimentación del ganado lechero, lo que la diferencia del resto de territorios en España. La producción de leche basada en pastos y forrajes (i) confiere importantes externalidades ambientales positivas (p. ej. fijación de carbono) puestas de relieve en la normativa de la PAC, (ii) se relacionan con un mayor contenido en nutrientes funcionales en la leche producida, (iii) permiten mejorar el margen económico por litro de leche producido, y (iv) son más respetuosos con el bienestar animal, cuestión que los consumidores cada vez dan más importancia. Estos factores dotan a este tipo de producción un carácter estratégico para el futuro del sector lechero que es necesario poner en valor ante la industria y los consumidores.

Los micro-ARN (miRNA) son una familia de moléculas pequeñas de ARN no codificante, que regulan la expresión génica, uniéndose a dianas específicas en el ARN mensajero (Lin et al., 2004). Está demostrado que cambios en la dieta afectan a la expresión génica en la glándula mamaria (Ollier et al., 2009; Bauman et al., 2011), y teniendo en cuenta que los miRNA son reguladores importantes de la expresión génica, parece razonable pensar que perfiles distintos de miRNA en la glándula mamaria pueden estar asociados a cambios en la dieta. Otra de sus características es que son excretados fuera de la célula, estando presente en todos los fluidos biológicos, incluida la leche y que la dieta, el estrés ambiental provocan cambios en sus perfiles, siendo unos buenos candidatos para caracterizar el pastoreo, el bienestar animal y posiblemente también la calidad de la leche (Muroya et al., 2015).

En bovino, se han identificado miRNA tanto en la glándula mamaria como en la leche cruda, demostrándose además que se expresan de modo diferente en cada fracción de la leche: células, grasa y suero (Cánovas et al., 2012; Li et al., 2016). El objetivo de este trabajo es estudiar los perfiles de miRNA en leche cruda de vaca para evaluar su utilización como marcador de certificación de leche producida por vacas alimentadas con pastos y forrajes.

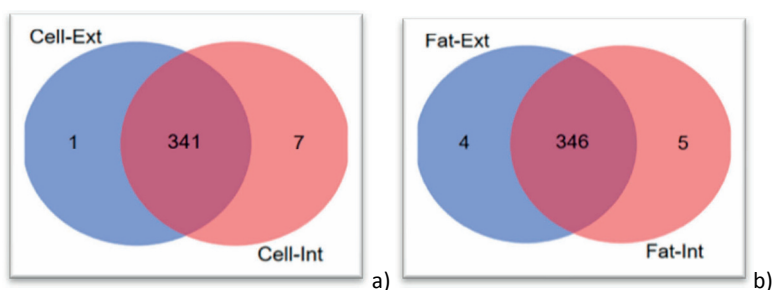
### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se seleccionaron seis explotaciones lecheras en Asturias de entre las caracterizadas por el tipo de alimentación y manejo (Santiago et al., 2016), tres de manejo en extensivo, con alimentación en base a pastos y forrajes y más de 10 horas diarias en pastoreo, y tres de manejo en intensivo, con estabulación permanente y alimentación en base a concentrados. Al final de la primavera de 2016 se muestrearon 500 ml de leche de tanque de cada una de las ganaderías y se transportaron en frío al laboratorio para su tratamiento. El muestreo se hizo en la primavera y en tanque con dos propósitos: a) intentar maximizar las diferencias debidas a alimentación y pastoreo, entendido como factor de estrés y ejercicio, y b) diluir los efectos individuales en la composición de los miRNA, debidos entre otros a la edad y estado de lactación de las vacas. Se centrifugaron las muestras a 4°C durante 20 minutos a 4200xg y se extrajo el ARN total de la fracción de células (fondo del tubo) y de grasa (sobrenadante) utilizando el kit mirvana miRNA Isolation (Ambion). La cantidad e integridad del ARN total de las muestras fue estimada en un Agilent 2100 Bioanalyzer. Se construyeron las librerías de miRNA de cada muestra y se secuenciaron con el sistema Illumina HiSeq2000 system (Illumina).

Basándonos en la frecuencia de las lecturas en la secuenciación se estimaron los niveles de expresión de cada miRNA individual, previamente normalizadas por el número de lecturas por millón, CPM (count per million) = (specificmiRNAreads x 10<sup>6</sup> / total miRNA mapped reads). Solo aquellos miRNA con al menos 1 CPM en al menos dos de las tres muestras de cada sistema se consideraron como expresados. Los miRNA con menos de 1 CPM en todas las muestras (3) de un sistema se considera que no se expresan. Para cada fracción de leche, se identificaron los miRNA específicos de cada sistema de producción y por otro lado los comunes entre sistemas pero de expresión diferencial comparando las medias con un T-test.

## RESULTADOS

En la secuenciación se obtuvieron entre 5 y 8 millones de lecturas en las muestras de células, y unos 2 millones en las muestras de grasa, estando más de la mitad de ellas mapeadas en el genoma bovino. De los miRNA mapeados, 518 y 477 corresponden a células y grasa respectivamente, de ellos 454 los encontramos en las dos fracciones y 64 y 23 son específicos de células y grasa, respectivamente. De entre los miRNA mapeados, se identificaron 349 miRNA en la fracción de células, de los cuales 8 son específicos del sistema de producción: uno en extensivo y siete en intensivo (Figura 1a). De entre los expresados en la grasa, se identificaron 355 miRNA, de los cuales 9 miRNA eran específicos del tipo de producción: cuatro en extensivo y cinco en intensivo (Figura 1b). Al analizar las diferencias entre las medias (T-test) de los miRNA comunes en los dos tipos de producción, se observó que 4 miRNA en células y 2 en la fracción grasa presentaban diferencias de expresión significativas ( $P < 0,05$ ) entre tipos de producción. Finalmente, del total de 23 miRNA identificados que diferencian los dos sistemas de producción, bien por ser específicos de cada fracción, bien porque tienen diferencias de expresión entre sistemas, tan sólo hay uno, el  $\beta$ -miR-369-3p que se encuentra en ambas fracciones.



**Figura 1.** miRNA específicos y comunes de cada sistema (intensivo -Int- vs extensivo -Ext-) en las fracciones de leche (células -Cell- y grasa Fat-).

La fracción extraída de células está compuesta por el ARN de los leucocitos y de las células epiteliales de descamación. En cambio, el ARN de la fracción grasa se corresponde con el contenido en los glóbulos grasos, que contienen parte del citoplasma de las células de descamación y de los exosomas. Nuestros resultados demuestran que los perfiles de miRNA de ambas fracciones son diferentes, más aún cuando nos fijamos en los que diferencian los dos sistemas de producción. Por lo tanto concluimos que las dos fracciones de leche se deben estudiar por separado.

Varios trabajos indican que los miRNA presentes en leche son componentes bioactivos, y que a través de la ingestión pueden llegar a los consumidores y tener un efecto en ellos (Baier et al., 2014; Howard et al., 2015). Es importante destacar que la mayoría de los miRNA presentes en los glóbulos de grasa están encapsulados en exosomas, lo que les confiere tanto mayor protección a la degradación, como facilidad de absorción por endocitosis (Baier et al., 2012).



Aunque los resultados son preliminares ya que aún deben ser validados por qPCR, se han identificado miRNA concretos específicos del sistema de producción, lo que en principio confirma que los miRNA pueden constituir una herramienta útil para caracterizar la leche cruda y poder certificar la producida bajo sistemas de producción diferentes. El estudio de los miRNA expresados de forma diferencial en las distintas fracciones de la leche contribuirá además a analizar la funcionalidad de la leche producida bajo sistemas de producción diferentes.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Baier et al. 2014. The Journal of Nutrition 144: 1495-1500. • Bauman et al. 2011. Annual Review of Nutrition 31: 299-319. • Canovas et al. 2014. Scientific reports 4: 5297. • Howard et al. 2015. Journal of Agricultural and Food Chemistry 63: 588-592. • Li et al. 2016. PlosOne 11: e0154129. • Lin et al. 2004. Nature Reviews Genetics 5: 522-532. • Muroya et al. 2015. Plos One 10: e0136475. • Ollier et al. 2009. Journal of Dairy Science 92:5544-60. • Santiago et al. 2016. Grassland Science in Europe 21: 47-49.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto INIA RTA2014-00086-C03-02, cofinanciado con fondos FEDER. Loubna Abou El Qassim es beneficiaria de una beca CIHEAM/IAMZ.

#### CERTIFICATION OF RAW MILK PRODUCED BASED ON PASTURE AND FODDER USING MIRNA: PRELIMINARY RESULTS.

**ABSTRACT:** The Cantabrian coast and Galicia is characterized by a great potential capacity for the production of grasses and forages that can be used to feed dairy cattle. Strategies are adopted for the sustainable production of bovine milk of differentiated quality (eg products of intensive versus extensive system). The miRNAs are small molecules of non-coding RNA, which regulate gene expression. Moreover it has been shown that dietary changes affect gene expression in the mammary gland, so it seems reasonable that they can be used as markers of the diet intake by cows. Plasma miRNA have also been shown to change due to exercise and stress, then making them candidate markers for grazing and animal welfare. Our aim is to use milk miRNA profiles as markers for dairy production system.

Six dairy farms were sampled: three extensive and three intensive. Total RNA from bulk milk fractions, cells and fat from each sample, was isolated, and miRNA sequenced. Sequencing showed that miRNA expressed in cells (349) and fat (355) are different, being eight and nine specific of one production system. In cells, four miRNA and two in the case of fat, were differentially expressed ( $p < 0.05$ ), depending on the productions system. Even though these results need to be validated by qPCR, miRNA has been shown to be a useful tool for milk characterization and certification. The study of miRNA differentially expressed in milk fractions could help us to understand the functionality of milk produced under different systems.

**Keywords:** milk, miRNA, dairy system, traceability

## **CARACTERIZACIÓN DE FRAGMENTOS DE ARN NO CODIFICANTE LARGOS (lncRNAs) EN LAS CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE EN EL GANADO OVINO EL DÍA 50 DE LACTACIÓN**

Suárez-Vega<sup>1</sup>, A., Gutiérrez-Gil, B. y Arranz, J.J.

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. [asuav@unileon.es](mailto:asuav@unileon.es)

### **INTRODUCCIÓN**

El desarrollo de la secuenciación masiva paralela del transcriptoma (RNA-Seq) ha permitido la detección de una gran cantidad y diversidad de transcritos procedentes de regiones genómicas consideradas hasta ahora como no-codificantes. Entre ellos, se encuentran los denominados RNAs no codificantes largos (lncRNAs), que constituyen un grupo heterogéneo de transcritos cuyas características en común son una longitud superior a 200 pb y un bajo o nulo potencial de codificación para proteínas (Milligan y Lipovich, 2015).

La identificación y caracterización de los lncRNAs ha adquirido gran importancia en los últimos años debido a dos factores principales: (i) constituyen una alta proporción del transcriptoma (hasta dos tercios del transcriptoma en humanos (Marques y Ponting, 2014)) y (ii) su función como reguladores de la expresión génica (Milligan y Lipovich, 2015; Engreitz et al., 2016) actuando como elementos clave en procesos de desarrollo, diferenciación celular y patológicos (Schmitz et al., 2016). Además, en el caso de las especies domésticas, la anotación de los lncRNAs resulta especialmente interesante, ya que la identificación de estos elementos puede ser de gran ayuda para la valoración de mutaciones en partes del genoma que no codifican para proteínas y que pueden estar asociadas con caracteres productivos de interés.

Así pues, y dado que en análisis previos del transcriptoma de la oveja durante la lactación se había identificado un alto porcentaje de transcritos intergénicos (>60%) (Suárez-Vega et al., 2015), nos hemos planteado, como objetivo de este estudio, la identificación de los lncRNAs presentes en la glándula mamaria del ganado ovino en el día 50 de lactación.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para este estudio se han utilizado las muestras de RNA-Seq de un experimento previo realizado por nuestro grupo de investigación correspondientes al día 50 de la lactación. Estas muestras están depositadas en la base de datos *Gene Expression Omnibus* (GEO) con el número de acceso GSE74825. De forma breve, los datos de RNA-Seq proceden de la secuenciación del RNA extraído a partir de las células somáticas de la leche de ocho ovejas, cuatro de raza Churra y cuatro de raza Assaf. Los protocolos de toma de muestras, extracción y secuenciación del RNA se detallan en el artículo de Suárez-Vega et al. (2015).

Las lecturas fueron mapeadas contra el genoma ovino. (OAR\_v.3.1) utilizando el programa *STAR v.2.3.0e* (Dobin et al., 2013). Una vez realizado el mapeo, utilizamos las herramientas de *Samtools v.1.3.1* (Li et al., 2009) para eliminar los duplicados de PCR (*Samtools rmdup*) en cada una de las muestras y para unirlos en un solo archivo sam (*Samtools merge*). El ensamblado de las lecturas mapeadas se realizó con el paquete bioinformático *Cufflinks v.2.2.1* (Trapnell et al., 2010).

La identificación de los lncRNAs se realizó con el programa *FEELnc* (Wucher et al., 2017). Básicamente, este software consta de tres módulos: "*FEELnc\_filter*", "*FEELnc\_codpot*" y "*FEELnc\_classifier*". El primer módulo filtró los transcritos inferiores a 200 pb y/o que concordasen con elementos codificantes presentes en la anotación del genoma ovino OAR: v.3.1. El segundo módulo estimó el potencial codificante (CPS) de cada transcrito y calculó un CPS límite para la identificación de los lncRNAs. El "*FEELnc\_classifer*" clasificó los lncRNAs en función de su localización comparado con el gen anotado más próximo, para este análisis se fijó un rango de ventanas entre 10.000-100.000 pb.

Una vez identificados los lncRNAs y clasificados, se realizó una cuantificación de la expresión de los mismos con *HTSeq-count v.0.6.1p2* (Anders et al., 2014) y la normalización con *DESeq2 v. 1.14.1* (Love et al., 2014).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ensamblado con Cufflinks de las lecturas alineadas a la versión OAR\_v.3.1 del genoma ovino se detectaron un total de 85.712 transcritos. Tras el primer filtrado con “*FEELnc\_filter*”, se obtuvo un archivo con 6.951 transcritos para los cuales se evaluó su CPS con “*FEELnc\_codpot*”. Finalmente, nuestro análisis del transcriptoma de la glándula mamaria de la oveja en plena lactación detectó un total de 4.508 lncRNAs. La herramienta “*FEELnc\_classifier*” identificó 6.126 posibles interacciones de lncRNAs con genes próximos y 548 lncRNAs que no tendrían interacción con ningún gen. Además, el 60,27% de las interacciones resultaron ser intergénicas frente al 39,73% que fueron intragénicas. Esta observación concuerda con estudios previos de los transcriptomas humano y aviar en los que la mayoría de los lncRNAs detectados son intergénicos (Derrien et al., 2012; Muret et al., 2017). La distribución de los lncRNAs por cromosoma, así como la de los RNAs codificantes (mRNAs) anotados en la versión v3.1 del genoma ovino y con expresión en la glándula mamaria de la oveja se muestra en la Figura 1. Aunque la densidad de lncRNAs es menor que la de transcritos codificantes de proteínas en todos los cromosomas; al igual que ocurre en hígado y tejido adiposo en la especie aviar (Muret et al., 2017), se puede apreciar que existe una alta correlación ( $r = 0,82$ ) entre los mRNAs y los lncRNAs detectados en el mismo tejido.

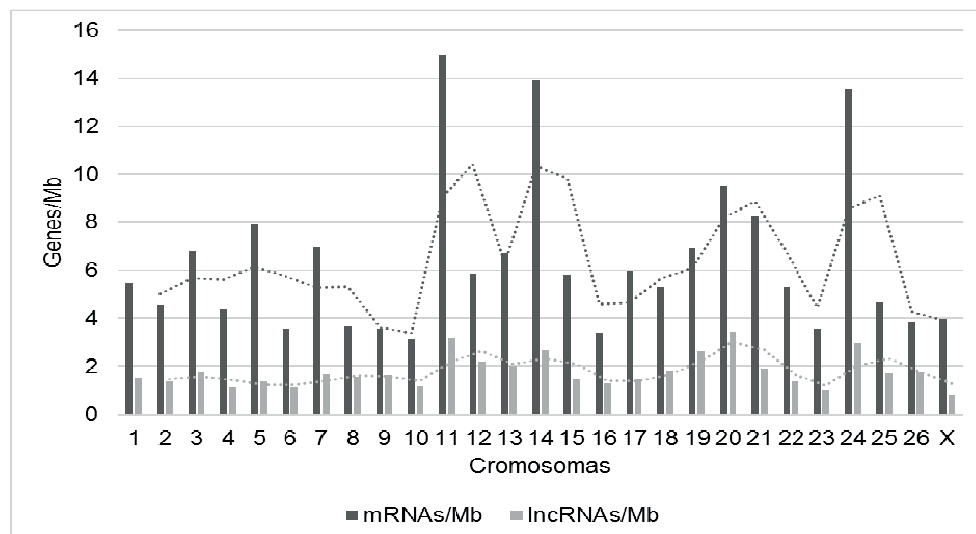
Los cinco lncRNAs más expresados se recogen en la Tabla 1 en la que también se indican la clase a la que pertenecen y los genes con los que podrían tener una posible interacción. El lncRNA más expresado (*CUFF.56836*) está relacionado con la caseína  $\alpha$ -S1, importante constituyente de la leche. El gen *CSN1S1* es a su vez uno de los genes más expresados a lo largo de toda la lactación ( $> 135,000$  FPKMs) en el transcriptoma mamario en análisis (Suárez-Vega et al., 2015). Los lncRNAs *CUFF.37245*, *CUFF.29134* están relacionados con genes del metabolismo lipídico, en concreto con el gen *SCD* que codifica para la esteroil-coA desaturasa y el gen *LPL* que codifica para la lipoprotein lipasa. La expresión de ambos genes en el transcriptoma mamario de la oveja ha sido analizada en un artículo previo que hacía referencia a los genes que podrían influir el rendimiento quesero, teniendo, ambos genes, una expresión elevada ( $> 500$  FPKMs) (Suárez-Vega et al., 2016). El lncRNA *CUFF.64999* está relacionado con el gen *SAT1*, que codifica para la espermidina N1-acetiltransferasa 1. Esta enzima cataliza la acetilación de poliaminas, que son elementos bioactivos de la leche implicados en funciones de diferenciación celular, crecimiento y regulación de la inflamación (Galitsopoulou et al., 2015). El lncRNA *CUFF.23782* se encuentra en relación con el gen *SDS* que codifica para la proteína serina deshidratasa. En relación a esta proteína, Wang et al. (2012) demostraron que la serina deshidratasa es una de las enzimas cuya expresión disminuye significativamente en el ganado vacuno con mastitis.

En resumen, según el presente estudio, la distribución, en términos de densidad de genes, de los lncRNAs y de los RNAs codificantes en la glándula mamaria de la oveja en plena lactación parece ser muy similar. Además, en el análisis de los cinco lncRNAs más expresados se observa la co-expresión de los mismos con genes que codifican para proteínas con funciones relevantes dentro de la glándula mamaria en lactación, lo que corroboraría el papel regulatorio de los lncRNAs en funciones específicas de tejido.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anders, S. et al. 2014. *Bioinformatics*. 31 (2): 166-169.
- Derrien, T. et al. 2012. *Genome Res*. 22 (9): 1775-89.
- Dobin, A. et al. 2013. *Bioinformatics*. 29 (1): 15-21.
- Engreitz, J.M. et al. 2016. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 17 (12): 756-770.
- Galitsopoulou, A. et al. 2015. *Food Chem*. 173 : 80-5.
- Li, H. et al. 2009. *Bioinformatics*. 25 (16): 2078-9.
- Love, M.I. et al. 2014. *Genome Biol*. 15 (12): 550.
- Marques, A.C. & Ponting, C.P. 2014. *Curr Opin Genet Dev*. 27: 48-53.
- Milligan, M.J. & Lipovich, L. 2015. *Front Genet*. 5: 476.
- Muret, K. et al. 2017. *Genet Sel Evol*. 49: 6.
- Schmitz, S.U. et al. 2016. *Cell Mol Life Sci*. 73 (13): 2491-509.
- Suárez-Vega, A. et al. 2015. *Sci Rep*. 5: 18399.
- Suárez-Vega, A. et al. 2016. *J Dairy Sci*. 99 (8): 6381-90.
- Trapnell, C. et al. 2010. *Nat Biotechnol*. 28 (5): 511-515.
- Wang, C. et al. 2012. *Mol Biol Rep*. 39 (7): 7311-8.
- Wucher, V. et al. 2017. *Nucleic Acids Res*. pii: gkw1306.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2015-66035-R del Ministerio de Economía y Competitividad. B. Gutiérrez-Gil es investigadora contratada a través del programa “Ramón y Cajal” del Ministerio de Economía y Competitividad.



**Figura 1.** Densidad por megabase (Mb) y cromosoma de los RNAs codificantes de proteínas (mRNAs) y RNAs no codificantes largos (lncRNAs) expresados en las células somáticas de la leche del ganado ovino el día 50 de lactación.

**Tabla 1.** Características y nivel de expresión de los cinco RNAs no codificantes largos (lncRNAs) con mayor número de lecturas normalizadas en las células somáticas de la leche del ganado ovino el día 50 de lactación.

lncRNA	Gen relacionado	Dirección	Tipo	Subtipo	Media	SD
<i>CUFF.56836</i>	<i>CSN1S1</i>	antisentido	intragénico	contenido	$4,7 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$
<i>CUFF.37245</i>	<i>SCD</i>	antisentido	intragénico	contenido	$6,7 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$
<i>CUFF.64999</i>	<i>SAT1</i>	antisentido	intragénico	contenido	$2,5 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$
<i>CUFF.23782</i>	<i>SDS</i>	antisentido	intragénico	contenido	$2,4 \times 10^4$	$5,1 \times 10^4$
<i>CUFF.29134</i>	<i>LPL</i>	antisentido	intragénico	contenido	$2,0 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$

### CHARACTERIZATION OF LONG NON-CODING RNAs IN OVINE MILK SOMATIC CELLS AT DAY 50 OF LACTATION

**ABSTRACT:** The development of massive parallel sequencing technologies (RNA-Seq) has allowed the discovery of thousands of previously unannotated noncoding functional elements. Among them, the identification and characterization of long noncoding RNAs (lncRNAs) has become a major challenge over the last years due to their putative role as regulators of gene expression. To predict lncRNAs within the sheep lactating transcriptome, we have used RNA-Seq samples from milk somatic cells (MSCs) of eight ewes at mid lactation. In this study, a total of 4.508 lncRNAs and 6.126 interactions with nearby genes were identified. We have observed a high correlation between the densities per megabase and chromosome of the protein-coding RNAs and the lncRNAs detected within the MSCs transcriptome. Moreover, we found that the five highest expressed lncRNAs were related to genes coding for proteins with significant functions in the lactating mammary gland.

**Keywords:** sheep, milk, transcriptome, lncRNAs.

## MODELOS DE EVALUACIÓN GENÓMICA CON DOMINANCIA DIRECCIONAL

Varona, L.<sup>1</sup>, Legarra<sup>2</sup>, A., Herring<sup>3</sup>, W. y Vitezica<sup>2</sup>, Z.G.

<sup>1</sup> Unidad de Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Universidad de Zaragoza. 50013 ZARAGOZA. <sup>2</sup>INRA, UMR GenPhySE, CS52627, 31326 Castanet Tolosan, Francia. <sup>3</sup> PIC North America, 100 Bluegrass Commons Blvd., Suite 2200, Hendersonville, TN, 37075, USA  
lvarona@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

La selección genómica (Meuwissen et al., 2001) se ha constituido como una herramienta de indudable interés en mejora genética animal. Las herramientas habituales para selección genómica consideran los efectos de sustitución de los marcadores SNP, que son capaces de capturar gran parte de los efectos de dominancia e interacciones de mayor orden (Hill et al., 2008). Sin embargo, la estimación de los efectos de dominancia es relevante porque permite diseñar estrategias de diseño de apareamientos (Toro y Varona, 2010).

Los procedimientos de evaluación genómica exigen un proceso de regularización de los efectos asociados a los marcadores, como por ejemplo la asunción de una distribución a priori gaussiana (Su et al., 2012; Vitezica et al., 2013). Esta distribución implica una distribución simétrica de las estimaciones posteriores de los efectos de dominancia. Sin embargo, la teoría clásica de la genética cuantitativa argumenta que la depresión endogámica y la heterosis se deben a la presencia de dominancia direccional (i.e. un mayor porcentaje de efectos de dominancia positivos que negativos).

Esta limitación puede solventarse al menos de dos modos: 1) bajo la asunción de un efecto de dominancia medio distinto de cero (Xiang et al., 2016) o 2) con la utilización de distribuciones asimétricas (Sahu et al., 2003) para la regularización de los efectos de dominancia. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es comparar los resultados de las dos aproximaciones en una base de datos de porcino.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos para este trabajo fueron proporcionados por *Genus plc* (Hendersonville, TN, USA). Los genotipos para todas las cerdas fueron generados mediante el *Illumina PorcineSNP60 BeadChip* (Illumina, San Diego, CA). Después de un control de calidad, se utilizaron 37011 SNP en las poblaciones 1 y 2, respectivamente. El número de cerdas incluidas en el análisis fueron 2612 y con un total de 11581 registros del carácter nacidos vivos, respectivamente. El tamaño medio de camada fue de  $12,40 \pm 3,00$ .

En primer lugar, se define el modelo completo que incluye las dos aproximaciones para la inclusión de dominancia direccional. Posteriormente, fijando a cero alguno de los parámetros se generarán los modelos reducidos. Por lo tanto, el modelo completo (FULL) fue:

$$y = 1\mu + fb + Xt + Wr + Qc + Za + Kd + e$$

donde **y** es el vector de registros fenotípicos,  $\mu$  es la media general, **b** es el parámetro de la depresión por consanguinidad, **t** es un vector con el orden de parto, **r** es un vector del efecto granja-año-estación (3163 –población 1- y 4293 –población 2- niveles), **c** es el vector de efectos ambientales permanentes (3631 y 2612 niveles), **a** y **d** son los vectores de efectos aditivos y dominantes y **e** es el vector de residuos. Además, **f** es el vector de la homocigosidad media individual y **X**, **W**, **Q**, **Z** y **K** son las matrices de incidencia.

Las distribuciones a priori para **b** y cada nivel de **t** son uniformes. Para cada nivel de **r**, **c** and **a** son distribuciones normales univariantes y para cada nivel de **d** son distribuciones normales asimétricas (Sahu et al., 2003):

$$p(\mathbf{d} | \sigma_d^2, \lambda_d) = \prod_{i=1}^{N_{\text{SNP}}} \frac{2}{\sqrt{\sigma_d^2 + \lambda_d^2}} \phi\left(\frac{d_i}{\sqrt{\sigma_d^2 + \lambda_d^2}}\right) \Phi\left(\frac{\lambda_d}{\sigma_d} - \frac{d_i}{\sqrt{\sigma_d^2 + \lambda_d^2}}\right)$$

donde  $\sigma_d^2$  y  $\lambda_d$  son la varianza de los efectos dominantes y el parámetro de asimetría, respectivamente. Finalmente, las distribuciones a priori de los componentes de varianza y del parámetro de asimetría fueron uniformes. Partiendo de este modelo completo, se describieron los siguientes modelos reducidos:

- Modelo SC: En este modelo el parámetro de asimetría se fijó a cero. Por lo tanto, el modelo es equivalente al propuesto por Xiang et al. (2016).
- Modelo AN: En este modelo el parámetro de la depresión por consanguinidad ( $b$ ) se fijó a cero.
- Modelo SN: Se fijan a cero tanto el parámetro de asimetría como el de depresión por consanguinidad. Este modelo es equivalente al propuesto por Su et al. (2012).

Además de los parámetros incluidos en el modelo, se estimaron la depresión endogámica esperada para una consanguinidad de  $F=0.10$  ( $I_D$ ) y las varianzas aditivas y de dominancia y sus ratios sobre la varianza total ( $h^2$  y  $d^2$ ). Para ello se utilizaron los valores de los efectos aditivos y dominantes en cada iteración junto con las frecuencias alélicas brutas obtenidas en la población.

La implementación se realizó mediante muestreo de Gibbs (Gelfand y Smith, 1990) con un total de 100.000 iteraciones después de descartar las primeras 25.000. El muestro de los elementos de  $\mathbf{d}$ , exige la definición de una variable auxiliar (Varona et al., 2008) distribuida mediante una distribución normal truncada.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan en la Tabla 1. En ella se puede observar como existe una evidencia clara de dominancia direccional, como se muestra en los parámetros de asimetría bajo el modelo AN y de depresión por consanguinidad bajo el modelo SC. Los resultados de estos dos parámetros bajo el modelo completo (FULL) mostraron mucha mayor dispersión, indicando cierto grado de confusión estadística entre ellos. De hecho, la correlación posterior entre las muestras del muestro de Gibbs fue de -0,90.

Pese a todo, la estimación de la potencial depresión endogámica fue similar bajo los modelos AN, SC y FULL, mientras que el modelo SN proporciono estimaciones inferiores, ya que no considera la dominancia direccional y por lo tanto infraestima la depresión endogámica.

Las estimaciones de los componentes de la varianza también fueron diferentes entre modelos. Si se toma el modelo SN como punto de partida, la inclusión de la covariada con la homocigosidad media redujo la varianza de los efectos dominantes, mientras que la asunción de una distribución asimétrica la incrementó. La causa de este fenómeno se debe a la naturaleza de las distribuciones asimétricas que se asumieron (Sahu et al., 2003). En este sentido, en un futuro se pretende explorar distribuciones asimétricas alternativas. Esta relación entre los estimadores de la varianza de los efectos de dominancia se contrarrestó con las diferencias en el componente de varianza permanente individual, que fue mayor con el modelo SC y más reducido con el modelo AN.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gelfand, A. E. & Smith, A. F. M. 1990. Journal of American Statistical Association 85:398-409.
- Hill, W. G., Goddard, M. E. & Visscher, P. M. 2008. Plos Genetics 4:e1000008
- Meuwissen, T. H. E., Hayes, B. J. & Goddard, M. E. 2001. Genetics 157:1819-1829
- Sahu, S. K., Dey, D. K. & Branco, M. D. 2003. The Canadian Journal of Statistics 31:129-150
- Su, G., Christensen, O. F., Ostensen, T., Henryon, M. & Lund, M. S. 2012. Plos ONE 7:e45293
- Toro, M. A. & Varona, L. 2010. Genet. Sel. Evol. 43:33
- Varona, L., Ibanez-Escriche, N., Quintanilla, R., Noguera, J. L. & Casellas, J. 2008. Genetics Research 90:179-190
- Vitezica, Z. G., Varona, L. & Legarra A. 2013. Genetics 195:1223-1230.
- Xiang, T., Christensen, O. F., Vitezica, Z. G. & Legarra, A. 2016. Genet. Sel. Evol. 48:92

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto *INRA-SELGEN EpiSel* (AL y ZV) y el proyecto CGL2016-80155 del Ministerio de Economía y Competitividad (LV). Los autores agradecen a Genus plc (Hendersonville, TN, USA) la disponibilidad de los datos fenotípicos y genotípicos.

**Tabla 1.** Estimaciones posteriores de los componentes de varianza, parámetro de asimetría, depresión endogámica y ratios de varianza aditiva y de dominancia.

	MODELO			
	SN	AN	SC	FULL
$\sigma_a^2$ ( $\times 10^{-4}$ )	0,653 (0,079)	0,601 (0,082)	0,718 (0,090)	0,635 (0,087)
$\sigma_d^2$ ( $\times 10^{-4}$ )	0,488 (0,151)	0,922 (0,174)	0,254 (0,156)	0,857 (0,357)
$\sigma_c^2$	0,294 (0,058)	0,295 (0,060)	0,298 (0,063)	0,296 (0,060)
$\sigma_r^2$	0,560 (0,115)	0,366 (0,110)	0,654 (0,119)	0,390 (0,158)
b	-	-	6,540 (2,200)	0,551 (6,311)
$\lambda_d$ ( $\times 10^{-3}$ )	-	0,263 (0,094)	-	0,226 (0,224)
$\sigma_e^2$	6,635 (0,109)	6,636 (0,109)	6,629 (0,111)	6,634 (0,109)
$I_D$	0,087 (0,047)	0,299 (0,078)	0,247 (0,074)	0,277 (0,082)
$V_A$	1,108 (0,121)	1,171 (0,168)	1,159 (0,124)	1,189 (0,166)
$V_D$	0,759 (0,234)	1,456 (0,278)	0,452 (0,244)	1,400 (0,489)
$h^2$	0,116 (0,012)	0,118 (0,015)	0,126 (0,012)	0,121 (0,014)
$d^2$	0,081 (0,023)	0,146 (0,024)	0,049 (0,025)	0,134 (0,043)

$\sigma_a^2$  y  $\sigma_d^2$  son las varianzas de los efectos aditivos y dominantes de los SNP,  $\sigma_c^2$  es la varianza de los efectos granja-año-estación,  $\sigma_r^2$  es la varianza de los efectos individuales permanentes,  $\sigma_e^2$  es la varianza residual, b es la covariada con la heterocigosidad individual,  $\lambda_d$  es el parámetro de asimetría para los efectos dominantes,  $I_D$  es la depresión endogámica,  $V_A$  y  $V_D$  son la varianzas aditivas y de dominancia, y  $h^2$  y  $d^2$  son la heredabilidad y el cociente de varianza de dominancia.

## GENOMIC EVALUATION WITH DIRECTIONAL DOMINANCE

**ABSTRACT:** Most of the statistical procedures for genomic evaluation are associated with the statistical problem of large p, small n, because the number of parameters to estimate is larger than the number of data. The most frequent approach to solve this problem is the use to some kind of regularization of SNP markers effects. Most of these procedures involve symmetric distributions, which is a reasonable prior for the additive genetic effects. However, symmetric prior distributions are in conflict with the traditional approaches for heterosis and inbreeding depression, when they are assumed for dominant effects. Two possible alternatives can be outlined: 1) the assumption of an a priori mean of dominance effects different from zero and 2) the use skewed distributions for regularization of dominance effects. Here we used both alternatives with a pig database. Both approaches provide clear evidence of directional dominance and lead to similar estimates of inbreeding depression. However, the distribution of the variance between the dominance effects and the permanent environmental effects were clearly different between models.

**Keywords:** Genomic selection, directional dominance, pig, litter size

## ANÁLISIS DE LA MORTALIDAD DE LOS LECHONES MEDIANTE UN MODELO BINOMIAL RECURSIVO EN UN CRUCE DIALELICO ENTRE ESTIRPES DEL CERDO IBÉRICO

Varona<sup>1</sup>, L., Ibañez-Escriche<sup>2,3</sup>, N., Magallón<sup>4</sup>, E. y Noguera<sup>2</sup>, J. L.

<sup>1</sup>Unidad de Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Universidad de Zaragoza. Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2). 50013. Zaragoza. <sup>2</sup>IRTA, Genètica i Millora Animal, Lleida. <sup>3</sup>The Roslin Institute, Edinburgh University, UK. <sup>4</sup>INGA FOOD S.A. C/ Baleares SN, Zaragoza. lvarona@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

La mortalidad de los lechones es un carácter muy importante en producción porcina desde las perspectivas de producción y bienestar animal. Sin embargo, su modelización estadística presenta dificultades a causa de su carácter categórico y alejado de la distribución normal. En este sentido, Varona y Sorensen (2010) estudiaron el grado de ajuste de varias distribuciones (*Poisson*, Binomial y Binomial Negativa), tanto en sus versiones habituales como en su versión de cero inflado. El resultado de este trabajo fue que el modelo más apropiado resultó ser la distribución binomial, que modeliza la probabilidad de supervivencia a partir de una aproximación *logit*.

Sin embargo, una limitación para la aplicación de este tipo de modelos surge de la dificultad para modelizar relaciones entre caracteres y, en el caso de la mortalidad, es esperable la relación con el carácter tamaño de camada. En este sentido, Varona y Sorensen (2014) propusieron la utilización de modelos recursivos (Gianola y Sorensen, 2004; Varona et al., 2007), tanto lineales como no lineales.

En este trabajo se pretende utilizar este modelo binomial recursivo para obtener estimadores de los efectos directos y maternos de cada estirpe, en un cruce dialélico completo entre tres estirpes de cerdo Ibérico, así como el efecto de la heterosis entre ellas, a partir del modelo de Dickerson (1969) integrado dentro de un modelo binomial recursivo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y diseño experimental:** Los datos utilizados en este estudio se han generado en un cruce dialélico entre tres estirpes comerciales de cerdo ibérico, reconocidas en el libro genealógico (AECERIBER): Entrepelado (EE), Retinto (RR) y Torbiscal (TT) y por sus cruces recíprocos. Los datos se obtuvieron durante el periodo 2009-2015. Se han analizado datos de mortalidad y tamaño de camada de 10,936 camadas distribuidas el siguiente modo: EE (1164 camadas correspondientes a 365 madres, ER (674 de 247), ET (526 de 172), RE (255 de 86), RR (2971 de 645), RT (1597 de 402), TE (96 de 34), TR (1537 de 359) y TT (2116 de 448). La media del tamaño de camada fue de  $8,16 \pm 2,3$  y la del número de lechones muertos de  $0,31 \pm 0,82$ .

**Análisis estadístico:** La distribución condicional del número de lechones muertos sigue la siguiente función:

$$f(\mathbf{y}|\mathbf{t}, \phi) = \prod_{i=1}^N \binom{t_i}{y_i} \phi_i^{y_i} (1 - \phi_i)^{t_i - y_i}$$

donde  $\mathbf{y}$  es el vector de datos,  $\mathbf{t}$  es el vector de datos de tamaño de camada y  $\phi$  es el vector del *logit* de la probabilidad de nacer muerto. Además, se asumen los siguientes modelos lineales:

$$\log it \phi = \mathbf{Xb}_l + \mathbf{Zu}_l + \mathbf{Zp}_l + \lambda_1 \mathbf{t} + \lambda_2 \mathbf{t}^2$$
$$\mathbf{t} = \mathbf{Xb}_t + \mathbf{Zu}_t + \mathbf{Zp}_t + \mathbf{e}$$

donde  $\mathbf{b}$  son los efectos sistemáticos (población, orden de parto, rebaño-año-estación y tipo genético del padre) para el *logit* de mortalidad ( $l$ ) y el tamaño de camada ( $t$ ),  $\mathbf{u}$  son los efectos genéticos aditivos,  $\mathbf{p}$  son los efectos permanentes de camada, y  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son los parámetros de recursividad. Se asumieron distribuciones *a priori* normales multivariantes para los efectos genéticos aditivos y permanentes, y uniformes para los



efectos sistemáticos, componentes de varianza y parámetros de recursividad. El modelo se implementó mediante muestreo de *Gibbs*, con un paso metrópolis-*Hastings* para el *logit* de la probabilidad. Se utilizó una única cadena de 250.000 iteraciones después de descartar las primeras 50.000.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las medias y desviaciones típicas de los componentes de la varianza, de las correlaciones genéticas, y entre efectos permanentes. En ella, se muestra que existe variación genética tanto para la mortalidad (0,246) como para el tamaño de camada (0,433). Es relevante que tanto la correlación genética como la correlación entre efectos permanentes sean negativas, pero debe tenerse en cuenta que el carácter mortalidad está condicionado al tamaño de camada a partir de la función recursiva que se presenta en la Figura 1. En ella se puede observar como la mortalidad permanece constante hasta aproximadamente 10 lechones y se incrementa de manera exponencial a partir de ese valor. Este resultado es similar al obtenido por Varona y Sorensen (2014) para poblaciones Landrace y Yorkshire, aunque en estas poblaciones el incremento de mortalidad tuvo lugar a partir de valores más elevados de tamaño de camada. Una posible interpretación es que, dada la base genética del cerdo ibérico y en las condiciones de producción de las poblaciones, el límite de tamaño de camada razonable para que no se incremente la mortalidad se situaría entre los 10 y 11 lechones por camada.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de los efectos directos y maternos asociados a las estirpes para tamaño de camada y mortalidad. Los resultados de tamaño de camada son similares a los obtenidos en el trabajo de Noguera et al. (2016), aunque el modelo de análisis incluyó componentes de varianza específicos por población. Respecto a la mortalidad, es destacable el efecto directo de la línea EE, que implica un número menor de nacidos muertos, y que los efectos de los tres componentes de heterosis son beneficiosos y ocasionan una reducción en la cantidad de nacidos muertos. Si se observan los resultados de la Figura 2, la población con mejores resultados de mortalidad es la EE pura, mientras que las otras dos poblaciones en pureza (RR y TT) dan lugar a los peores resultados. Por otra parte, los resultados de todas las poblaciones cruzadas son similares y con valores cercanos a los de la población EE en pureza.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dickerson, G. E. 1969. Anim. Breed. Abstract 37:191-202
- Gianola, D. & Sorensen, D. 2004. Genetics 167: 1407-1424.
- Noguera, J.L. et al. 2016. En: Reunión Nacional sobre Mejora Genética Animal.
- Varona, L. & Sorensen, D. 2010. Genetics 184: 277-284.
- Varona, L. & Sorensen, D. 2014. Genetics 196: 643-651.
- Varona, L. et al., 2007. Genetics 177:1791-1799.

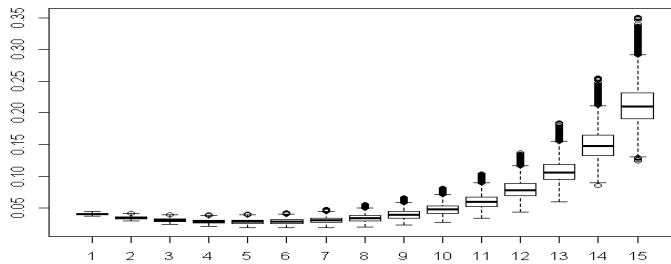
**Agradecimientos:** Financiado parcialmente por CDTI (IDI-20140447) y MINECO (CGL2016-80155-R). Los autores expresan su agradecimiento a la empresa Inga Food S. A. y a sus veterinarios participantes en el experimento: M. Ramos, M.J. García, L. Muñoz, P. Díaz y J. P. Rosas (IRTA)

**Tabla 1.** Media y desviaciones típicas de los componentes de varianza aditivos ( $VA_i$  y  $VA_m$ ), permanentes ( $VP_i$  y  $VP_m$ ) y las correlaciones entre ellos ( $r_a$  y  $r_p$ ).

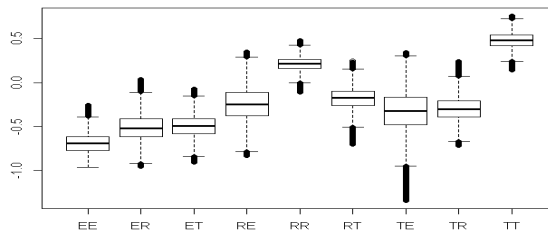
	$VA_i$	$VA_m$	$r_a$	$VP_i$	$VP_m$	$r_p$	VE
Media	0,246	0,433	-0,222	0,752	0,355	-0,252	4,223
DT	0,061	0,078	0,175	0,076	0,065	0,100	0,066

**Tabla 2.** Medias y desviaciones típicas posteriores de los efectos directos ( $L_E$ ,  $L_R$  y  $L_T$ ) y maternos ( $M_E$ ,  $M_R$  y  $M_T$ ) de las estirpes y de los efectos de heterosis ( $H_{ER}$ ,  $H_{ET}$ ,  $H_{RT}$ ) para tamaño de camada y el logit de la probabilidad de nacer muerto.

	$L_E$	$L_T$	$L_R$	$M_E$	$M_T$	$M_R$	$H_{ET}$	$H_{ER}$	$H_{RT}$
Tamaño de Camada									
Media	-0,06	-0,49	0,55	0,28	0,00	-0,28	0,84	0,29	0,50
DT	0,21	0,18	0,17	0,12	0,11	0,09	0,18	0,15	0,11
Logit de la probabilidad de nacer muerto									
Media	-0,83	0,49	0,34	0,14	-0,01	-0,13	-0,32	-0,14	-0,58
DT	0,17	0,16	0,14	0,13	0,13	0,10	0,18	0,14	0,08



**Figura 1.** Boxplot del efecto de recursividad del tamaño de camada sobre la probabilidad de nacer muerto tomando como base un probabilidad de 0,05.



**Figura 2.** Boxplot de la distribución posterior del tipo genético para el logit de la probabilidad de nacer muerto

#### ANALYSIS OF PIGLET MORTALITY USING A RECURSIVE BINOMIAL MODEL IN A DIALLELIC CROSS BETWEEN THREE IBERIAN STRAINS.

**ABSTRACT:** We have estimated the genetic and crossbreeding parameters for piglet mortality using a binomial recursive model with litter size, in a diallelic cross between three Iberian strains (Entrepelado -EE-, Retinto -RR- and Torbiscal -TT-). The results of the study indicated that there is enough genetic variation for selection to reduce piglet mortality. Moreover, substantial differences between strains and crosses were reported. The EE population had the lower piglet mortality closely followed by all the crossed populations (ER, ET, RE, RT, TE, TR). The pure RR and TT were the worst lines. The estimates of crossbreeding parameters detected a relevant direct effect in the EE line and the positive (less mortality) effect of heterosis in the crosses between all populations.

**Keywords:** Pigs, Mortality, Binomial Mixed Model, Recursive Models

## EFFECTOS GENÉTICOS SOCIALES EN CARACTERES PRODUCTIVOS Y DE COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO EN CERDOS DUROC EN CRECIMIENTO

Herrera<sup>1</sup>, W., Ragab<sup>1</sup>, M. y Sánchez<sup>1</sup>, J. P.

<sup>1</sup>Genética y Mejora Animal, IRTA, Torre Marimon, Caldes de Montbui, 08140. Barcelona, España. [william.herrera@irta.cat](mailto:william.herrera@irta.cat)

### INTRODUCCIÓN

Los cerdos alojados en grupo muestran entre sí interacciones sociales. Los efectos de estas interacciones influyen sobre el comportamiento alimentario y la eficiencia productiva (Nielsen et al., 1995). Estos efectos pudieran cambiar la magnitud de la respuesta esperada a la selección (Ellen et al., 2014). La consideración de estos factores en las evaluaciones genéticas supone que el fenotipo de un animal se define como la suma del efecto genético directo del propio animal y el efecto genético social de los compañeros del grupo (Griffing, 1967; Wade, 2008). Además, se sabe que los caracteres de comportamiento presentan correlaciones medias-altas, tanto fenotípicamente como genéticamente, con los caracteres productivos en porcinos, vacunos y ovinos (Labroue et al., 1997; Young et al., 2011). En el presente trabajo se estudiaron caracteres relacionados con el comportamiento alimentario y caracteres de crecimiento en cerdos Duroc. Para ello, se emplearon modelos animales y de interacción social bivariados (Muir, 2005) con el objetivo de cuantificar el determinismo genético de los factores directos y sociales implicados en estos caracteres, así como la relación genética entre ellos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Los animales de este estudio proceden de una línea maternal (Duroc) de la empresa Batallé. Se estudiaron los datos productivos (Ganancia media diaria (GMD), consumo medio diario (CMD), índice de conversión alimenticia (ICA) y grasa dorsal (GD) a los 180 días de edad) y de comportamiento alimentario (Promedio diario de velocidad de ingesta (TA), tiempo total diario de ocupación del comedero (TO), número total de visitas diarias al comedero (VC) y promedio diario del intervalo entre comidas (IC)) de 663 individuos, distribuidos en 57 corrales de las instalaciones experimentales del IRTA. El pedigrí asociado incluyó 5013 registros. Los caracteres de consumo y comportamiento fueron obtenidos a partir de las bases de datos generadas por alimentadores electrónicos automatizados IVOG<sup>®</sup> (Insentec, Marknesse, The Netherland).

**Análisis estadístico:** se emplearon dos modelos lineales animales bivariados con los mismos efectos sistemáticos: el lote (6 niveles) y tres covariables: la edad inicial: 71,48 ± 7,09 días, la edad final: 175,3 ± 11,95 días y el número de cerdos por corral: 11,9 ± 1,65 animales por corral). Los dos modelos particularmente considerados fueron:

**Modelo animal tradicional (MA):** en este modelo se incluyeron el efecto corral (57 niveles) y el efecto genético aditivo como efectos aleatorios. Dentro de carácter, todos los factores se asumieron independientes.

**Modelo animal con efectos sociales (MAS):** en este modelo, además de los mismos factores que los del modelo MA, se incluyen los efectos genéticos sociales, asumiendo que la interacción entre animales de diferente corral será nula y que es constante entre todas las parejas de animales de un mismo corral (Muir, 2005). Con estos modelos, dentro de carácter, todos los factores se asumieron independientes, excepto los efectos genéticos directos y sociales que se asumieron correlacionados. En estos modelos el parámetro que se considera para caracterizar lo que supone la varianza genética total sobre la varianza fenotípica es  $T^2$ , cuyos componentes fueron definidos por Duijvesteijn et al. (2012). Los parámetros de este modelo se estimaron mediante un procedimiento bayesiano utilizando el programa gibbs1f90 de Misztal et al. (2002). Se obtuvieron 1.000.000 de muestras de cada parámetro, descartándose las primeras 300.000; posteriormente se guardaron 1 de cada 10 muestras. Se empleó el DIC como criterio de comparación entre los modelos (Spiegelhalter et al., 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estimas de heredabilidad obtenidas con el modelo MA (Tabla 1) para los caracteres productivos se encuentran dentro del rango de heredabilidades obtenidas en otros estudios de ésta línea (Tibau et al., 1999) y otras líneas parecidas (Do et al., 2013). Todas las estimas de las heridabilidades fueron altas (0,4-0,6) excepto ICA que fue algo más baja (0,25). Los cocientes entre la varianza del efecto genético directo y la varianza fenotípica obtenidos con el modelo MAS son similares a las estimas de heredabilidad del modelo MA. Bajo el modelo MAS, los cocientes de la varianza genética total y la varianza fenotípica ( $T^2$ ) fueron claramente diferentes a las estimas de  $h^2$  con el modelo MA como consecuencia del papel que para todos los caracteres juegan las interacciones sociales. En cuanto a la comparación entre modelos basados en la calidad de ajuste utilizando el DIC como parámetro de comparación, los resultados claramente apuntan a una superioridad del modelo MAS sobre el modelo MA para todos los caracteres. En este estudio, lo mismo que en otros previos (Bergsma et al., 2008; Chen et al., 2009; Bouwman et al., 2010; Hsu et al., 2010), los errores de estimación de las correlaciones directas-sociales dentro de carácter (Tabla 1), en general, no permiten definir el signo de estas correlaciones con precisión. Únicamente para IC y TO parece existir una correlación claramente negativa. En cuanto a las relaciones entre caracteres de comportamiento y productivo, únicamente para los efectos directos de TO se aprecian correlaciones sistemáticas y claras con los caracteres productivos, 0,34 (0,14), 0,61 (0,18) y 0,38 (0,09) con GMD, CMD y GD, respectivamente. Las correlaciones estimadas entre efectos genéticos directos para los caracteres productivos fueron positivas y medias-altas, sólo la que implicaba a ICA y GMD parece ser baja (Tabla 2). Las correlaciones entre efectos genéticos sociales para caracteres productivos fueron positivas y medias-altas, incluso entre ICA y GMD (0,51), lo que pudiera sugerir que parte de la correlación genética positiva que el modelo MA parece mostrar entre estos dos caracteres tiene su origen en la interacción social. La correlación estimada entre el efecto genético social para GD y el efecto genético directo para GMD fue negativa (-0,8). Esta relación sería favorable si el propósito de mejora fuese incrementar GMD mientras se quiere hacer disminuir GD. Las correlaciones entre estos dos caracteres tanto sociales como directas parecen claramente desfavorables (0,64 y 0,55), similares a la correlación genética obtenida con el modelo MA (0,64). Por lo tanto, considerando los modelos sociales se pueden observar componentes de la relación entre los caracteres con un signo favorable para la mejora conjunta. A pesar de esto, el objetivo indicado pudiera seguir siendo difícil de alcanzar pues algunos parámetros implicados siguen mostrando un signo desfavorable y para otros -correlaciones directo-social dentro de carácter- el signo no se ha podido definir con precisión, aunque esto pudiera ser un indicio de que son correlaciones de baja magnitud.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bergsma, R. 2008. *Genetics* 178: 1559-1570.
- Bouwman, A.C. 2010. *J. Anim. Sci.* 8: 2883-2829.
- Chen, C.Y. 2009. *J. Anim. Sci.* 87: 844-849.
- Do, D.N. 2013. *J. Anim. Sci.* 91: 4069-4079.
- Duijvesteijn, N. 2012. *J. Anim. Sci.* 90: 2465-2475.
- Ellen, E.D. 2014. *Poult. Sci.* 87: 233-239.
- Griffing, B. 1967. *Aust. J. Biol. Sci.* 10: 127-139.
- Hsu, W.L. 2010. *J. Anim. Sci.* 88: 895-902.
- Labroue, F. 1985. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 71: 229-239.
- Misztal, I. 2002. In: *Proc 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Montpellier, France. P. 28-07.
- Muir, W. 2005. *Genetics* 170: 1247-1259.
- Nielsen, B.L. 1995. *Livest. Prod. Sci.* 44: 73-85.
- Spiegelhalter, D.J. 2002. *J. Roy. Statist. Sco. Series B* 64(4): 583-639.
- Tibau, J. 1999. *ITEA*. 20: 333-335.
- Young, J.M. 2011. *J. Anim. Sci.* 89: 639-647.
- Wade, M. J. 1977. *Evolution*, 31: 134-153.

**AGRADECIMIENTOS:** Personal del CAP del IRTA y Selección Batallé. Financiado por los proyectos Feed-a-gene (H2020) y RTA2014-00015-C2-01. Se han usado datos generados en el proyecto RTA2011-00064-00-00.

**Tabla 1.** Descripción de las heredabilidades de los caracteres de producción y los caracteres de comportamiento utilizando los modelos MA y MAS

	MA		$T^2 = \frac{\sigma_{VGT}^2}{\sigma_P^2}$	MAS	
	$h^2$	DIC		cor ( $a_D, a_S$ )	DIC
GMD (hg)	0,46(0,15)	1405,77	0,52(0,27)	-0,54(0,41)	1325,14
CMD (hg)	0,47(0,12)	2829,62	0,77(0,42)	-0,19(0,60)	2779,81
ICA (CMD/GMD)	0,25(0,09)	2515,12	1,12(0,54)	0,37(0,55)	2501,91
GD (mm)	0,59(0,12)	3108,39	0,77(0,33)	-0,13(0,61)	3053,34
TA (g/min)	0,43(0,09)	5206,21	0,69(0,32)	-0,007(0,64)	5190,87
TO (min)	0,39(0,10)	4733,36	0,27(0,22)	-0,83(0,25)*	4689,01
VC (visitas)	0,46(0,10)	2858,88	1,17(0,62)	-0,03(0,55)	2812,59
IC (h)	0,41(0,09)	1642,93	0,40(0,31)	-0,64(0,34)*	1601,79

$h^2$ : heredabilidad,  $\sigma_{VGT}^2$ : varianza genética total,  $\sigma_P^2$  varianza fenotípica, cor ( $a_D, a_S$ ): Correlación genética entre efectos genéticos directos y sociales. DIC: criterio de comparación entre modelos. \*Probabilidad superior a 0,95 o inferior a 0,05 de que el valor sea mayor que cero.

**Tabla 2.** Correlaciones entre los efectos genéticos directos (Triangular superior) y sociales (Triangular inferior) y entre los efectos directos y sociales, para los caracteres de producción más relevantes empleando el modelo MAS.

	Social-Social (T. inferior) & Directo-Directo (T. superior)				Directo (filas) - Social (columnas)			
	GMD	CMD	GD	ICA	GMD	CMD	GD	ICA
GMD		0,87(0,05)*	0,55(0,10)*	-0,17(0,12)		-0,13(0,30)	-0,80(0,13)*	0,84(0,05)*
CMD	0,83(0,13)*		0,87(0,05)*	0,43(0,16)*	-0,41(0,41)		-0,34(0,25)	-0,23(0,51)
GD	0,64(0,24)*	0,75(0,17)*		0,75(0,09)*	0,11(0,47)	-0,54(0,40)		-0,2(0,25)
ICA	0,51(0,20)*	0,81(0,27)*	0,63(0,32)		-0,43(0,27)	-0,33(0,32)	0,17(0,37)	

\*Probabilidad superior a 0,95 o inferior a 0,05 de que el valor sea mayor que cero.

## SOCIAL GENETIC EFFECTS ON PRODUCTIVE AND FEEDING BEHAVIOR TRAITS IN GROWTH PERIOD OF DUROC PIGS

**ABSTRACT:** The main objective of this work is to study genetic parameters of production and feeding behavior traits during the fattening period considering social genetic effects using records from 663 Duroc pigs. Our aim is to explore the relevance of considering feeding behavior traits in selection programs and to check whether splitting traditional additive genetic effects into its social and direct genetic components could result in certain configuration of the genetic correlations that might be more favorable to achieve the objective of allowing a reduction of backfat deposition (BF) while increasing growth (ADG) which under the traditional animal model shows an unfavorable magnitude. The only behavioral trait that seems to be correlated with performance traits is OT (occupation time). Social genetic effects are relevant factors for all studied traits. Although certain genetic relationships between ADG and BF using social model could be said to show a favorable sign to achieve the aforementioned selection objective, others parameters still show unfavorable sign and could be difficult to define an index combining direct and social genetic effects to achieve the desired objective.

**Keywords:** Duroc pigs, behavior, heritability, individual system intake.

## ESTIMACIÓN DE LA VARIANZA ADITIVA Y DOMINANTE EN CARACTERES DE CERDO MEDIDOS EN POBLACIÓN PURA Y CRUZADA USANDO G-GIBBS

Tusell<sup>1</sup>, L., Gilbert<sup>1</sup>, H., Vitezica<sup>1</sup>, Z. G., Mercat<sup>2</sup>, M.J., Legarra<sup>1</sup>, A. y Larzul<sup>1</sup>, C.

<sup>1</sup>INRA UMR1388 / INPT ENSAT / INPT ENVT GenPhySE, F-31326 Castanet-Tolosan, Francia, <sup>2</sup>IFIP/BIOPORC, La Motte au Vicomte, 35651 Le Rheu, Francia. [libertat.tusell-palomero@inra.fr](mailto:libertat.tusell-palomero@inra.fr)

### INTRODUCCIÓN

La expresión fenotípica de ciertos caracteres de interés en producción puede estar influenciada por efectos genéticos no aditivos tales como la dominancia, responsable, en parte, de la heterosis existente dentro de línea y en cruzamiento. Incluir la dominancia en las evaluaciones genómicas de estos caracteres podría conllevar a un aumento en la precisión de la estima de los valores de cría a la vez que dar una idea del interés en utilizar informaciones de individuos cruzados para evaluar las líneas puras por su aptitud al cruzamiento. Este estudio tiene por objetivo estimar las contribuciones genéticas aditivas y de dominancia a la varianza fenotípica total de diversos caracteres de crecimiento y eficiencia alimentaria, composición de la canal, calidad de carne, comportamiento e indicadores de olor y madurez sexual medidos en cerdo de raza pura y en cruce.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 636 y 720 lechones macho Piétrain y cruzados Piétrain x Large White, respectivamente, entraron en estación de testaje a las 5 semanas de edad y fueron sacrificados a un peso fijo de 110kg. Durante el periodo de control fueron fenotipados para los siguientes caracteres clasificados en 5 grupos: *i) crecimiento y consumo de alimento*: ganancia de peso diario promedio, índice de conversión, consumo medio diario; *ii) composición de la canal*: espesor del tocino dorsal, espesor del músculo, contenido de magro, tocino dorsal, jamón, panceta, lomo, paletilla; *iii) calidad de carne*: rendimiento canal, pH *semimembranosus*, pH *longissimus dorsi*, pérdidas por goteo; *iv) comportamiento*: número de lesiones al inicio del control (35Kg), número de lesiones al final del control (110kg), lesiones en la canal; *v) indicadores de olor sexual*: niveles de androstenona, escatol e indol; *vi) indicadores de inicio de la pubertad*: niveles de estradiol. Los animales fueron genotipados con el chip de Illumina 60K.

Los fenotipos ( $\mathbf{y}$ ) medidos en individuos puros y cruzados fueron analizados separadamente con el siguiente modelo univariado (Toro y Varona, 2010; Vitezica et al. 2016):  $\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{fb} + \mathbf{u} + \mathbf{v} + \mathbf{e}$ , donde  $\mathbf{X}\boldsymbol{\beta}$  comprende los efectos sistemáticos y los efectos aleatorios no genéticos.  $\mathbf{u} = \mathbf{Z}\mathbf{a}$  y  $\mathbf{v} = \mathbf{W}\mathbf{d}$  son los vectores de efectos genotípicos aditivos y de dominancia con  $cov(\mathbf{u}) = \mathbf{Z}\mathbf{Z}'\sigma_{A^*}^2/\{tr([\mathbf{Z}\mathbf{Z}'])/n\}$  y  $cov(\mathbf{v}) = \mathbf{W}\mathbf{W}'\sigma_{D^*}^2/\{tr([\mathbf{W}\mathbf{W}'])/n\}$ , respectivamente (siendo  $\mathbf{a}$  y  $\mathbf{d}$  los vectores de efectos aditivos y de dominancia de los marcadores,  $\sigma_{A^*}^2$  y  $\sigma_{D^*}^2$  las varianzas genotípicas aditiva y dominante y  $n$  el número de animales).  $\mathbf{Z}$  y  $\mathbf{W}$  son matrices de incidencias con valores de -1, 0, 1 y 0, 1, 0 para los genotipos AA, Aa y aa respectivamente.  $\mathbf{f}$  es un vector de coeficientes de 'consanguinidad' genómica que permite que  $E(\mathbf{d}) = \mathbf{0}$  (Xiang et al., 2016).

A partir de las estimas de  $\sigma_{A^*}^2$  y  $\sigma_{D^*}^2$  obtenidas en raza pura o en la cruce obtenemos la varianza aditiva y dominante de los marcadores como  $\sigma_a^2 = \sigma_{A^*}^2/\{tr([\mathbf{Z}\mathbf{Z}'])/n\}$  y  $\sigma_d^2 = \sigma_{D^*}^2/\{tr([\mathbf{W}\mathbf{W}'])/n\}$ , respectivamente. Estas varianzas junto con las frecuencias alélicas de las poblaciones parentales, nos permiten obtener las varianzas genéticas de los valores de cría y de las desviaciones dominantes para:

*i) la población Piétrain (raza pura):*

$\sigma_{A,PI}^2 = \sum_i^k (2p_{PI,i}q_{PI,i})\sigma_a^2 + \sum_i^k (2p_{PI,i}q_{PI,i}(q_{PI,i} - p_{PI,i})^2)\sigma_d^2$  y  $\sigma_{D,PI}^2 = \sum_i^k (2p_{PI,i}q_{PI,i})^2\sigma_d^2$ . Siendo  $p_{PI,i}$  y  $q_{PI,i}$  las frecuencias alélicas del  $i$ -ésimo SNP ( $i=1, \dots, k$ ) en la población Piétrain.

*ii) la población cruzada:*

$\sigma_{A,CPI}^2 = \sum_i^k (2p_{PI,i}q_{PI,i})\sigma_a^2 + \sum_i^k (2p_{PI,i}q_{PI,i}(q_{LW,i} - p_{LW,i})^2)\sigma_d^2$  y

$\sigma_{A,C,LW}^2 = \sum_i^k (2p_{LW,i}q_{LW,i})\sigma_a^2 + \sum_i^k (2p_{PI,i}q_{PI,i}(q_{LW,i} - p_{LW,i})^2)\sigma_d^2$  son las contribuciones a la varianza genética aditiva de los alelos Piétrain y los alelos Large White a la población cruzada, respectivamente.  $p_{LW,i}$  y  $q_{LW,i}$  son las frecuencias alélicas del  $i$ ésimo SNP en la población Large White. La varianza genética de los valores de cría y de las desviaciones dominantes para la población cruzada se obtienen como:  $\sigma_{A,C}^2 = 0.5\sigma_{A,C,PI}^2 + 0.5\sigma_{A,C,LW}^2$  y  $\sigma_{D,CB}^2 = \sum_i^k (4p_{PI,i}q_{PI,i}p_{LW,i}q_{LW,i})\sigma_{d,CB}^2$ , respetivamente.

Se utilizó el algoritmo de muestreo de Gibbs para inferir los parámetros de interés (400.000 iteraciones, desechándose las 200.000 primeras, guardándose 1 de cada 10 muestras).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Algunos de los caracteres analizados mostraron una cantidad de dominancia relevante en ambas poblaciones (espesor de tocino dorsal, pH) o mayor cantidad en individuos cruzados (porporción de jamón, lomo y rendimiento en la canal) (véase Tabla 1). Estos resultados sugieren que la inclusión de un efecto de dominancia en el modelo de evaluación de estos caracteres podría dar lugar a un aumento en la precisión de las estimas de valores de cría y que, por otro lado, el uso de información de individuos cruzados podría ser beneficioso para evaluar los candidatos a la selección por su rendimiento en cruce.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Toro, M. & Varona, L. 2010. GSE 42: 33. • Vitezica Z.G., Varona L., Elsen M.J., Misztal I., Herring W. & Legarra A. 2016. GSE 48:6. • Xiang T., Christensen O.F., Vitezica Z.G. & Legarra A. 2016. GSE 48:92.

**Agradecimientos:** Estudio financiado por los proyectos UtOplGe ANR-10-GENOM\_BTV-015, SelDir, OptiMaGicS (INRA SelGen metaprogram) y el proyecto Feed-a-Gene (EU H2020 Programme no 633531). Animales proveídos por BIOPORC. Análisis realizados en la plataforma Genotoul Informatics Toulouse Midi-Pyrenees.

**Tabla 1.** Media posterior [HPD<sub>95%</sub>] de los ratios de los componentes de varianza con respecto a la varianza fenotípica total en población Piétrain ( $\sigma_{y,p}^2$ ) y en población cruzada ( $\sigma_{y,c}^2$ ) de los efectos genéticos aditivos y de dominancia en población pura Piétrain ( $h_{A,p}^2$  y  $h_{D,p}^2$ , respectivamente) y en población cruzada ( $h_{A,c}^2$  y  $h_{D,c}^2$ , respectivamente)

Carácter	$h_{A,p}^2$	$h_{A,c}^2$	$h_{D,p}^2$	$h_{D,c}^2$	$\sigma_{y,p}^2$	$\sigma_{y,c}^2$
Ganancia de peso diario promedio	0,206 [0,045,0,345]	0,371 [0,229,0,513]	0,084 [0,005,0,182]	0,083 [0,000,0,197]	8958 [7757,10224]	8483 [7408,9600]
Índice de conversión	0,245 [0,110,0,382]	0,378 [0,235,0,527]	0,092 [0,003,0,204]	0,119 [0,001,0,231]	0,024 [0,021,0,027]	0,021 [0,019,0,024]
Consumo medio diario	0,304 [0,167,0,463]	0,464 [0,312,0,618]	0,058 [0,001,0,143]	0,058 [0,000,0,148]	32606 [28010,37484]	47261 [40897,53640]
Espesor del tocino dorsal	0,444 [0,284,0,597]	0,522 [0,378,0,662]	0,140 [0,011,0,283]	0,124 [0,011,0,236]	3,042 [2,657,3,438]	4,256 [3,734,4,809]
Espesor del músculo	0,337 [0,200,0,481]	0,326 [0,156,0,513]	0,029 [0,000,0,078]	0,064 [0,001,0,149]	28,514 [25,029,32,046]	25,55 [22,48,28,81]
Contenido de magro	0,596 [0,452,0,730]	0,574 [0,439,0,709]	0,106 [0,006,0,216]	0,089 [0,003,0,190]	3,217 [2,777,3,659]	3,721 [3,281,4,168]
Tocino dorsal <sup>1</sup>	0,574 [0,425,0,718]	0,563 [0,426,0,687]	0,038 [0,000,0,105]	0,072 [0,000,0,167]	0,726 [0,633,0,825]	0,872 [0,770,0,973]
Jamón <sup>1</sup>	0,461 [0,301,0,620]	0,430 [0,299,0,568]	0,085 [0,002,0,196]	0,135 [0,000,0,262]	1,125 [0,982,1,283]	0,908 [0,803,1,020]
Panceta <sup>1</sup>	0,334 [0,184,0,491]	0,129 [0,030,0,236]	0,093 [0,002,0,212]	0,070 [0,000,0,154]	1,281 [1,116,1,464]	1,343 [1,170,1,534]
Lomo <sup>1</sup>	0,399 [0,247,0,560]	0,318 [0,190,0,447]	0,074 [0,002,0,175]	0,162 [0,009,0,288]	1,683 [1,459,1,921]	1,813 [1,603,2,028]
Paletilla <sup>1</sup>	0,168 [0,052,0,284]	0,248 [0,133,0,374]	0,073 [0,001,0,171]	0,097 [0,000,0,206]	1,035 [0,900,1,182]	0,984 [0,868,1,103]
Rendimiento canal	0,413 [0,267,0,556]	0,466 [0,307,0,622]	0,050 [0,000,0,142]	0,146 [0,009,0,281]	1,464 [1,279,1,653]	1,292 [1,137,1,451]

pH <i>semimembranosus</i>	0,250 [0,111,0,392]	0,317 [0,194,0,445]	0,126 [0,001,0,280]	0,182 [0,044,0,315]	0,031 [0,027,0,035]	0,033 [0,029,0,037]
pH <i>longissimus dorsi</i>	0,330 [0,187,0,483]	0,317 [0,181,0,448]	0,086 [0,000,0,215]	0,138 [0,011,0,257]	0,017 [0,015,0,019]	0,022 [0,020,0,025]
Pérdidas por goteo	0,516 [0,377,0,648]	0,193 [0,067,0,330]	0,054 [0,000,0,150]	0,068 [0,000,0,163]	5,908 [5,167,6,708]	3,401 [3,025,3,796]
Lesiones inicio control <sup>2</sup>	0,128 [0,040,0,235]	0,139 [0,058,0,232]	0,087 [0,003,0,186]	0,077 [0,007,0,151]	0,873 [0,728,1,037]	0,671 [0,554,0,791]
Lesiones final control <sup>2</sup>	0,141 [0,040,0,245]	0,074 [0,025,0,132]	0,045 [0,001,0,115]	0,026 [0,000,0,071]	0,846 [0,679,1,031]	0,845 [0,684,1,027]
Lesiones en la canal	0,262 [0,122,0,409]	0,264 [0,131,0,404]	0,090 [0,001,0,212]	0,097 [0,000,0,214]	0,587 [0,517,0,662]	0,759 [0,674,0,848]
Androstenone <sup>2</sup>	0,375 [0,229,0,524]	0,541 [0,407,0,677]	0,055 [0,000,0,144]	0,130 [0,000,0,262]	0,314 [0,275,0,353]	0,350 [0,309,0,394]
Escatol <sup>2</sup>	0,139 [0,040,0,248]	0,271 [0,121,0,428]	0,084 [0,002,0,194]	0,061 [0,000,0,155]	0,162 [0,143,0,181]	0,270 [0,240,0,302]
Indol <sup>2</sup>	0,463 [0,329,0,598]	0,071 [0,010,0,158]	0,201 [0,035,0,370]	0,022 [0,000,0,072]	0,123 [0,107,0,139]	0,114 [0,102,0,126]
Estradiol <sup>2</sup>	0,152 [0,037,0,265]	0,209 [0,084,0,339]	0,064 [0,000,0,161]	0,106 [0,001,0,220]	0,114 [0,101,0,127]	0,189 [0,168,0,211]

<sup>1</sup>variable expresada en % de peso con respecto a la canal; <sup>2</sup>Logaritmo de la variable

## GENOMIC ESTIMATION OF DOMINANCE GENETIC VARIANCE IN PUREBRED AND CROSSBRED PIG PERFORMANCES

**ABSTRACT:** This study aims at assessing the contribution of the additive and dominance genomic variances to the phenotype expression of several purebred Piétrain and crossbred (Piétrain x large White) pig performances. A total of 636 purebred and 720 crossbred male piglets were phenotyped for 22 traits that can be classified into growth rate and feed efficiency, carcass composition, meat quality, behavior, boar taint and puberty groups of traits. Additive and dominance variances estimated in univariate genotypic models including additive and dominance genotypic effects allowed us to retrieve the additive and dominance SNP variances. These ones were used, together with the allelic frequencies of the parental populations, to obtain additive and dominance variances in terms of genetic breeding values and dominance deviations. Some traits showed relevant amount of dominance genetic variance in both populations (i.e. backfat thickness, pH) or increased amount in crossbreds (i.e. ham cut, loin and dressing yield) suggesting that accounting for dominance in the models of these traits could lead to an increased GEBV accuracy and that using crossbred information can be beneficial to evaluate purebred candidates to selection for crossbred performance.

**Keywords:** dominance, pig, variance, SNP



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

Argente<sup>1</sup>, M.J., García<sup>1</sup>, M.L. y Blasco<sup>2</sup>, A.

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

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha incrementado el interés por conocer la determinación genética de la varianza ambiental. Actualmente, se está llevando a cabo un experimento de selección divergente por varianza residual del tamaño de la camada en conejo; tras siete generaciones de selección, las líneas mostraron una diferencia de 1,19 gazapos<sup>2</sup> (30% de la media) para la variabilidad del tamaño de camada (Argente et al., 2014). Este es el primer experimento donde la selección se ha realizado directamente sobre la varianza ambiental, tratándola como un carácter observado. Nuestra hipótesis de trabajo es que las hembras con genotipos menos adaptables mostrarían una mayor sensibilidad a las enfermedades y al estrés, y una mayor variabilidad en el tamaño de la camada; es decir, estas hembras tendrían una menor resiliencia; esto es, una menor capacidad de recuperarse frente a una agresión del medio. La resiliencia está estrechamente relacionada con el bienestar, por lo que reducir la variación ambiental puede producir animales que logran adaptarse mejor a su entorno. El objetivo de este trabajo es analizar si la selección por varianza residual del tamaño de camada afecta la resistencia a enfermar y al estrés, y en consecuencia sobre el bienestar del animal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

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

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

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

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

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

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

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

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

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

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

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **CARACTERES DE METABOLISMO HEPÁTICO EN DOS LINEAS DE SELECCIÓN DIVERGENTE POR GRASA INTRAMUSCULAR EN CONEJO**

Martínez-Álvaro<sup>1</sup>, M., Paucar, Y., Blasco, A. y Hernández, P.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València. 46022 Valencia, España. phernan@dca.upv.es

### **INTRODUCCIÓN**

El contenido de grasa intramuscular (GIM) es un factor de calidad de carne que afecta a sus propiedades sensoriales, aumentando su jugosidad, ternura y sabor. El carácter GIM presenta una heredabilidad en torno a 0,50 (Martínez-Álvaro et al., 2016) y una variabilidad moderada, condiciones favorables para la selección genética. En la Universidad Politécnica de Valencia se está realizando un experimento de selección divergente por GIM en conejo (Martínez-Álvaro et al., 2016). El hígado es el principal tejido lipogénico en conejos en crecimiento (Gondret et al., 1997), y diferencias en su actividad lipogénica podrían conducir a diferencias en GIM, tal y como se ha descrito anteriormente en pollos (Cui et al., 2012). Por otro lado, parámetros sanguíneos como la concentración de glucosa, lípidos, proteínas o bilirrubina en sangre están relacionados con el metabolismo hepático, mientras que las enzimas alanina (ALT) y aspartato (AST) transaminasas y fosfatasa alcalina (FAL) son indicadores de daño hepático. El objetivo de este trabajo es estudiar la actividad lipogénica del hígado y la concentración de parámetros sanguíneos relacionados con el metabolismo hepático en las dos líneas de conejos seleccionadas por alta (GA) y baja (GB) GIM.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Este estudio se ha realizado con 172 conejos procedentes de la octava generación de un experimento de selección divergente por GIM del músculo Longissimus dorsi a las 9 semanas de edad (83 de GA y 82 de GB), descrito en Martínez-Álvaro et al. (2016). Entre ellos, se tomó una muestra de 63 conejos (30 de GA y 33 de GB) para estudiar caracteres de metabolismo hepático. Los conejos se pesaron a las 9 semanas de edad, y ayunaron 19 h antes del sacrificio. Inmediatamente tras el sacrificio, se tomaron muestras de sangre de la vena yugular en tubos con heparina de 1 ml, y se midió la concentración de glucosa, triglicéridos, colesterol, albúmina, proteínas totales, bilirrubina, AST, ALT y FAL. El hígado fue diseccionado, pesado y se tomó una muestra para la medición de las actividades de las enzimas lipogénicas glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), enzima málico (EM) y ácido graso sintasa (FAS) según los métodos descritos por Zomeño et al. (2010) con algunas modificaciones. Las actividades enzimáticas se expresaron en nanomoles de NADPH formado (G6PDH, EM) u oxidado (FAS) por minuto y gramo de tejido. Tras el sacrificio, las canales se refrigeraron a 4°C durante 24h y se registró el peso de la canal comercial. Se diseccionó el depósito de grasa perirrenal y se pesó. Los lomos se diseccionaron, se picaron, se liofilizaron y se escanearon por NIRS para la determinación de GIM en g / 100g de músculo. Para estimar las diferencias entre líneas se utilizó un modelo que incluyó los efectos de sexo, línea, mes-estación, orden de parto y camada. Se realizó un análisis bayesiano de los datos. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron mediante Gibbs sampling. Se utilizaron priors planos acotados para todos los efectos y varianzas. Los detalles del procedimiento están descritos en Sorensen y Gianola (2002) y Blasco (2017).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La Tabla 1 muestra los parámetros descriptivos y las diferencias entre líneas para los caracteres medidos. La respuesta a la selección por GIM fue de 0,34 g /100 g ( $P_R = 1,00$ ), o 2,7 unidades de SD del carácter. La selección por GIM mostró una respuesta correlacionada positiva en el peso de la grasa perirrenal con una probabilidad de relevancia  $P_R = 1,00$ . No encontramos diferencias entre líneas en peso vivo y peso de la canal comercial (datos no mostrados). La línea GA presentó un mayor peso del hígado que la GB ( $P_R = 0,87$ ), lo cual debe estar relacionado con su mayor deposición de grasa, ya que el hígado es el principal tejido lipogénico en conejos en crecimiento (Gondret et al., 1997).

La G6PDH mostró la mayor actividad lipogénica en el hígado, tal y como observaron otros autores en conejos (Gondret et al., 1997). La línea GA mostró mayor actividad G6PDH y EM que la GB. Las diferencias solo fueron relevantes para la G6PDH ( $P_R = 1,00$ ), donde las líneas difirieron en 1,51 SD del carácter. No se observaron diferencias en la actividad FAS. Nuestros resultados indican que la diferente deposición de grasa de las líneas GA y GB se explica por diferencias en las actividades lipogénicas G6PDH y EM del hígado, particularmente con la primera. Ambas enzimas generan NADPH para abastecer la biosíntesis de ácidos grasos y colesterol, G6PDH lo hace a través de la vía hexosa monofosfato, y EM a través ciclo del ácido cítrico. En un estudio previo, la línea GA mostró mayor actividad lipogénica en músculo y en grasa perirrenal que la GB a las 13 semanas de edad (Martínez-Álvaro et al., 2015), y las diferencias entre líneas fueron particularmente grandes para la actividad de la G6PDH en músculo. Nuestro experimento de selección por GIM ha puesto de manifiesto el importante papel que juega la actividad de la enzima G6PDH en la variabilidad genética de la deposición de grasa en conejos. La actividad lipogénica del hígado se ha estudiado previamente en razas con diferente GIM, pero nunca antes se había estudiado en animales con el mismo origen genético seleccionados por GIM.

Nuestras líneas mostraron concentraciones normales de todos los parámetros sanguíneos (Washington y Van Hoosier, 2012) excepto para la FAL, que fue superior en las dos líneas. Sin embargo, se sabe que los conejos en crecimiento muestran concentraciones de FAL particularmente altas debido a su alta actividad osteoblástica (Washington y Van Hoosier, 2012). La línea GB mostró mayor concentración de triglicéridos, colesterol, bilirrubina y FAL que la GA, y todas las diferencias entre líneas fueron relevantes ( $P_R$  entre 0,91 y 0,99) excepto para el colesterol que mostró una  $P_R$  muy baja. La línea GA mostró mayor concentración de albúmina y ALT que la GB con  $P_R = 0,96$  y 0,93, respectivamente. No se observaron diferencias entre líneas para las concentraciones de glucosa, proteínas totales y AST.

Las concentraciones de glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre son el resultado de su producción y consumo por parte de los tejidos lipogénicos. La línea GB, que mostró una menor actividad lipogénica en el hígado, mostró también una mayor concentración de triglicéridos y colesterol en sangre (aunque las diferencias en colesterol no fueron relevantes). Un estudio en ratas observó que un aumento de la concentración en sangre de lipoproteínas ricas en triglicéridos jugaban un papel regulador inhibiendo la lipogénesis hepática (Lakshmanan et al., 1977). En cerdos, se ha observado una relación negativa entre la concentración de lípidos en plasma y la deposición de grasa (Bakke, 1975; Pond et al., 1992). Por otro lado, un mayor porcentaje de grasa corporal se ha relacionado con una menor concentración de bilirrubina en sangre (Jenko-Praznikar et al., 2013). No hemos encontrado literatura que relacione GIM con la concentración de albúmina, AST, ALT y FAL en sangre.

Este estudio demuestra que el hígado juega un papel esencial en la deposición de grasa en conejos, ya que la línea GA muestra un hígado de mayor tamaño y mayor actividad lipogénica (G6PDH y EM), particularmente de la enzima G6PDH. Además, la selección por GIM ha provocado cambios relevantes en parámetros sanguíneos relacionados con el metabolismo hepático.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bakke, H. 1975. Acta Agr. Scand. 25 (1):14-16.
- Cui, H.X. et al. 2012. Mol. Biol. Rep. 39: 3479-3484.
- Blasco, A. 2017. Springer, Nueva York, USA.
- Gondret, F. et al. 1997. Comp. Biochem. Physiol. 117B:259-265.
- Lakshmanan, M.R. et al. 1977. J. Biol. Chem. 252 (19):6581-6584.
- Jenko-Praznikar, Z. et al. 2013 Metab. Clin. Exp. 62:976-985.
- Martínez-Álvaro, M. et al. 2015 XVI Jornadas Prod. Animal AIDA.
- Martínez-Álvaro, M. et al. 2016. J. Anim. Sci. 94: 4993-5003.
- Pond, W.G. et al. 1992. J. Anim. Sci. 70:2462-2470.
- Sorensen, D. & Gianola, D.. 2002. Springer, New York, USA.
- Washington, I. M., & Van Hoosier, G. V. 2012. Blackwell Publishing Professional, Iowa, USA.
- Zomeño et al. 2010 J.Anim.Sci. 88:3419-3427.

**Agradecimientos:** Este experimento ha sido subvencionado por el proyecto AGL2014-55921-C2-1-P del Plan Nacional de Investigación. Marina Martínez-Álvaro agradece su beca FPI (BES-2012-052655) al Ministerio de Economía y Competitividad. Agradecemos la colaboración de Marina Morini en la fase experimental de este trabajo.

**Tabla 1.** *Parámetros descriptivos y diferencias entre líneas en grasa intramuscular (GIM), peso de la grasa perirrenal y del hígado y caracteres de metabolismo hepático.*

Carácter	Media	SD	D <sup>1</sup>	HPD <sub>95%</sub> <sup>2</sup>	P <sub>0</sub> <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	P <sub>R</sub> <sup>5</sup>
GIM, g/100g de músculo	0,99	0,13	0,34	0,30, 0,39	1,00	4,36	1,00
Peso de la grasa perirrenal, g	7,77	2,36	3,19	2,35, 4,05	1,00	10,1	1,00
Peso del hígado, g	42,8	3,71	2,39	0,47, 4,50	0,99	2,88	0,87
G6PDH <sup>6</sup>	4383	817	1182	698, 1660	1,00	272	1,00
EM <sup>6</sup>	416	102	44,8	-17,3, 108	0,92	33,8	0,64
FAS <sup>6</sup>	686	83,0	9,60	-38,2, 56,9	0,65	27,7	0,22
Glucosa, mg/dl	141	10,2	-0,90	-6,61, 4,47	0,63	3,38	0,20
Triglicéridos, mg/dl	130	58,6	-43,6	-79,3, -6,86	0,99	19,5	0,91
Colesterol, mg/dl	78,4	16,4	-6,78	-16,1, 2,64	0,93	5,47	0,61
Bilirrubina, mg/dl	0,20	0,11	-0,12	-0,18, -0,06	1,00	0,04	0,99
Proteínas totales, g/dl	6,81	0,54	0,00	-0,28, 0,31	0,51	0,18	0,12
Albumina, g/dl	4,36	0,26	0,23	0,07, 0,37	1,00	0,09	0,96
AST <sup>7</sup> , UI/l	40,6	9,48	1,59	-4,13, 7,23	0,72	3,16	0,29
ALT <sup>8</sup> , UI/l	69,4	19,6	15,05	3,99, 25,9	1,00	6,52	0,93
FAL <sup>9</sup> , UI/l	616	111	-99,8	-165, -40,3	1,00	37,1	0,97

<sup>1</sup>D, mediana de la distribución marginal posterior de las diferencias entre las líneas seleccionadas por alta y baja GIM; HPD<sub>95%</sub><sup>2</sup>, región de alta densidad posterior al 95% de probabilidad; <sup>3</sup>P<sub>0</sub>, probabilidad de que la diferencia sea >0 si la D es positiva, o <0 si es negativa; <sup>4</sup>R, valor relevante estimado como 1/3 de SD; <sup>5</sup>P<sub>R</sub>, probabilidad de que la diferencia sea >R si D es positiva, o <R si es negativa; <sup>6</sup>Actividades de las enzimas glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), enzima málico (EM) y ácido graso sintasa (FAS) en nanomoles/min y gr de tejido. <sup>7</sup>AST, aspartato transaminasa; <sup>8</sup>ALT, alanina transaminasa; <sup>9</sup>FAL, alcalina fosfatasa.

### LIVER METABOLISM TRAITS IN TWO RABBIT LINES DIVERGENTLY SELECTED FOR INTRAMUSCULAR FAT

**ABSTRACT:** As liver is the major site of lipogenesis in rabbits, the objective of this work is to study the liver metabolism in two rabbit lines divergently selected intramuscular fat (IMF). IMF, perirenal fat and liver weight, liver lipogenic activities and plasma parameters related to liver metabolism were measured in the eight generation of selection. Direct response on IMF was 0.34 g /100 g of muscle, which represented 2.7 SD of the trait, and selection showed a positive correlated response in the perirenal fat weight. High-IMF line showed greater liver size and greater liver lipogenic activities of enzymes glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and malic enzyme (EM), although the difference between lines for EM activity was not relevant, whereas we did not find differences between lines for fatty acid synthase (FAS) activity. Low-IMF line showed greater plasma concentration of triglycerides, cholesterol, bilirubin and alkaline phosphatase than high-IMF line, whereas high-IMF line showed greater albumin and alanine transaminase concentrations, and all the differences between lines were relevant except for cholesterol concentration. We did not observe differences between lines for glucose, total protein and plasma concentrations.

**Keywords:** intramuscular fat, liver metabolism, rabbits.

## EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA SOBRE EL PESO DE LA DESCENDENCIA EN RATONES SELECCIONADOS DIVERGENTEMENTE PARA VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL PESO AL NACIMIENTO

Formoso-Rafferty<sup>1</sup>, N., Cervantes<sup>1</sup>, I., Gutiérrez<sup>1</sup>, J.P. y Bodin<sup>2</sup>, L.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. UCM.

<sup>2</sup>INRA UMR1388 / INPT ENSAT / INPT ENVT GenPhySE, F-31326 Castanet-Tolosan, Francia.

n.formosorafferty@ucm.es

### INTRODUCCIÓN

La mejora de la eficiencia alimentaria, tanto en la etapa de crecimiento como en la reproductiva, es un aspecto clave para incrementar la sostenibilidad de los sistemas de producción (Kanis et al., 2005). Por otra parte, el ciclo reproductivo de las hembras es un periodo de balance energético negativo. En éste intervienen numerosos factores (capacidad de ingesta, capacidad de movilización de reservas, etc), de cuyo determinismo genético se conoce poco (Bergsma et al., 2008; Gilbert et al., 2012; Pascual et al., 2013). Además, lo que ocurre durante la lactación condiciona en gran medida la capacidad fisiológica de la hembra para hacer frente al siguiente ciclo. Tras analizar la influencia de la restricción sobre las madres, el objetivo de este trabajo fue analizar la influencia de la restricción alimentaria de las madres sobre el peso al nacimiento (PN) en las crías de dos líneas divergentes seleccionadas para variabilidad del PN en ratones.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos se obtuvieron tras doce generaciones de un exitoso experimento de selección divergente para variabilidad ambiental de PN en ratón (Formoso-Rafferty et al., 2016a). En cada una de las generaciones 12, 13 y 14 tras el destete, se escogieron al azar un total de 40 hembras por línea (4 hermanas completas de 10 camadas escogidas al azar) y se alojaron individualmente. Del destete a las tres semanas hasta las 13 semanas de edad se sometieron a control de consumo y crecimiento semanal, formando cuatro grupos de 10 hembras por cada línea: dos con alimentación *ad libitum* y otros dos con restricción alimentaria (Régimen1), repartiendo equilibradamente las hermanas entre los grupos. Después de un tiempo de recuperación que fue hasta una semana antes del apareamiento, cada uno de los grupos anteriores se dividió a su vez en otros dos hasta el destete de la segunda camada: uno con alimentación *ad libitum* y otro con restricción alimentaria (Régimen2). Las restricciones impuestas durante los dos periodos de régimen controlado fueron del 75%, 90% y 85% del consumo *ad libitum* en las generaciones 12, 13 y 14 respectivamente. La base de datos contenía finalmente un total de 1275 datos de PN de 158 camadas, con un total de 4093 registros de pedigrí. Con el fin de conocer los factores genéticos y ambientales que afectan a la media y a la varianza residual del PN y particularmente la correlación genética entre ellos, se utilizó un modelo heteroscedástico (SanCristobal-Gaudy et al., 1998) que responde a la siguiente expresión:

$$y = \mu + u + c + \exp\left(\frac{\eta + v}{2}\right)\varepsilon \quad \text{donde } \mu \text{ y } \eta \text{ representan respectivamente los efectos}$$

fijos y sus interacciones que afectan la media y la variabilidad ambiental del PN,  $u$  y  $v$  (con varianzas  $\sigma_u^2$  y  $\sigma_v^2$ ), representan respectivamente el efecto genético materno para el nivel y la variabilidad, y  $c$ , con varianza  $\sigma_c^2$ , representa el efecto camada sobre la media del carácter. Los efectos fijos susceptibles de afectar la media y la variabilidad del PN que estuvieron analizados fueron: el régimen alimentario (*ad libitum* o restricción), durante el crecimiento de las madres (Régimen1) y durante su periodo de reproducción (Régimen2), así como su interacción, la línea (alta o baja), la generación (12, 13 o 14), el tamaño de camada de origen de la hembra (TC, agrupado en tres niveles: 4 a 9, 10 y 11, 12 a 15), el de su descendencia (TCd agrupado en cinco niveles: 1 a 5, 6, 7 a 9, 10, 11 a 13), el número de parto (1 o 2) y el sexo (macho, hembra o desconocido), junto con todas

las interacciones de primer orden de los efectos régimen de alimentación, línea y generación. Para la media del carácter, el efecto genético de la línea debido a la selección, se estimó como el promedio de los valores genéticos de los animales de cada línea. Todos los análisis se realizaron mediante el software ASReml (Gilmour et al., 2014) del cual una reciente extensión desarrollada por Felleki et al. (2012) permite analizar modelos heteroscedásticos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 figuran los efectos fijos significativos que afectan a la media y la variabilidad del PN así como las varianzas de los efectos aleatorios. El efecto línea es significativo: las crías de la línea de alta variabilidad pesan 0,15g (8,8%) más al nacimiento que las de baja. Dado el objetivo de selección de las líneas, esto corresponde a la respuesta indirecta a la selección que se ha visto sobre las líneas seleccionadas (Formoso-Rafferty et al., 2016b) y a la diferencia de PN de las madres de estas crías (Formoso-Rafferty et al., 2017). El efecto generación (figura 1A), es significativo únicamente sobre la descendencia de las madres restringidas durante la reproducción y afecta más a las crías de la generación 12 cuando la restricción fue superior (75%) y menos a los de la generación 13 que tuvo una restricción más ligera (90%), siendo intermedia en la generación 14 con restricción también intermedia (85%).

De manera similar, el efecto de la restricción de las madres durante su crecimiento (Régimen1) afecta al PN de las crías únicamente para las que tuvieron también una restricción durante su reproducción (figura 1B). Aunque significativo ( $P=0,08$ ), este efecto es muy reducido (0,07g) lo que muestra la gran capacidad de recuperación de las hembras y el escaso efecto de su propio crecimiento sobre el PN de su descendencia (Valiente et al., 1999 en ratas; Veneciano y Frasinelli, 2014 en bovinos). La varianza del efecto común de la camada es relativamente importante y mucho mayor que la varianza genética del efecto materno que es baja aunque diferente de cero. Sin embargo este último parámetro coincide con las estimaciones obtenidas durante el proceso de selección (Formoso-Rafferty et al., 2016a).

Respecto a los efectos que influyen sobre la variabilidad de PN, se ha podido destacar: el sexo de la cría, una interacción entre la línea y el régimen alimenticio después del apareamiento (Régimen2) y un efecto genético de la madre. Al contrario de los otros efectos, es la primera vez que se señala un efecto del régimen de alimentación de la madre sobre la variabilidad de los PN de las crías. La interacción observada con el efecto línea (Alta: *ad-libitum*:  ${}_1\eta_a = -3,61$ ; restringido:  ${}_1\eta_r = -3,78$  y Baja: *ad-libitum*:  ${}_2\eta_a = -3,77$ ; restringido:  ${}_2\eta_r = -3,82$ ) se traduce por una reducción de varianza residual debido a la restricción de solamente 5% en la línea de baja variabilidad mientras es 18% en la de alta. Parece que la selección por variabilidad del PN ha conferido una menor sensibilidad de las madres a las condiciones ambientales. La correlación genética entre los parámetros de posición y de dispersión del PN es 0,34, pero con una precisión bastante mala debido a los numerosos factores de variación en relación al escaso número de datos. Sin embargo, esta correlación positiva puede compararse con la obtenida por (Formoso-Rafferty et al., 2017) sobre los mismos datos, y puede explicar los PN superiores de las crías de la línea de alta variabilidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bergsma, R., Kanis, E., Verstegen, M.W. & Knol, E.F. 2008. J. Anim. Sci. 86, 1067-1080.
- Felleki, M., Lee, Y., Gilmour, A.R. & Ronnegard, L. 2012. Genet. Res. 94: 307-317.
- Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Ibáñez-Escriche, N. & Gutiérrez, J.P. 2016a. J. Anim. Breed. Genet. 133: 227-237.
- Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Ibáñez-Escriche, N. & Gutiérrez, J.P. 2016b. Animal. 10(11): 1770-1777.
- Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Sánchez, J.P., Gutiérrez, J.P. & Bodin, L. 2017. Jornadas AIDA-ITEA.
- Gilbert, H., Bidanel, J.P., Billon, Y., Lagant, H., Guillouet, P., Sellier, P., Noblet, J. & Hermes, S., 2012. J. Anim. Sci. 90, 1097-1108.
- Gilmour, A.R., Gogel, B.J., Cullis,

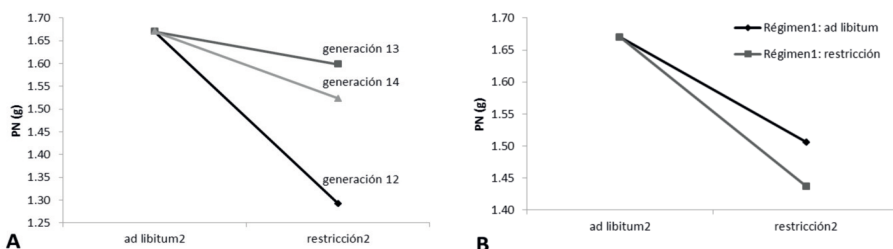


B.R., Welham, S.J. & Thompson, R. 2014. Asreml user guide release 4.1 functional specification: Hemel Hempstead: VSN International Ltd. • Kanis, E., De Greef, K.H., Hiemstra, A., & Van Arendonk, J.A.M. 2005. J. Anim. Sci. 83: 948-957. • Pascual, J.J., Savietto, D., Cervera, C. & Baselga, M. 2013. World Rabbit Sci. 21, 123-144. • SanCristobal-Gaudy, M., Elsen, J.M., Bodin, L. & Chevalet, C. 1998. Genet. Sel. Evol. 30: 423-451. • Valiente, D., Alfonso, C., Bernardo, M.G., Molina, J.R. & González, V.T. 1999. Rev. Cubana Invest. Biomed. 18(2): 104-10. • Veneciano, J.H. & Frasinelli, C.A. 2014. Cría y recría de bovinos. INTA San Luis.

**Agradecimientos:** El estudio se ha realizado con una financiación parcial a través de un proyecto MEC-INIA (RTA2014-00015-C02-02). Este experimento ha sido parcialmente financiado mediante un proyecto del Plan Nacional (AGL2008-00794).

**Tabla 1:** Probabilidades del test F de los efectos fijos y varianzas de los efectos aleatorios que afectan la media PN ( $\mu$ ) y la variabilidad PN ( $v$ ) del carácter.

	PN ( $\mu$ )	PN ( $v$ )	rg
Sexo	<0,001	<0,001	
Tamaño de camada hembra	<0,001		
Número de parto	0,023		
Generación × Regimen2	<0,001		
Regimen1 × Regimen2	0,083		
Linea × Regimen2		0,195	
$\sigma^2$ Camada	0,0198 (0,0028)		
$\sigma^2$ Madre	0,0061 (0,0029)	0,0454 (0,0163)	0,34 (0,33)



**Figura 1:** Valores predictivos del peso al nacimiento de las crías (PN) de cada generación (A) y según el régimen de alimentación de la madre (B).

### EFFECTS OF FOOD RESTRICTION OF DESCENDANCE IN DIVERGENTLY SELECTED MICE FOR ENVIRONMENTAL VARIABILITY OF BIRTH WEIGHT

**ABSTRACT:** The aim of the genetic selection in animal breeding has traditionally been the increase in the mean of the productive traits. Improving food efficiency, at the growth and reproductive stages, is an aspect of increasing the sustainability of production systems. In addition, what happens during lactation has a strong effect on the physiological capacity of the female to cope with the next cycle. The objective of this work was to analyze the influence of the mothers' food restriction on their offspring in two lines divergently selected for birth weight variability in mice. It seems that selection for birth weight variability has conferred a lower sensitivity of the mothers to the environmental conditions. The genetic correlation between the position and dispersion parameters of the birth weight is 0.34.

**Keywords:** divergent selection experiment, feed efficiency, mice

## DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA EN POBLACIONES AUTÓCTONAS DE VACUNO DE CARNE

Mouresan<sup>1</sup>, E. F., González-Rodríguez, A., Cañas-Álvarez, J.J., Díaz, C., Altarriba, J., Baro, J. A., Piedrafita, J., Molina, A., Toro, M. A. y Varona L.

<sup>1</sup>Unidad de Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Universidad de Zaragoza. Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2). 50013. Zaragoza.

lvarona@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de procedimientos de genotipado masivo ha permitido el desarrollo de métodos de asociación de genoma completo – GWAS- (Bush y Moore, 2012) y la predicción genómica de los valores mejorantes de los candidatos a la selección (Meuwissen et al., 2001). Estos procedimientos utilizan el desequilibrio de ligamiento entre las mutaciones causales y los marcadores SNP neutros. Sin embargo, existe evidencia de que la estructura de desequilibrio de ligamiento no es homogénea a lo largo del genoma (Ardlie et al., 2002). De hecho, el genoma se estructura habitualmente en bloques haplotípicos de longitud variable (Gabriel et al., 2002; Mokry et al., 2014). Este fenómeno puede estar causado por la variabilidad en las tasas de recombinación a lo largo del genoma. De hecho, existe una clara evidencia de la presencia de regiones del genoma con mayor tasa de recombinación, denominadas *hotspots* (Paigen y Petrov, 2010).

El objetivo de este trabajo es estudiar la diversidad haplotípica a lo largo del genoma en las poblaciones de vacuno de carne autóctono español, a partir de una muestra de individuos genotipados con el BovineHD Beadchip.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se genotiparon 171 tripletes (individuos-padre-madre) de siete poblaciones de vacuno de carne (*Asturiana de los Valles* – AV-, N=25, *Avileña - Negra Ibérica* – ANI-, N=24, *Bruna dels Pirineus* – BP- N=25, *Morucha* –Mo-, N=25, *Pirenaica* –Pi-, N=24, *Retinta* – Re-, N=24 and *Rubia Gallega* –RG-, N=24). Después de un proceso de filtrado, se utilizó la información de 707.307 marcadores SNP.

En primer lugar, se definió la diversidad haplotípica como el número de haplotipos distintos presentes en una región dividido por el número de fases independientes (2 veces el número de individuos fundadores). Las fases haplotípicas se establecieron mediante BEAGLE (Browning y Browning, 2007) y SHAPEIT (Delaneau et al., 2013). Una vez determinados los haplotipos maternos y paternos se calculó la diversidad haplotípica en regiones de 500 kb centradas en cada SNP.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar, se analizó la distribución del número de SNP presentes en las regiones de 500 kb (Figura 1a), donde se encontró que seguía una distribución normal con media 149,21 y desviación típica 33,22. Por el contrario, la distribución del número de haplotipos presentó un claro sesgo negativo (Figura 1b). Este resultado mostró que la diversidad haplotípica es sustancialmente mayor en algunas regiones del genoma. Además, como se muestra en la Figura 1c, las regiones genómicas asociadas con un mayor grado de diversidad haplotípica no son aquellas que presentan el mayor número de SNP.

Los resultados individuales de cada una de las 7 poblaciones se presentan en la Figura 2, donde se observa que la localización de las regiones de alta diversidad haplotípica es heterogénea a lo largo del genoma bovino, aunque con mayor incidencia en las zonas teloméricas. Por otra parte, se observa como las regiones de alta diversidad están muy conservadas entre poblaciones. De hecho, las correlaciones entre las estimas de diversidad haplotípica entre poblaciones oscilaron entre 0,66 y 0,77. Este resultado sugiere que las causas de esta diversidad haplotípica son intrínsecas a la estructura del genoma bovino y asociadas a tasas más altas de mutación y/o recombinación.

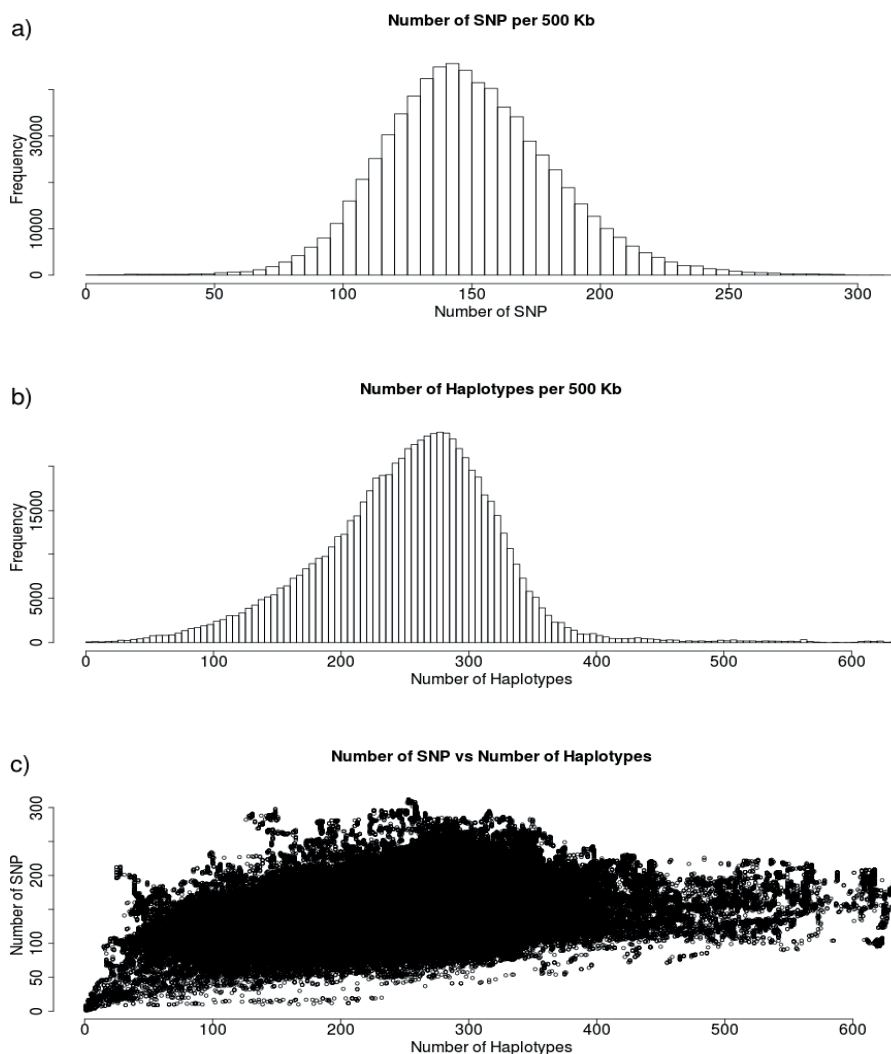
### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ardlie, K.G et al. 2002. American Journal of Human Genetics 71: 304–311
- Browning, S.R. & Browning, B.L. 2007. American Journal of Human Genetics 81: 1084–97.
- Bush, W.S. & Moore, J.H. 2012. PLoS Computational Biology 8: e1002822.
- Delaneau, O. et al. 2013.

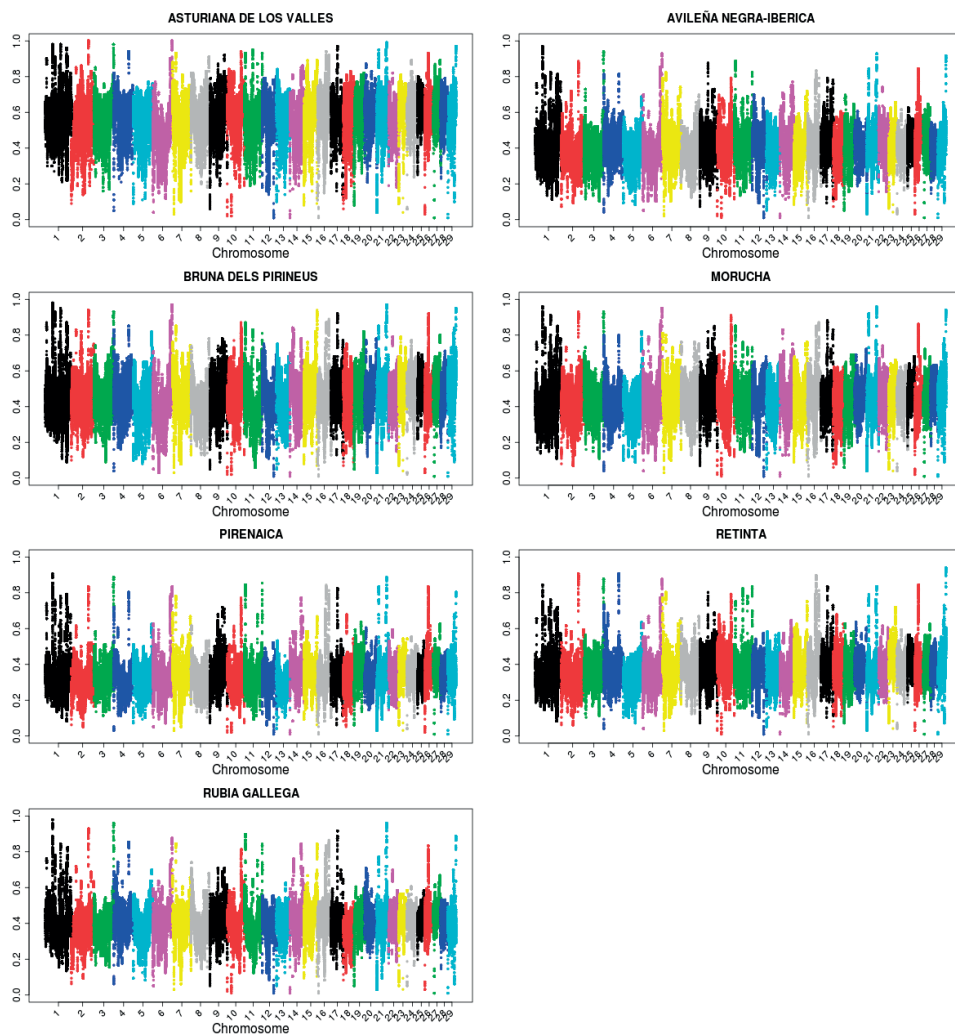
Nature Methods 10: 5-6. • Gabriel, S.B. et al. 2002. Science 296: 2225–2229. • Meuwissen, T. H. E. et al. 2001. Genetics 157: 1819–1829. • Mokry, F. et al., 2014. BMC Genomics 15: S6. • Paigen, K. et al. 2010. Nature Reviews Genetics 11, 221–233. • Reich, D.E. et al. 2001. Nature 411: 199-204.

**Agradecimientos:** Los autores quieren agradecer al proyecto AGL2010-15903, a las asociaciones de ganaderos y a FEAGAS por su colaboración.

**Figura 1.** Distribución del número de SNP (a) y haplotipos (b) en regiones genómicas de 500 Kb y la relación entre ambas (c).



**Figura 2.** Diversidad haplotípica (número de haplotipos distintos dividido entre el número de fases) en regiones de 500 kb. a lo largo del genoma autosómico de siete poblaciones autóctonas de vacuno de carne.



## HAPLOTYPE DIVERSITY IN SPANISH BEEF CATTLE POPULATIONS

**ABSTRACT:** This study analysed the haplotype diversity along the genome of seven Spanish Beef Cattle populations within regions of 500 kb using the information provided by the *BovineHD Beadchip*. The results of the analysis pointed out a strong variability of the haplotype diversity across the genome, which is greatly conserved across populations. This strong concordance in the genomic regions of high haplotype diversity between populations suggests that the reasons behind it are intrinsic with the structure of the bovine genome and caused probably by the higher mutation or recombination rate.

**Keywords:** Haplotype Diversity, beef cattle, recombination, mutation

## ESTUDIO MORFOMÉTRICO DE LA ABEJA MELÍFERA (*Apis mellifera iberiensis*) EN LA PROVINCIA DE HUESCA

Yániz<sup>1</sup>, J.L., Ángel-Beamonte<sup>1</sup>, E., Martín-Ramos<sup>1</sup>, P., Sales<sup>1</sup>, E. y Santolaria<sup>1</sup>, P.

<sup>1</sup>Grupo de investigación TECNOGAM, Instituto IUCA, Escuela Politécnica Superior de Huesca, Universidad de Zaragoza, Ctra. Cuarte S/N 22071 Huesca. jyaniz@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

España es el principal país productor de miel en la Unión Europea (UE) y se encuentra entre los 12 primeros del mundo. También destaca por superar al resto de países europeos en el número de colmenas (unos 2,3 millones) y de apicultores profesionales (Montesinos, 2014). Pero la importancia de la apicultura va mucho más allá de la producción de miel, ya que son los insectos polinizadores más eficaces. En la Península Ibérica se ha conservado, con relativamente escasa contaminación genética externa, una subespecie o raza propia, la abeja negra ibérica (*Apis mellifera iberiensis*). Sin embargo, y a pesar de las considerables ventajas de mantener nuestra raza autóctona, en los últimos años se observa una tendencia creciente a la introducción de abejas mejoradas de las subespecies *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera carnica* o derivadas de ellas, lo que supone un riesgo para la conservación de la abeja negra ibérica. La hibridación con subespecies foráneas puede amenazar las subespecies nativas cuando los apicultores locales importan y propagan abejas importadas (Hopkins et al., 2012). Como ejemplo de esta contaminación externa tenemos el caso de las islas Canarias, en las que se ha descrito una importante hibridación entre las poblaciones de abeja endémica y abejas importadas. En este sentido, la trashumancia en apicultura y la utilización de sólo unas pocas subespecies de abeja para su manejo comercial ha sido muy negativo para la conservación de las especies nativas en muchas partes del mundo debido a la fragmentación, hibridación y cría selectiva (Soland-Reckeweg et al., 2009).

La provincia de Huesca presenta un elevado riesgo de introducción de abejas foráneas. Es una región típicamente receptora de apicultores trashumantes de otras regiones, incluidos apicultores franceses en los últimos tiempos. Esta recepción de abejas de diversas zonas sin ningún control genético implica un riesgo para la abeja local. Recientemente se ha observado también que algunos apicultores profesionales han optado por la utilización de abejas mejoradas de otras subespecies, con el riesgo consiguiente de hibridación en esas regiones. El objetivo principal de este trabajo fue realizar una caracterización de las abejas melíferas en Huesca como paso necesario para fomentar la conservación de las variedades autóctonas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron muestras de abejas obreras de 35 apiarios, la mayoría registrados en el ADS nº 1 de la provincia de Huesca, principalmente de las comarcas de la Hoya de Huesca, el Somontano de Barbastro y los Monegros. En cada explotación se muestrearon un mínimo de 5 colonias, 30-40 obreras/colonia recogidas en el interior de la colmena sobre cuadros de puesta. En el momento del muestreo se registraron los detalles morfológicos que se consideraron de interés, tales como el color de las abejas.

De cada colonia se aislaron 8 obreras, de las que se diseccionó el ala derecha delantera. Las imágenes de las alas se obtuvieron utilizando una cámara fotográfica digital montada sobre un microscopio Leica con un objetivo 1,25X. Las coordenadas de 19 puntos de referencia (landmarks) situados en las intersecciones venosas de las alas se registraron y midieron utilizando un software específico basado en MATLAB. En el proceso de medición, las coordenadas de los landmarks se superpusieron utilizando la superposición de Procrustes GLS (Generalized Least Squares). Las diferencias de forma se analizaron mediante análisis canónico de varianza (CVA) utilizando el programa libre MorphoJ (disponible en [http://www.flywings.org.uk/morphoj\\_page.htm](http://www.flywings.org.uk/morphoj_page.htm)) (Miguel et al., 2011; Meixner et al., 2013; Charistos et al., 2014).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se consideraron todos los individuos por separado, la discriminación morfométrica entre colmenares fue poco clara. Sin embargo, tras el cálculo de las medias por colmena y

posterior análisis, los resultados mostraron la existencia de un colmenar claramente diferenciado del resto a nivel morfométrico, y de diferencias entre colmenares cuando se comparan por parejas. En una de las explotaciones se observó la presencia de abejas de color amarillo, lo que viene a indicar una hibridación probable con otra raza. Sin embargo, la explotación más claramente diferenciada corresponde a un colmenar estante que apenas ha tenido entrada de material genético externo y en la no que se observó la presencia de abejas con alteraciones del color, ni el apicultor indicó la posibilidad de una posible hibridación. En este caso, y en el resto en los que se observaron diferencias entre colmenares, podría tratarse de variantes de la abeja negra ibérica, aunque este aspecto se verificará mediante el estudio del ADN en futuros proyectos.

La abeja melífera de la Península Ibérica se considera actualmente como una raza o subespecie de *Apis mellifera* (*Apis mellifera iberiensis*) originada a partir de la hibridación natural entre los linajes M del oeste y norte de Europa (*Apis mellifera mellifera*) y del linaje A de África (Canovas et al., 2008). Hay indicios de que abejas del linaje M sobrevivieron en diferentes refugios de la península Ibérica y que, en la era posglacial, comenzaron a expandirse hacia el norte. Al mismo tiempo se debieron producir una o varias oleadas colonizadoras de abejas procedentes de África (linaje A), con una hibridación natural entre ambos linajes en nuestro territorio (Canovas et al., 2008).

En la actualidad, la abeja negra ibérica presenta un gradiente de variabilidad de sur a norte: las abejas del sur presentan una mayor afinidad con razas del norte de África (linaje A), mientras que las abejas del norte de España se encuentran más próximas a la abeja negra europea *Apis mellifera mellifera* (linaje M) (Flores et al., 1998; Canovas et al., 2008). Estudios moleculares han demostrado que la Península Ibérica es la región europea con la mayor diversidad en haplotipos basados en marcadores mitocondriales (12 haplotipos detectados del linaje M y 10 del linaje A), probablemente como resultado de la adaptación a las condiciones climáticas regionales (Canovas et al., 2008). Esta diversidad constituye un tesoro natural que debemos preservar, no solo por el interés ecológico, sino también porque muestran una mayor capacidad de adaptación a las modificaciones ambientales, por ejemplo las derivadas del cambio climático, y más posibilidades de afrontar los nuevos desafíos sanitarios a los que se enfrentan las abejas en la actualidad.

Aragón es una de las regiones españolas en las que mejor se ha conservado, sin hibridar, el linaje M de *Apis mellifera iberiensis*. En un estudio realizado a nivel nacional, se observó que Huesca y Zaragoza fueron las únicas regiones en las que sólo se detectó la presencia del haplotipo M (Canovas et al., 2008). Sin embargo, el número de apiarios y colonias analizado fue muy reducido (6 apiarios y 43 colonias en Huesca), y la situación ha podido modificarse en los últimos años. Las diferencias morfométricas observadas en nuestro estudio podrían indicar la presencia de diferentes linajes dentro de la provincia, aspecto que se analizará con más profundidad en futuros estudios moleculares.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Canovas, F. 2008. J. Zool. Syst. Evol. Res. 46: 24-30. • Charistos, L. 2014 J. Apic. Sci. 58: 75-84. • Flores, J.M. 1998. Arch. Zootec. 47: 347-350. • Hopkins, B.K. 2012. Reproduction, fertility, and development 24: 1079-1083. • Meixner, M.D. 2013. J. Apicult. Res. 52. • Miguel, I. 2011. Apidologie 42: 150-161. • Montesinos P. 2014. Albéitar. • Soland-Reckeweg, G. 2009. J. Insect. Conserv. 13: 317-328.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a los apicultores participantes en el estudio por su ayuda al proporcionar muestras de abejas y al ADS nº 1 de Huesca por su colaboración. Este trabajo fue financiado por el programa "XXXI Concurso de Ayudas de Investigación 2015" del Instituto de Estudios Altoaragoneses, por el programa "Proyectos de investigación, desarrollo e innovación para jóvenes investigadores, convocatoria 2016" de Ibercaja Obra Social y por la DGA-FSE (proyecto A40).

## **MORPHOMETRIC STUDY OF THE HONEY BEE (*Apis mellifera iberiensis*) IN HUESCA**

**ABSTRACT:** The main objective of this work was to perform a characterization of honey bees in Huesca as a necessary step to promote the conservation of native varieties. To this end, samples of worker bees were collected from 35 apiaries from different regions of Huesca and the geometric morphometry of the wing veins was analyzed. The results showed that, among the Iberian bees analyzed, morphometric differences were found in some apiaries, in some cases by a probable hybridization with non-native bees and in others probably associated with the presence of different genetic lines within the native black bee. These results will be expanded in future studies by increasing the number of apiaries and introducing methods of molecular genetics.

**Keywords:** *Apis mellifera iberiensis*, geometric morphometry, genetic variability.

## ESTUDIO PRELIMINAR DEL TRANSCRIPTOMA DE LA MUCOSA ABOMASAL DE OVEJAS CLASIFICADAS COMO RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES SEGÚN LA RESPUESTA A UNA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *TELADORSAGIA CIRCUMCINCTA*

Suárez-Vega<sup>1</sup>, A., Arranz<sup>1</sup>, J.J., Martínez Valladares<sup>2</sup>, M., Chitneedi<sup>1</sup>, P.K. y Gutiérrez-Gil<sup>1</sup>, B.  
<sup>1</sup> Dpto. de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. <sup>2</sup> Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n, Grulleros 24346, León. [bgutg@unileon.es](mailto:bgutg@unileon.es)

### INTRODUCCIÓN

Nuestro grupo de investigación ha participado anteriormente en varios proyectos centrados en la identificación de marcadores genéticos para la resistencia ovina a las infecciones por nematodos gastrointestinales (GIN). Este carácter es altamente complejo y el fenotipo tradicionalmente utilizado para medir el nivel de infección es el recuento de huevos en heces o FEC (del inglés, *faecal egg count*). Otros caracteres utilizados como indicadores con respecto al carácter resistencia a GIN son los niveles séricos de IgA o de pepsinógeno. En el primero de estos proyectos, un barrido genómico con marcadores microsatélites para la detección de *Quantitative Trait Loci* (QTL) con influencia sobre la resistencia a GIN en una población de Churra, se identificó, además de otras regiones menos importantes, un QTL para el carácter FEC significativo a nivel *genome-wise* en el cromosoma 6 ovino (OAR6) (Gutiérrez-Gil et al., 2009) que fue posteriormente confirmado en una población independiente y en base al análisis de los genotipos del *Illumina Ovine SNP50 BeadChip* (50K-Chip) (Atlija et al., 2016).

Como una aproximación complementaria a estos estudios basados en el estudio genético a nivel estructural surgen los análisis propuestos en un proyecto financiado por la Junta de Castilla y León (LE248U14) para la comparación del transcriptoma de la mucosa y los ganglios abomasales de ovejas clasificadas como resistentes y susceptibles a las infecciones por GIN. En este trabajo se presenta una descripción del diseño del estudio y un resumen descriptivo del análisis inicial de los datos de secuenciación del mRNA obtenidos mediante secuenciación masiva paralela o RNA-Seq de las muestras de mucosa abomasal recogidas en un total de 12 animales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de animales, infecciones experimentales y recogida de muestras: En primer lugar, mediante la obtención de muestras de heces en varios rebaños de la asociación ANCHE (Asociación Nacional de Criadores de ganado ovino de raza Churra), y los niveles de infección detectado en las muestras individuales, y por *pooles*, se seleccionó la granja que presentaba una destacada variabilidad en el carácter FEC, así como un número adecuado tanto de animales con alto y bajos o nulos recuentos. En el “Rebaño de trabajo” seleccionado se hizo un muestreo de heces de un total de 119 ovejas adultas, y tres meses después del último tratamiento de desparasitación. En base a los niveles de FEC individuales, se seleccionaron un total de 24 animales clasificados como 10 “Susceptibles” (alto FEC) y 14 “Resistentes” (bajo FEC), que fueron trasladados a las instalaciones del Instituto de Ganadería de Montaña (IGM) de León.

En los meses posteriores, y con el fin de confirmar el estatus de los animales como “Resistente” o “Susceptible”, se realizó una primera infección experimental (IE1) de confirmación, realizada sobre 18 de los animales adquiridos del “Rebaño de trabajo” (desparasitados una semana antes). La IE1 se basó en una única administración de 50.000 larvas L3 de *T. circumcincta* por vía oral. Tras la infección se realizó la recogida de heces cada 2 días, desde el día 14 post-infección hasta el día 31 post-infección para calcular la eliminación de huevos acumulada de cada animal. Según este recuento varios de los animales se clasificaron como “Susceptibles” y “Resistentes”. Al mes de la IE1 se realizó una segunda desparasitación de los animales como paso previo a la IE2. Tres semanas después de dicho tratamiento, se realizó la segunda infección experimental (IE2) en los animales objeto de estudio. En la IE2 se utilizó una dosis única de 70.000 larvas L3 de *T. circumcincta*, que se administró de forma oral. Durante la primera semana tras la IE2 se realizaron tomas de muestras de heces de los animales cada dos días. El sacrificio humanitario de los animales incluidos en el experimento se realizó a los 7 días después de



la IE2 realizándose inmediatamente la necropsia para la recogida de las muestras de mucosa abomasal y de ganglio linfático abomasal de cada animal sacrificado. Las muestras fueron conservadas en RNAlater® y tras ser mantenidas una noche a 4°C, fueron congeladas a -80°C. El experimento completo, incluyendo el sacrificio de los animales, se realizó en base a la normativa vigente respecto a la protección de los animales utilizados en experimentación (Real Decreto 53/2013) y tras la obtención del informe positivo del Subcomité para la experimentación y bienestar animal (OEBA) de la Universidad de León, y la aprobación del organismo competente de la Junta de Castilla y León.

Extracción de RNA y secuenciación del transcriptoma: La extracción del mRNA se obtuvo a partir de las muestras de mucosa abomasal con el absolutely RNA miRNA Kit de Agilent. La integridad del RNA (valor RIN) se analizó utilizando el *Bioanalyzer Agilent 2100* (Agilent technologies, Santa Clara, CA, USA). Los valores de RIN de las muestras de RNA oscilaron entre 7.0 y 7.8. La preparación de las genotecas y posterior secuenciación se realizó con un secuenciador *Illumina Hi-Seq 2000*, generando lecturas "paired-end" de 75 pb, con profundidad de 30M de lecturas.

Análisis bioinformático: El control de calidad de los datos brutos de secuenciación se realizó utilizando el programa *FastQC* (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Las lecturas fueron mapeadas frente al genoma ovino (OAR v.3.1) utilizando el programa *STAR\_2.3.0e* (Dobin et al., 2013). El paquete bioinformático *Cufflinks* (Trapnell et al., 2010) se utilizó para realizar una cuantificación de la expresión génica (Cuffquant) utilizando como archivo de anotación de referencia la versión OAR v.3.1-r87 de la anotación del genoma ovino. Para la normalización de los recuentos en *Fragments Per Kilobase Of Exon Per Million Fragments Mapped* (FPKM se utilizó Cuffnorm, herramienta que pertenece también al paquete bioinformático *Cufflinks* (Trapnell et al., 2010). Las estadísticas descriptivas de los datos se obtuvieron con scripts propios en R (R version 3.3.2).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Confirmación del estatus "Resistente" o "Susceptible" en base a los resultados de la IE1: Según los recuentos en heces acumulados llevados a cabo en los 18 animales sometidos a la IE1, ocho animales se clasificaron como "Susceptibles" y siete como "Resistentes". Los tres animales restantes presentaron un perfil más dudoso entre las dos categorías definidas. Dos de los individuos clasificados como "Resistentes" tenían recuento nulo a lo largo de toda la fase de controles (Chu7, Chu15). Se consideró un mínimo de seis muestras de cada grupo para la posterior fase de secuenciación masiva paralela. Así, tras la IE2 y la obtención de las muestras de los tejidos a estudiar, se seleccionaron los seis animales más claramente clasificados dentro de los dos grupos a contrastar: "Resistentes" (Chu1, Chu2, Chu7, Chu8, Chu15 y Chu21) *versus* "Susceptibles" (Chu6, Chu9, Chu11, Chu14, Chu17 y Chu19).

Resumen descriptivo del análisis del transcriptoma de la mucosa abomasal. En la secuenciación del transcriptoma de la mucosa abomasal de 11 de los animales seleccionados se generaron un total de 366.000.571 (33.272.779,18 ± 4.713.851,29 lecturas pareadas por muestra). De ellas, aproximadamente el 72,42 % mapearon frente al genoma ovino utilizado como referencia (OAR v.3.1). Una de las muestras del grupo de "Susceptibles" fue eliminada de este análisis preliminar al mostrar un nivel muy bajo de alineamiento con el genoma de referencia.

De los 27.054 genes anotados en el genoma ovino (Oar\_v3.1), se identificaron 19.008 genes expresados (> 0,01 FPKM) en la mucosa abomasal. La distribución de los genes en función de su expresión se muestra en la Tabla 1, donde podemos ver que la mayoría de los genes expresados en la mucosa abomasal tiene un nivel medio de expresión. Esto contrasta con lo observado, por ejemplo, en un tejido con alto grado de especialización como la glándula mamaria (Suárez-Vega et al., 2015), en el que la mayoría de los genes tienen baja expresión y sólo unos pocos están muy altamente expresados.

El perfil de los diez genes más expresados (top10) en la mucosa abomasal fue prácticamente idéntico para las dos condiciones analizadas. En este grupo se encontraron genes ligados a procesos digestivos (GO:0007586), como la *gastroquina 1* (*GKN1*), *pepsinógeno A* (*ENSOARG00000012043*) y *el factor trefoil 1* (*TFF1*), y también genes relacionados con la respuesta frente a bacterias, como la beta-2-microglobulina (*B2M*), la *lisozima* (*LYZ*) y la *cadena J de inmunoglobulina* (*JCHAIN*), así como codificantes de

distintos componentes de las inmunoglobulinas (*IGHA2* y *IGLC1*). El grupo top10 descrito para el mismo tejido en vaca, en un experimento de infección experimental con *O. ostertagi* and *C. oncophora* (Li et al., 2011), también incluyó un número relevante de genes relacionados con la respuesta inmune (*PIGR*, *C3*, *FCGBP*, *Vpreb3* y *JCHAIN*). La distribución de las muestras en función de la expresión génica global mostró una muy alta correlación entre ellas ( $r > 0.93$ ), sin un agrupamiento que responda a la clasificación sensibles/resistentes. Futuros análisis entre los dos grupos considerados servirán para poner de manifiesto si la infección experimental por *T. circumcincta* determina una expresión diferencial para alguno de los genes expresados en la mucosa abomasal ovina.

**Tabla 1.** Distribución de los genes identificados en la mucosa abomasal del ganado ovino en función de su grado de expresión

Nivel de expresión	Resistentes	Susceptibles
Genes altamente expresados ( $\geq 180$ FPKM)	6.909	7.072
Genes con nivel de expresión medio ( $\geq 3$ a $180$ FPKM)	10.577	10.656
Genes con nivel de expresión bajo ( $< 3$ FPKM)	384	381

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atlija, M. et al. 2016. Genet. Sel. Evol. 48: 4.
- Dobin A. et al. 2013. Bioinformatics 29: 15-21.
- Gutierrez-Gil B. et al. 2009. Genet. Sel. Evol. 41: 46.
- Li, R.W. et al. 2011. Vet. Res. 42: 114.
- Suarez-Vega, A. et al. 2015. Sci. Rep. 5: 18399.
- Trapnell, C. et al. 2010. Nat. Biotechnol. 28: 511-515.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto LE248U14 de las ayudas a proyectos de investigación de la Junta de Castilla y León. P. K. Chitneedi disfruta de una beca predoctoral financiada por la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo. B. Gutierrez-Gil es investigadora contratada con el programa “Ramón y Cajal” del MINECO Ministerio de Economía y Competitividad (RYC-2012-10230).

### PRELIMINARY STUDY ON THE TRANSCRIPTOME OF THE ABOMASAL MUCOSA OF SHEEP CLASSIFIED AS RESISTANT AND SUSCEPTIBLE ACCORDING TO THEIR RESPONSE TO AN EXPERIMENTAL INFECTION WITH *TELADORSAGIA CIRCUMCINCTA*

**ABSTRACT:** The preliminary results of the abomasal mucosa transcriptome for Churra dairy ewes classified as resistant and susceptible according to their faecal egg count after an experimental infection are presented. After selecting several dairy ewes with extreme counts of egg per gram (epg) in faeces due to natural infection from a Churra sheep flock and performing a first experimental infection (EI1) in 18 animals with *T. circumcincta*, eight ewes were classified as “Susceptible” and seven ewes as “Resistant”. After a second EI (EI2), the animals were sacrificed 7 days post-infection and tissue samples were collected. Using RNA-Seq the transcriptome of the abomasal mucosa samples of six susceptible and six resistant animals were analysed. Our quantification analysis identified a total of 19,008 expressed genes in the analyzed tissue ( $> 0.01$  FPKM), most of which showed a medium level of expression (FPKM range: 3-180 for  $\sim 10,500$  genes). Among the top10 expressed genes, we found genes related to digestion processes (*pepnisogen A gene*, *GKN1* and *TFF1*) and genes related to defense response to bacterium (*B2M*, *LYZ* and *JCHAIN*) and encoding for specific immunoglobulin components (*IGHA2* y *IGLC1*). Further differential expression analyses will assess if the experimental infection with *T. circumcincta* has modified the expression pattern of the abomasal mucosa between the two groups of samples considered.

**Keywords:** sheep, resistance to nematodes, transcriptome, abomasal mucosa.

## EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA SOBRE EL TRANSCRIPTOMA DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN PORCINO

Ballester<sup>1</sup>, M., González-Rodríguez<sup>1</sup>, O., Amills<sup>2</sup>, M., Cardoso<sup>2</sup>, T.F., Pascual<sup>1</sup>, M., Mármol-Sánchez<sup>2</sup>, E., Tibau<sup>3</sup>, J. y Quintanilla<sup>1</sup>, R

<sup>1</sup>Genética y Mejora Animal, IRTA-Torre Marimon, Caldes de Montbui, 08140 Barcelona,

<sup>2</sup>CRAG, Consorcio CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus UAB, 08193 Barcelona,

<sup>3</sup>Genética y Mejora Animal, IRTA-Monells, Finca Camps i Armet, 17121 Girona.

maria.ballester@irta.cat

### INTRODUCCIÓN

La restricción alimentaria en porcino conlleva una reducción del crecimiento que en algunos casos es parcialmente contrarrestada por un crecimiento compensatorio posterior (e.g. Heyer y Lebrecht, 2007; Daza et al., 2007), existiendo cierta controversia respecto a los posibles beneficios de dicha restricción en el rendimiento final. Algunos estudios apuntan a una mejora de la eficiencia alimentaria en animales bajo restricción (e.g. Daza et al., 2007), y en algunos casos la reducción del tocino dorsal podría ser considerada deseable. En cualquier caso, el efecto sobre el depósito de grasa en el músculo y el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular deben ser parámetros a tener en cuenta, principalmente en sistemas dirigidos a obtener un producto de calidad diferencial. En un experimento llevado a cabo con una línea comercial Duroc (resultados no publicados) se pudo comprobar que la restricción alimentaria no provocó cambios significativos en el depósito de grasa intramuscular, tal como observaron Heyer y Lebrecht (2007), aunque sí se produjeron variaciones importantes en el perfil de ácidos grasos. En este sentido se observó un importante incremento del porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, resultado que concuerda parcialmente con los obtenidos por Daza et al. (2007) en cerdos Ibéricos. Bajo la hipótesis de que estos cambios están asociados a una modificación en el perfil de expresión génica a nivel muscular, el objetivo del presente trabajo consiste en analizar los cambios en el transcriptoma del músculo esquelético asociados a la restricción alimentaria durante el periodo de engorde en una población comercial Duroc.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Material animal:** Se utilizaron 24 hembras procedentes de 12 camadas de una línea comercial Duroc. Durante la primera fase de engorde (60-120 días de vida) se aplicaron dos regímenes alimentarios distintos: doce hembras fueron alimentadas *ad libitum* (grupo AL), mientras que las doce restantes recibieron una alimentación restringida (grupo RE). Posteriormente, durante la segunda fase de engorde (hasta ~150 días de vida) todos los animales fueron alimentados a voluntad. Al sacrificio, se recogieron muestras del músculo *gluteus medius* (GM) de todos los animales con *RNA-later* (Ambion) y posteriormente se guardaron a -80°.

**Extracción de ARN y secuenciación (RNA-Seq):** Se aisló el ARN total a partir de todas las muestras del músculo GM utilizando el kit RiboPure (Ambion). El ARN total se cuantificó con un espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (NanoDrop products) y su calidad fue verificada mediante un equipo Bioanalyzer-2100 (Agilent Technologies). La secuenciación se realizó en el Centro Nacional de Análisis Genómico (CNAG). Se generó una genoteca para cada animal utilizando el kit *TruSeq RNA Sample Preparation Kit* (Illumina). Las genotecas fueron secuenciadas con un equipo Illumina Hi-Seq 2000 mediante lecturas de 2x75 pb.

**Mapeo y anotación de las lecturas:** Se utilizó el programa *FASTQC* para el control de calidad de las lecturas generadas. Las lecturas fueron indexadas con *BOWTIE2 v2.2.3* (Langmead et al., 2012), y mapeadas en el genoma de referencia porcino (*Sscrofa10.2*) utilizando el programa *TopHat v2.0.9* (Trapnell et al., 2009). Los archivos *bam* resultantes se fusionaron mediante el programa *Samtools v0.1.18* (Li et al., 2009). El control de calidad del mapeo de lecturas y sus estadísticos se realizó mediante *Qualimap v2.2* (Okonechnikov et al., 2015).

**Análisis de genes diferencialmente expresados:** El número de lecturas que mapean en cada gen se determinó con el programa *Htseq-count* (Anders et al., 2015). Para identificar los genes diferencialmente expresados entre ambos grupos se utilizaron los paquetes de R *DESeq2* (Love et al., 2014) y *EdgeR* (Robinson et al., 2010), seleccionando aquellos genes con una tasa de cambio (FC) tal que  $|\log FC| > 1$ , y que mostrasen diferencias significativas

después del ajuste para múltiples contrastes ( $p_{adj}$  o FDR <0,05). Finalmente, los genes diferencialmente expresados fueron analizados mediante la herramienta *ClueGO* del programa *Cytoscape* (Bindea et al., 2009) y *David v6.8* (Huang et al., 2009) para identificar las rutas y funciones biológicas sobrerrepresentadas ( $p_{adj}$ <0,05).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante la secuenciación de las 24 muestras del músculo GM se obtuvieron un total de 2108 M de lecturas pareadas de 75 pb. El 84,1% (81,8%-86,9%) de los transcritos fueron asignados al genoma de referencia porcino, de los cuales aproximadamente el 23,9% mapearon en más de una localización. Del total de lecturas mapeadas, el 72,4% correspondió a genes anotados, el 80,5% se localizó en regiones exónicas, y sólo el 7,8% en regiones intrónicas. El 11,5% de las lecturas mapearon en regiones intergénicas.

Se identificaron un total de 168 (*EdgeR*) y 90 (*DESeq2*) genes diferencialmente expresados entre los animales bajo restricción y los que no. De éstos, 69 genes fueron identificados en ambos análisis, detectándose 58 y 11 genes cuya expresión era mayor en los grupos AL y RE respectivamente. En la Tabla 1 se muestran los 5 genes más sobre-expresados y sub-expresados al comparar el grupo RE vs AL. Cabe destacar el gen *CD36*, que presentó mayores niveles de expresión en el grupo AL. Este gen codifica una proteína de membrana predominante implicada en el transporte de ácidos grasos en adipocitos, enterocitos y miocitos cardíacos y esqueléticos (Glatz y Luiken, 2016). Por otra parte, el gen *PCK1* presentó un relevante incremento de expresión en el grupo RE. Este gen es clave en la regulación de la gluconeogénesis, ya que la proteína PCK1 interviene en el paso limitante de la vía metabólica que produce glucosa a partir de lactato y otros precursores derivados del ciclo de Krebs (Gómez-Valadés et al., 2008).

La Tabla 2 muestra las rutas y funciones biológicas sobrerrepresentadas en la lista de genes diferencialmente expresados. Entre las rutas metabólicas identificadas cabe destacar la ruta de señalización FoxO, la de AMPK y la de la insulina (*KEGG*, Tabla 2). Dichas rutas están interrelacionadas y juegan un papel clave en el mantenimiento de la homeostasis energética. Entre los procesos biológicos más representados en el conjunto de genes identificados en este estudio cabe destacar el metabolismo del piruvato, la modificación de lípidos y el transporte de glucosa. Por lo que respecta a las funciones moleculares significativamente representadas conviene resaltar la actividad lipasa, cuyos genes se encuentran sobre-expresados en el grupo AL (Tabla 2).

En conclusión, la restricción alimentaria provoca cambios en la expresión génica que continúan incluso después de que ésta haya cesado; modificándose una serie de rutas metabólicas y genes candidatos entre animales con alimentación restringida vs los alimentados *ad libitum* que pudieran estar determinando a nivel molecular las diferencias entre los perfiles de ácidos grasos de los animales de ambos grupos. Un estudio multivariante de los datos del transcriptoma con los datos fenotípicos relativos al depósito y composición de la grasa en músculo permitirá ir más allá en el conocimiento de los efectos de la alimentación restringida sobre la composición de la grasa en porcino.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anders, S. 2015. *Genome Biol.* 11: R106.
- Bindea, G. 2009. *Bioinformatics* 25: 1091-3.
- Daza, A. 2007. *Animal Feed Science and Technology* 138: 61–74.
- Glatz, J.F. 2016. *Biochimie in press.*
- Gómez-Valadés, A.G. 2008. *Diabetes* 57: 2199-210.
- Heyer & Lebrecht. 2007. *J. Anim. Sci.* 85:769-78
- Huang, D.W. 2009. *Nature Protoc.* 4: 44-57.
- Langmead, B. 2012. *Nature Methods* 9: 357-359.
- Li, H. 2009. *Bioinformatics* 25: 2078-9.
- Love, M. 2014. *Genome Biol.* 15: 550.
- Okonechnikov, K. 2015. *Bioinformatics* 32: 292-4.
- Robinson, M.D. 2010. *Bioinformatics* 26:139-40.
- Trapnell, C. 2009. *Bioinformatics* 25: 1105-11.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2013-48742-C2-1-R y AGL2013-48742-C2-2-R. M. Ballester está financiada con un contrato Ramón y Cajal (RYC-2013-12573) del MINECO. Los autores agradecen a Selección Batallé S.A., y muy especialmente a J. Reixach, haber proporcionado el material animal, y a los técnicos de la granja experimental de porcino y del matadero experimental de IRTA-Monells su colaboración en la fase experimental y la obtención de las muestras biológicas.

**Tabla 1.** Lista de los 5 genes más sobre-expresados y los 5 genes más sub-expresados entre los grupos AL y RE identificados simultáneamente con los programas DESeq2 y EdgeR.

Ensembl Gene ID	Gen	EdgeR			DESeq2		
		Log <sub>2</sub> FC**	P-Valor	FDR	Log <sub>2</sub> FC**	P-Valor	padj
ENSSSCG00000024306	UBE2D2	-2,65	6,63E-05	8,79E-03	-1,18	2,65E-04	1,65E-02
ENSSSCG00000026110	SRPK2	-2,38	1,45E-08	2,30E-05	-1,64	3,73E-08	4,68E-05
ENSSSCG00000026196	FAM13A*	-1,97	3,24E-08	3,61E-05	-1,48	8,65E-08	8,57E-05
ENSSSCG00000030638	CD36*	-1,93	6,57E-04	3,31E-02	-1,06	9,72E-04	2,99E-02
ENSSSCG00000013119	STX3	-1,92	5,21E-06	1,61E-03	-1,37	3,11E-06	1,11E-03
ENSSSCG00000030425	SPHK2*	1,46	4,83E-04	2,84E-02	1,01	8,42E-04	2,73E-02
ENSSSCG00000015541		1,51	4,46E-06	1,55E-03	1,19	9,48E-06	2,04E-03
ENSSSCG00000003148	DBP*	1,58	4,52E-05	7,10E-03	1,17	4,39E-05	5,10E-03
ENSSSCG00000007507	PCK1	1,66	1,26E-03	4,44E-02	1,01	1,43E-03	3,72E-02
ENSSSCG00000011133	PFKFB3	2,08	2,25E-07	1,93E-04	1,47	5,89E-07	3,45E-04

\*gen ortólogo humano; \*\*Log<sub>2</sub>FC: RE respecto a AL

**Tabla 2.** Rutas metabólicas, procesos biológicos y funciones moleculares sobre-representadas para los genes diferencialmente expresados en cerdas que han recibido una alimentación restringida vs cerdas alimentadas ad libitum.

GOID	Término GO	Nº Genes	P-valor
KEGG:04152	Ruta de señalización de AMPK	5	5,25E-03
KEGG:04068	Ruta de señalización de FoxO	3	1,85E-02
KEGG:04910	Ruta de señalización de la insulina	3	2,21E-02
GO:0006090	Proceso metabólico del piruvato	5	4,34E-03
GO:0030258	Modificación lipídica	5	1,25E-02
GO:0015758	Transporte de glucosa	3	2,27E-02
GO:0016298	Actividad lipasa	3	1,43E-02

## EFFECTS OF FEED RESTRICTION ON SKELETAL MUSCLE TRANSCRIPTOME IN PIGS

**ABSTRACT:** This study aims to determine changes in the pig skeletal muscle transcriptome profile derived from feed restriction. A total of 24 females belonging to a Duroc commercial line were fattened under two feeding conditions: *ad libitum* (AL) and restricted (RE). At ~150 days of age animals were slaughtered, and transcriptome from *gluteus medius* muscle samples was analysed by RNA-Seq. The comparison of the AL and RE expression profiles by using both *EdgeR* and *DESeq2* programs made possible to identify 168 and 90 differentially expressed (DE) genes, respectively. A total of 69 genes were identified as DE in both analyses, 58 overexpressed in AL and 11 overexpressed in RE. Among the most DE genes it is worth highlighting the *CD36* gene which was overexpressed in AL group and encodes a membrane protein involved in fatty acids transport, or *PCK1*, a key gene in the regulation of gluconeogenesis that was overexpressed in RE animals. The biological processes over-represented in the list of DE genes include metabolism of pyruvate, lipid modification and glucose transport, whereas the main over-represented metabolic pathways were the FoxO, AMPK and insulin signaling pathways, which play a key role in the maintenance of energy homeostasis. Further studies will allow us to associate these transcriptomic changes with the modifications observed in the fatty acid profile observed in animals under feed restriction.

**Keywords:** Feed restriction, muscle fat deposition, transcriptome, pigs.

## **EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA SOBRE EL CRECIMIENTO EN DOS LÍNEAS DIVERGENTES PARA VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL PESO AL NACIMIENTO EN RATONES**

Formoso-Rafferty<sup>1</sup>, N., Cervantes<sup>1</sup>, I., Sánchez<sup>2</sup>, J.P., Gutiérrez<sup>1</sup>, J.P. y Bodin<sup>3</sup>, L.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria UCM.

<sup>2</sup>IRTA-Torre Marimón, Caldes de Montbui, Barcelona.

<sup>3</sup>INRA UMR1388 / INPT ENSAT / INPT ENVT GenPhySE, F-31326 Castanet-Tolosan, Francia.

n.formosorafferty@ucm.es

### **INTRODUCCIÓN**

La mejora de la eficiencia alimentaria es uno de los principales objetivos de mejora en el ámbito de la producción animal. Esto es debido a que actualmente los gastos de alimentación suponen el principal coste de producción (70-80% en conejo según Moura et al., 1997 y 75% en cerdo según Whitemore y Kyriazakis, 2006), teniendo repercusión directa en el balance económico de la explotación.

Otro objetivo en producción animal es la homogeneidad, gracias a la cual se podrían paliar los efectos negativos que la selección tradicional para el aumento de la producción pueda haber causado sobre otras funciones de los animales (Bolet et al., 2007). Producciones más homogéneas, se asocian además con mayores rentabilidades (Bolet et al., 2007) y mejora en el bienestar animal (Mormede y Terenina, 2012). Por lo tanto, considerar los programas de selección por homogeneidad, incide tanto en los aspectos económicos del sector agro-ganadero como en el bienestar animal.

Por otro lado, se ha propuesto de manera general que la selección por homogeneidad pudiera dar lugar a animales más robustos ante eventuales desafíos ambientales (Formoso-Rafferty et al., 2016)

El objetivo de este trabajo fue analizar la influencia de la restricción alimentaria, entendiéndola como un desafío ambiental, sobre el peso a las distintas edades en dos líneas seleccionadas de forma divergente para variabilidad del peso al nacimiento en ratones. También se determinó la magnitud de la interacción entre el efecto de la línea y el régimen alimentario, que indicaría un efecto directo de diferente reacción de las líneas ante el desafío que supondría la restricción.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los datos se obtuvieron de animales de las generaciones 12, 13 y 14 de un experimento de selección divergente para variabilidad ambiental de peso al nacimiento en ratón (Formoso-Rafferty et al., 2016a). En cada una de estas generaciones, tras el destete, se escogieron al azar un total de 40 hembras por línea (4 hermanas completas de 10 camadas escogidas al azar) y se alojaron individualmente en la fase de crecimiento post-destete, de 21 a 70 días de edad. Los animales se distribuyeron aleatoriamente de forma equilibrada con respecto a las familias entre dos tratamientos experimentales: alimentación *ad libitum* (con control de consumo semanal) y alimentación restringida.

Los niveles de restricción aplicados fueron de 75%, 90% y 85% del consumo *ad libitum* en las generaciones 12, 13 y 14 respectivamente. Semanalmente se llevó a cabo un registro de peso individual.

La base de datos contenía finalmente un total de 240 datos de peso a 21 días y 225 datos a 70 días, con un total de 4093 registros de pedigrí.

Los registros de peso de cada semana se ajustaron con un modelo que, junto al régimen alimentario (*ad libitum* vs restricción), contenía además como efectos, la línea (alta o baja), la generación (12, 13 o 14) y el tamaño de camada de procedencia agrupado en tres niveles (4 a 9, 10 y 11, 12 a 15), junto con todas las interacciones de primer orden de los efectos régimen, línea y generación. El análisis se llevó a cabo mediante el software ASReml Release 4.1 (Gilmour et al., 2014), repitiéndose para cada semana de manera independiente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La significación de los distintos efectos considerados sobre los pesos semanales de los animales desde el destete (P21) hasta los 70 días (P70) se muestra en la Tabla 1. La pertenencia a la línea de alta o baja variabilidad no presentó influencia significativa en ninguno de los pesos analizados. La generación sólo tuvo significación sobre los pesos tomados a partir de los 35 días, mientras que el tamaño de camada tuvo algún tipo de significación a lo largo de todo el experimento. Según lo esperado el régimen de alimentación mostró un efecto significativo para todos los pesos posteriores al destete. En cuanto a las interacciones del modelo, la línea\*generación resultó débilmente o no significativa. La interacción generación\*régimen resultó fuertemente significativa, de acuerdo a lo esperado por los distintos niveles de restricción de cada generación. La respuesta de cada una de las líneas a la restricción alimentaria viene definida por la interacción línea\*régimen, que resultó significativa desde el día 35, mostrando un efecto acumulado cuando se va incrementando la duración del período de restricción. Esta interacción muestra una respuesta diferente de los animales de las distintas líneas a la restricción, tendiendo a mantener mejor el peso los animales de la línea de baja variabilidad.

**Tabla 1.** Significación de los distintos efectos considerados sobre los pesos vivos a lo largo del periodo de crecimiento.

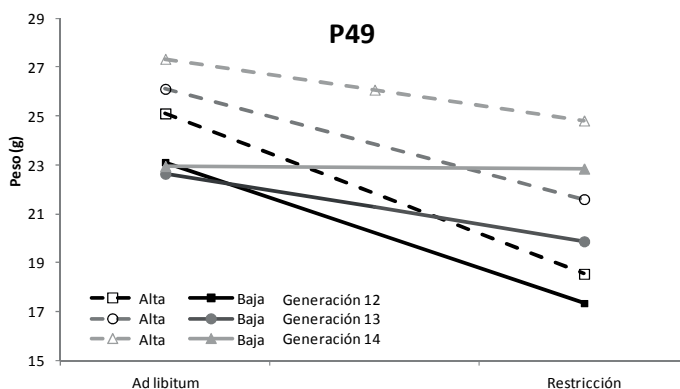
	P21	P28	P35	P42	P49	P56	P63	P70
Línea	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Generación	NS	NS	***	***	***	***	***	***
Régimen	--	***	***	***	***	***	***	***
Tamaño de Camada	***	***	**	***	***	***	***	***
Línea*Generación	**	NS	NS	NS	**	NS	--	NS
Generación*Régimen	--	**	***	***	***	***	***	***
Línea*Régimen	--	NS	***	***	***	**	***	**

P\*\* (peso a los \*\* días); -- efecto no tenido en cuenta en el modelo.

NS, no significativo; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

En la Figura 1 se muestran los valores predictivos de los pesos a los 49 días (P49), edad a la que se considera que el animal alcanza la madurez (Silver, 1995), para los animales de ambas líneas restringidas o no. Se concluyó que los animales de la línea más homogénea eran también los que mejor respondían al desafío ambiental siendo así más robustos desde los dos puntos de vista habitualmente considerados (Formoso-Rafferty et al., 2016b). Así, los animales de la línea homogénea, que tienden a mantener el nivel de rendimiento, fueron también los que mejor se adaptaron al desafío ambiental de la restricción alimentaria. En la figura 1 se observa también que la línea de baja, en ambos regímenes, resultó menos pesada que la de alta variabilidad, aunque según el modelo esta diferencia no resultaba significativa (Tabla 1). Estas diferencias son coherentes con lo observado por Formoso-Rafferty et al. (2016) donde la línea de baja variabilidad mostraba también un mayor peso.

Además, en la figura 1 se observa cómo cuando los animales están *ad libitum* los de la línea de baja variabilidad presentan un peso aproximadamente igual en todas las generaciones al contrario que los de la línea de alta variabilidad, presentando menor peso. En conclusión, la restricción alimentaria tiene un efecto negativo sobre el peso de los animales puesto que los pesos de los animales restringidos son significativamente inferiores a los de los alimentados *ad libitum*. Además, en todas las generaciones, este efecto negativo (diferencia de peso entre animales *ad libitum* y restringido dentro de la misma generación) es más fuerte en la línea de alta variabilidad que en la de baja. Por lo tanto, parece ser que los animales de la línea de baja variabilidad son menos sensibles a un cambio de nivel de alimentación que los de la línea de alta variabilidad.



**Figura 1.** Valores predictivos del peso a los 49 días de edad (P49) en función de la generación, del régimen de alimentación y de la línea de variabilidad.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bolet, G., Gaffeau, H., Joly, T., Theau-Clement, M., Faheres, J., Hurtaud, J. & Bodin, L. 2007. *Livest. Sci.* 111: 28-32. • Carmelink, I., Duijvesteijn, N., Ursinus, W.W., Bolhuis, J.E. & Bijma, P. 2014. 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production Vancouver. Canadá, 17-22. • Fernández, J. & Toro, M. 1999. *J. Anim. Breed. Genet.* 116: 447-466. • Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Ibáñez-Escriche, N. & Gutiérrez, J.P. 2016a. *J. Anim. Breed. Genet.* 133: 227-237. • Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Ibáñez-Escriche, N. & Gutiérrez, J.P. 2016b. *Animal.* 10(11): 1770-1777. • Mormede, P. & Terenina, E. 2012. *Domest. Anim. Endocrin.* 43: 116-131. • Moura, A., Kaps, M., Vogt, D.W. & Lamberson, W.R. 1997. *J. Anim. Sci.* 75: 2344-2349. • Silver, L.M. 1995. *Mouse Genetics. Concepts and Applications*, Oxford University Press. • Whittemore, C.T. & Kyriazakis, I. 2006. *Whittemore's Science and Practice of Pig Production*, Blackwell Publishing, 3rd edition.

**Agradecimientos:** El estudio se ha realizado con una financiación parcial a través del proyecto europeo Feed-a-Gene y un proyecto MEC-INIA (RTA2014-00015-C02-02). Este experimento ha sido parcialmente financiado mediante un proyecto del Plan Nacional (AGL2008-00794).

### DIFFERENCES IN FEED EFFICIENCY BETWEEN LINES DIVERGENTLY SELECTED FOR BIRTH WEIGHT ENVIRONMENTAL VARIABILITY IN MICE

**ABSTRACT:** The aim of the genetic selection in animal breeding has traditionally been the increase in the mean of the productive traits. Selection for less sensitivity with respect to environmental effects as indicated by a low variation around the optimum trait value has benefits in the productivity and in the animal welfare and it is already and will be in the future one of the main targets of selection. The objective of this work was to analyze the influence of food restriction, which it is understood as an environmental challenge, on weight at different ages in two lines divergently selected for birth weight variability in mice. We also determined the interaction between the line and the diet. Animals of low line, which were feed *ad libitum*, present a body weight approximately equal in all generations unlike those of high line, which have present less weight. The dietary restriction has a negative effect on the body weight of the animals. We conclude that the animals of the low variability line are less sensitive to a change in feeding level than those of the high variability line.

**Keywords:** birth weight, divergent selection experiment, feed efficiency, mice



## EFFECTO DE LA SELECCIÓN POR GRASA INTRAMUSCULAR EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE DE CONEJO

Martínez-Álvaro<sup>1</sup>, M., Blasco, A. y Hernández, P.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València. 46022 Valencia, España. phernan@dca.upv.es

### INTRODUCCIÓN

El contenido en grasa intramuscular (GIM) y su composición de ácidos grasos son caracteres importantes por su efecto en la salud del consumidor y en las propiedades organolépticas y tecnológicas de la carne. El carácter GIM presenta una heredabilidad en torno a 0,50 (Martínez-Álvaro et al., 2016) y una variabilidad moderada, condiciones favorables para la selección genética. En la Universidad Politécnica de Valencia estamos desarrollando un experimento de selección divergente en conejos. El objetivo de este trabajo es estudiar las respuestas correlacionadas a la selección por GIM en la composición de ácidos grasos de la carne de conejo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha realizado con datos de 173 conejos de la octava generación de un experimento de selección divergente por GIM, 82 de la línea seleccionada por alta GIM (GA) y 82 de la línea seleccionada por baja GIM (GB). El criterio de selección fue el promedio del contenido en GIM de dos hermanos completos del candidato, medido en el músculo *Longissimus dorsi* a las 9 semanas de edad. Los detalles de este experimento están descritos en Martínez-Álvaro et al. (2016). Los conejos se criaron en jaulas colectivas desde el destete hasta el sacrificio, y fueron alimentados *ad libitum* con un pienso comercial con un 15,1% de proteína bruta, 14,5% de fibra bruta y 2,48% de grasa. La composición de ácidos grasos del pienso (en % sobre el total de ácidos grasos) fue 0,49% de C14:0, 19,4% de C16:0, 0,68% de C16:1, 2,77% de C18:0, 20,5% de C18:1n-9, 48,1% de C18:2n-6, 6,80% de C18:3n-3 y 1,26% de C>20. Tras el sacrificio a las 9 semanas de edad, las canales fueron refrigeradas a 4°C durante 24h. El músculo *Longissimus dorsi* fue diseccionado, picado, liofilizado y analizado por NIRS para la determinación de GIM y ácidos grasos en g/100g, usando las ecuaciones descritas en Zomeño et al. (2012) con algunas modificaciones. La composición de ácidos grasos se expresó en % sobre el total de ácidos grasos. La respuesta a la selección y las respuestas correlacionadas en la composición de ácidos grasos se calcularon como las diferencias entre las líneas GA y GB usando un modelo con los efectos de línea, mes, sexo, orden de parto y camada. Se realizó un análisis bayesiano de los datos. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron mediante Gibbs sampling. Se utilizaron priors planos acotados para todos los efectos y varianzas. Los detalles del procedimiento están descritos en Sorensen y Gianola (2002) y Blasco (2017).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los parámetros descriptivos y las diferencias entre líneas en GIM y composición de ácidos grasos de la carne. En la octava generación, la respuesta a la selección por GIM fue de 0,34 g de GIM/100g de músculo, o bien 2,4 SD. La diferencia entre líneas fue relevante con una  $P_R = 1,00$ . Otros autores también obtuvieron grandes respuestas a la selección por GIM (Schwab et al., 2009 en cerdo; Zhao et al. 2007 en pollo; Sapp et al., 2002 en vacuno).

La línea GA mostró un mayor contenido de todos los ácidos grasos estudiados que la GB (expresado en g /100g), debido a su mayor GIM. La selección por GIM modificó de manera relevante los porcentajes de ácidos grasos de la carne. La línea GA mostró un mayor porcentaje de MUFA y un menor porcentaje de PUFA que la línea GB. Las diferencias entre líneas para ambos grupos fueron relevantes ( $P_R = 1,00$ ) y de una magnitud similar. Dentro de los PUFA, tanto los ácidos grasos n-6 como n-3 mostraron un mayor porcentaje en la línea GB ( $P_R = 1,00$ ), aunque las diferencias entre líneas fueron mayores para los n-6 (3,77SD) que para los n-3 (1,44SD). No observamos diferencias entre líneas para el porcentaje de SFA.

Las diferencias entre las líneas GA y GB en los porcentajes de ácidos grasos se deben a una mayor proporción de triglicéridos respecto a fosfolípidos en la línea GA. En general, los fosfolípidos son más ricos en PUFA mientras que los triglicéridos son más ricos en MUFA y

SFA. Está bien establecido en la literatura el rápido aumento de los MUFA y SFA respecto a los PUFA cuando aumenta el contenido lipídico (revisado por De Smet et al., 2004).

En cuanto al efecto de la selección en los ratios MUFA:SFA, PUFA:SFA y n-6:n-3, la línea GA presentó un mayor ratio MUFA:SFA (0,57) que la línea GB (0,33), lo cual es favorable desde un punto de vista nutricional, ya que se recomienda sustituir el consumo de SFA por ácidos grasos insaturados (WHO, 2008). Sin embargo, la selección por alta GIM condujo a un empeoramiento del ratio PUFA:SFA (0,98 en GA y 1,23 en GB), aunque en ambas líneas se encuentra por encima de 0.60, que es el valor mínimo recomendado (WHO, 2008). El ratio n-6:n-3 fue más favorable en la línea GA (11,6) que en la GB (13,1), aunque en ambos casos se aleja de los valores recomendados (<4, según WHO, 2008) debido al alto contenido en C18:2n-6, característico de la carne de conejo.

En general, los MUFA y PUFA individuales mostraron el mismo patrón de respuesta a la selección que los grupos (Tabla 2). Aunque no observamos diferencias entre líneas en el porcentaje de SFA total, sí que encontramos diferencias en los SFA individuales. La línea GA mostró un porcentaje mayor de C14:0 ( $P_R = 1,00$ ) y C16:0 ( $P_R = 0,89$ ) que la línea GB, pero un porcentaje menor de C18:0 ( $P_R = 1,00$ ).

Los mamíferos son capaces de sintetizar SFA y MUFA a partir de la glucosa a través de la lipogénesis *de novo*, siendo el C16:0 el principal producto de la lipogénesis. Sin embargo, no pueden sintetizar PUFA, los cuales proceden íntegramente de la dieta. En un estudio previo se ha observado que la línea GA mostró mayores actividades lipogénicas que la línea GB en varios músculos, en el depósito de grasa perirrenal y en el hígado (Martínez-Álvaro et al., 2015 y 2017). Esto explica el mayor porcentaje de C14:0, C16:0 y MUFA en la línea GA. En cuanto al porcentaje de C18:0, fue mayor en la línea GB. Esto se debe a que, en conejos, la fracción fosfolipídica muestra un mayor porcentaje de C18:0 que la fracción de triglicéridos (Alasnier et al., 1996; Otake et al., 1971).

Respecto a los MUFA individuales, la línea GA mostró un mayor porcentaje de C18:1n-9 y C16:1 ( $P_R = 1,00$ ). El ratio entre C18:1n-9 y C18:0 es un indicador de la actividad de la enzima estearoil-CoA desaturasa (SCD), responsable de la síntesis de los principales MUFA a partir de sus SFA correspondientes. Este ratio fue de 1,98 para la línea GA y 1,09 para la GB, indicando mayor actividad de la enzima SCD en la línea GA. Dentro de los PUFA, la línea GA mostró menor porcentaje de C18:2n-6 y C20:4n-6 que la GB ( $P_R = 1,00$ ), pero mayor porcentaje de C18:3n-3 ( $P_R = 1,00$ ). En conejos, el porcentaje de C18:3n-3 es mayor en los triglicéridos que en los fosfolípidos (Alasnier et al., 1996; Otake et al., 1971).

En un estudio ampliado de este resumen, se han estimado los parámetros genéticos de GIM y de los porcentajes de ácidos grasos de la carne (heredabilidades y correlaciones genéticas), y todas las estimas son acordes a las respuestas correlacionadas observadas.

Modificaciones en el contenido de GIM y en el perfil de ácidos grasos de la carne podrían afectar su calidad organoléptica. Sin embargo, nuestras líneas no mostraron diferencias en los atributos sensoriales cuando fueron evaluadas por un panel de jueces entrenados (Martínez-Álvaro et al., 2016b).

Que nosotros sepamos, solamente el experimento de selección por GIM en cerdos estudió las respuestas correlacionadas en la composición de ácidos grasos de la carne y sus resultados son muy similares a los nuestros (Burkett, 2009).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alasnier, et al. 1996. Meat Sci. 43:213-224.
- Blasco, A. 2017. Springer. Nueva York. USA.
- Burkett, J.L. 2009. Graduate Theses and Dissertation, Iowa (USA).
- De Smet, et al. 2004. Anim. Res. 53:81-98.
- Martínez-Álvaro, M. et al. 2015. XVI Jornadas Prod. Animal AIDA.
- Martínez-Álvaro, M. et al. 2016a. J. Anim. Sci. 94:4993-5003.
- Martínez-Álvaro, M. et al. 2016b. J. Anim. Sci. 94:5137-5143.
- Martínez-Álvaro, M. et al. 2017 XVII Jornadas Prod. Animal AIDA.
- Otake, Y. et al. 1971. Jap. J. Zootech. Sci. 42(2):162-167.
- Sapp, R.L. et al. 2002. J. Anim. Sci. 80:2017-2022
- Schwab, C.R. et al. 2009. J. Anim. Sci. 87:2774-2780.
- Sorensen, D. & Gianola, D. 2002. Springer, New York, USA.
- WHO. 2008. Joint FAO/WHO expert consultation, 10-14.
- Wood, et al. 2004. Meat Sci. 66:21-32.
- Zhao, G.P. et al. 2006 Acta Vet. Zootech Sinica 37(9): 870-873
- Zomeño et al. 2012. Meat.Sci. 91(2):155-159.

**Agradecimientos:** Este experimento ha sido subvencionado por el proyecto AGL2014-55921-C2-1-P del Plan Nacional de Investigación. Marina Martínez-Álvaro agradece su beca FPI (BES-2012-052655) al Ministerio de Economía y Competitividad. Agradecemos la colaboración de Marina Morini en la fase experimental de este trabajo.

**Tabla 1.** Parámetros descriptivos y diferencias entre líneas en grasa intramuscular (GIM) y composición de ácidos grasos.

<sup>1</sup> Carácter	Media	SD	<sup>2</sup> D	<sup>3</sup> HPD <sub>95%</sub>		<sup>4</sup> P <sub>0</sub>	<sup>5</sup> R	<sup>6</sup> P <sub>R</sub>
GIM	1,04	0,14	0,34	0,29	0,39	1,00	0,05	1,00
C14:0	1,41	0,32	0,75	0,60	0,90	1,00	0,11	1,00
C16:0	26,6	1,05	0,63	0,18	1,08	1,00	0,35	0,89
C18:0	9,83	0,66	-1,87	-2,22	-1,54	1,00	0,22	1,00
SFA	38,2	1,28	-0,31	-0,91	0,33	0,83	0,43	0,36
C16:1	1,60	0,53	1,15	0,89	1,41	1,00	0,18	1,00
C18:1n-9	21,5	1,85	6,66	5,69	7,67	1,00	0,62	1,00
MUFA	24,8	2,47	9,20	7,88	10,6	1,00	0,82	1,00
C18:2n-6	28,1	1,59	-4,70	-5,36	-4,03	1,00	0,53	1,00
C18:3n-3	1,92	0,19	0,20	0,10	0,30	1,00	0,06	1,00
C20:4n-6	7,10	0,95	-3,36	-3,84	-2,86	1,00	0,32	1,00
n-3	2,92	0,27	-0,39	-0,50	-0,29	1,00	0,09	1,00
n-6	39,5	2,64	-9,97	-11,2	-8,68	1,00	0,88	1,00
PUFA	41,8	2,74	-10,3	-11,6	-8,98	1,00	0,91	1,00

<sup>1</sup>GIM está expresado en g / 100g de músculo y los ácidos grasos en porcentaje sobre el total de ácidos grasos; <sup>2</sup>D, mediana de la distribución marginal posterior de las diferencias entre las líneas seleccionadas por alta y baja GIM; <sup>3</sup>HPD<sub>95%</sub>, región de alta densidad posterior al 95% de probabilidad; <sup>4</sup>P<sub>0</sub>, probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero si D<sub>GA-GB</sub> es positiva o menor que 0 si es negativa; <sup>5</sup>R, valor relevante estimado como 1/3 de SD; <sup>6</sup>P<sub>R</sub>, probabilidad de que la diferencia sea mayor que r si D<sub>GA-GB</sub> es positiva o menor que r si es negativa.

### EFFECT OF SELECTON FOR INTRAMUSCULAR FAT ON THE FATTY ACID COMPOSITION OF RABBIT MEAT

**ABSTRACT:** The aim of this study was to estimate the correlated responses to selection for intramuscular fat (IMF) on the fatty acid composition of rabbit meat. In the eight generation, direct response to selection for IMF was 0.34 g of IMF/100g muscle. Selection for IMF led to relevant modifications in the fatty acid composition of meat. The line selected for high IMF showed increased MUFA and decreased n-3, n-6 and PUFA percentages in comparison to the line selected for low IMF. Percentages of the main individual MUFA and PUFA followed a similar pattern as groups, except for C18:3n-3 that was greater in the high-IMF line. We did not observe differences between lines for the percentage of SFA group, although we found greater C14:0 and C16:0 percentages in the high-IMF and a lower percentage of C18:0.

**Keywords:** intramuscular fat, selection, rabbits, fatty acid composition.

## EFFECTO DE LA SELECCIÓN DIVERGENTE POR GRASA INTRAMUSCULAR EN CARACTERES DE EFICIENCIA ALIMENTARIA

Sosa-Madrid<sup>1</sup>, B.S., Martínez-Álvarez, M., Paucar, Y., Hernández, P. y Blasco, A.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, 46022. Valencia, España. ablasco@dca.upv.es

### INTRODUCCIÓN

El contenido de grasa intramuscular (GIM) es un factor de calidad de carne que afecta a sus propiedades organolépticas. En la Universitat Politècnica de València se han desarrollado dos líneas de selección divergente por GIM en el músculo *Longissimus dorsi*. En la séptima generación de selección, la respuesta a la selección fue de 0,39 g de GIM/100g de músculo, lo cual implica un progreso genético de 0,05 g/100g por generación, aproximadamente (Martínez-Álvarez et al., 2016).

La selección por GIM en conejo ha mostrado una respuesta correlacionada positiva relevante en el contenido de GIM de otros músculos y en el peso de los depósitos grasos (Martínez-Álvarez et al., 2015, 2016). Estos resultados sugieren la posible existencia de diferencias entre líneas en su eficiencia alimentaria. El propósito de este estudio es evaluar el efecto de la selección por GIM sobre caracteres de eficiencia alimentaria.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se ha realizado con animales de la octava generación de un experimento de selección divergente por GIM en conejo. El criterio de selección fue el promedio del contenido en GIM de dos hermanos completos del candidato a la selección, medido en el músculo *Longissimus dorsi* a las 9 semanas de edad. Los detalles de este experimento están descritos en Martínez-Álvarez et al. (2016).

Se realizaron adopciones al nacimiento para obtener camadas homogéneas de 9 gazapos. Se registró el peso al destete de todos los gazapos a los 28 días de edad y a la edad de sacrificio (63 días de edad). Tras el destete, los animales de la misma línea fueron agrupados en 9 gazapos por jaula. Durante el engorde, los gazapos fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial con 16,5% de proteína bruta, 15,0% de fibra bruta y 3,10% de grasa. Se registró el consumo de pienso por jaula durante toda la etapa de engorde. El índice de conversión (IC) de cada jaula se calculó dividiendo los kg de pienso consumidos entre los kg de peso ganados durante el engorde por jaula. En total, se utilizaron 540 animales distribuidos en 60 jaulas, 23 de la línea seleccionada por alta GIM (GA) y 37 de la línea seleccionada por baja GIM (GB). La respuesta a la selección se estimó como las diferencias entre líneas utilizando un modelo con el efecto línea y con una covariable definida como la variación de temperatura en lotes semanales. El análisis estadístico se realizó con inferencia bayesiana. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron mediante Gibbs sampling. Se utilizaron priors planos acotados para todos los efectos y varianzas. Los detalles del procedimiento están descritos en Blasco (2017).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los parámetros descriptivos por jaula de los caracteres peso al destete, peso al sacrificio, ganancia de peso, consumo total e índice de conversión. En la Tabla 2 se muestran las diferencias entre líneas para estos caracteres.

Las jaulas de ambas líneas no mostraron diferencias en peso al destete. Las jaulas de la línea GA mostraron un mayor peso al sacrificio ( $P_0 = 0,92$ ) que la GB, y una mayor ganancia de peso durante el engorde ( $P_0 = 0,98$ ). Las jaulas de la línea GA consumieron 1,37 kg más de pienso durante todo el periodo de engorde que las jaulas de la línea GB ( $P_0 = 1,00$ ). Como resultado, la línea GA mostró un índice de conversión más desfavorable comparado con la línea GB.

Blasco (1993) demostró que el índice de conversión individual medio de un conjunto de individuos (*ICI*) y el índice de conversión global tomando el consumo conjunto y dividiendo por el peso de todos los individuos (*ICG*), estaban relacionados mediante la fórmula

$$E(ICI) = E(ICG) \cdot (1 + CV_P^2 - CV_P CV_C \cdot r)$$

Siendo *CV* los coeficientes de variación de los caracteres peso (*P*) y consumo (*C*), y *r* el coeficiente de correlación entre ambos. En nuestro caso, teniendo en cuenta que los *CV* de peso y consumo son similares (tanto en nuestros datos por jaula, Tabla 1, como medido individualmente en la bibliografía  $\approx 0,10$ , Drouilhet et al., 2013 en conejo), que con nuestros datos  $CV_P = 0,10$ , y que el coeficiente de correlación entre peso y consumo es de 0,4 (datos propios no publicados), el índice de conversión medio y el global son aproximadamente iguales  $E(ICI) = 1,006 \cdot E(ICG)$ . Por lo tanto, la diferencia entre índice de conversión por jaula encontrada en la Tabla 2 es aproximadamente la misma que para la media del índice de conversión individual. Esto sucedería igual aunque el coeficiente de correlación fuera menor y los *CV* mayores, la aproximación es muy robusta. Estas leves diferencias entre líneas en índice de conversión se deben al mayor engrasamiento de las canales de la línea GA respecto de la GB. En conejo, los depósitos grasos representan un bajo porcentaje de la canal, en torno a un 2,5% (Pla et al., 2010). Esto no tiene, pues, consecuencias prácticas en cunicultura.

Que nosotros sepamos, no hay medidas de índice de conversión o consumo de pienso en otros experimentos de selección por GIM (Sapp et al. 2002 en vacuno; Zhao et al. 2007 en pollos; Schwab et al. 2009 en cerdos). En cerdos se ha estimado una correlación genética desfavorable entre GIM e índice de conversión ( $0,26 \pm 0,07$ ) (Suzuki et al., 2005).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blasco, A. 1993. *V. J. Produc. Anim.* 13.
- Blasco, A. 2017. Springer. Nueva York. USA.
- Drouilhet, L. et al. 2013. *J. Anim. Sci.* 91:3121-3128.
- Martínez-Álvarez, M. et al. 2016a. *J. Anim. Sci.* 94:4993-5003.
- Martínez-Álvarez, et al. 2015. *AIDA*, XVI Jorna. *Prod. Anim.* 552-554.
- Sapp, R.L. et al. 2002. *J. Anim. Sci.* 80:2017-2022.
- Schwab, C. et al. 2009. *J. Anim. Sci.* 87:2774-2780.
- Suzuki, K. et al. 2005. *Livest. Prod. Sci.* 97:193-202.
- Zhao, G.P. et al. 2007. *Poult. Sci.* 86: 2309-2314.

**Agradecimientos:** Esta investigación ha sido financiada por el Plan Nacional de Investigación (AGL2011-29831-C03-01 y AGL2014-55921-C2-1-P). Marina Martínez-Álvarez y B. Samuel Sosa Madrid agradecen su beca FPI al Ministerio de Economía y Competitividad de España (BES-2012-052655 y BES-2015-074194, respectivamente). Los autores agradecen a Noelia Ibañez Escriche sus útiles comentarios.

**Tabla 1.** *Parámetros descriptivos de los caracteres de eficiencia alimentaria con datos conjuntos de nueve gazapos por jaula.*

Carácter	Media	SD	CVx100
Peso al destete (kg)	4,26	0,60	14,1
Peso al sacrificio (kg)	14,8	1,01	6,80
Ganancia de peso (kg)	10,6	0,63	6,00
Consumo total (kg)	25,0	1,82	7,29
Índice de conversión	2,36	0,11	4,59

CV, coeficiente de variación.

**Tabla 2.** Diferencias entre líneas para los caracteres de eficiencia alimentaria.

Carácter	D	HPD <sub>95%</sub>	P <sub>0</sub>
Peso al destete (kg)	0,02	-0,31, 0,32	0,53
Peso al sacrificio (kg)	0,37	-0,17, 0,90	0,92
Ganancia de peso (kg)	0,35	0,03, 0,70	0,98
Consumo por jaula (kg)	1,37	0,36, 2,28	1,00
Índice de conversión	0,05	-0,01, 0,11	0,95

D, mediana de la distribución marginal posterior de las diferencias entre las líneas GA y GB. HPD<sub>95%</sub>, región de alta densidad posterior al 95% de probabilidad. P<sub>0</sub>, probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero cuando D > 0 y menor que cero cuando D < 0.

### EFFECTS OF DIVERGENT SELECTION FOR INTRAMUSCULAR FAT ON FEED EFFICIENCY TRAITS

**ABSTRACT:** A divergent selection experiment for intramuscular fat in Longissimus dorsi (IMF) has been performed in rabbits with success. The aim of this study is to evaluate the correlated responses for IMF on feed efficiency traits. Feed conversion ratio was evaluated during post weaning period in 60 cages of rabbits from the eight generation of selection, 27 cages form the high-IMF line and 37 from the low-IMF line. Cages had nine rabbits. Cages from high-IMF line showed greater slaughter weight and weight gain than cages form low-IMF lines. Selection for high IMF showed an adverse correlated response in feed intake and feed conversion ratio, although it has no practical consequences, due to the low differences found.

**Keywords:** intramuscular fat, feed efficiency, rabbits, divergent selection.

## RESPUESTA CORRELACIONADA EN CARACTERES DE CRECIMIENTO EN UNA LINEA SELECCIONADA POR TASA DE OVULACIÓN Y TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO

Peiró<sup>1,2</sup>, R., Badawy<sup>1,3</sup>, A.Y., Blasco<sup>1</sup>, A. y Santacreu<sup>1</sup>, M.A.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València.

<sup>2</sup>Dirección actual: Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universitat Politècnica de València. <sup>3</sup>Dirección actual: Animal Production Department, Faculty of Agriculture, Suez Canal University, Egipto. msantacr@dca.upv.es

### INTRODUCCIÓN

En conejo, el principal objetivo de un programa de mejora genética es aumentar la producción de carne de conejo con el menor costo (Cartuche et al., 2014). Estos programas se basan en el cruce a tres vías, dos líneas maternas y una paterna. Las líneas maternas se seleccionan por tamaño de la camada al nacimiento o al destete y se cruzan para producir la hembra híbrida (Ragab y Baselga, 2011), mientras que la línea paterna se selecciona por velocidad de crecimiento (Baselga, 2004). Por ello, el conejo comercial presenta un 50% de genes de las líneas maternas, por lo que estas líneas deben presentar una adecuada velocidad de crecimiento.

Existen pocas estimaciones de las correlaciones genéticas entre caracteres reproductivos y de crecimiento. Además, las estimaciones varían dependiendo de la población o raza evaluada, y generalmente son bajas y con un elevado error estándar (Mocé y Santacreu, 2010).

En la Universitat Politècnica de València se ha realizado un experimento de selección en conejo por tasa de ovulación durante 6 generaciones y por niveles independientes para tasa de ovulación y tamaño de camada durante 9 generaciones. El objetivo de este trabajo es estimar la respuesta correlacionada en el peso a los 28 días (P28) y a los 63 días (P63).

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales:** Los animales utilizados en este experimento se seleccionaron durante 6 generaciones por tasa de ovulación (primer periodo de selección) y posteriormente durante 9 generaciones por niveles independientes para tasa de ovulación y tamaño de camada (segundo periodo de selección). La selección por tasa de ovulación se realizó utilizando la tasa de ovulación estimada por laparoscopia en la segunda gestación. En este periodo se aplicó una presión de selección del 30%. En la selección por niveles independientes (segundo periodo de selección), primero se seleccionaron las hembras que presentaban una mayor tasa de ovulación (presión de selección del 65%) y posteriormente las que presentaban el mayor promedio de nacidos totales de los dos primeros partos (presión de selección del 50%).

Todos los animales se alojaron en la granja de la Universitat Politècnica de València. Los animales adultos se alojaron en jaulas individuales con un nido extraíble. Los gazapos se alojaron con la madre hasta el destete (28 días). Posteriormente, se alojaron en jaulas colectivas (agrupando ocho o nueve gazapos) hasta que alcanzan el peso comercial a los 63 días de edad. Los animales seleccionados se alojaron en jaulas individuales hasta las 18-20 semanas de edad, momento en el que inician su vida reproductiva. La monta se realiza a los 12 días post-parto. En la última gestación se estimó la tasa de ovulación post-mortem.

Durante el periodo de engorde (desde los 28 a los 63 días de edad), los conejos fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial (15,0% de proteína cruda, 16,8% de fibra cruda, 2,4% de grasa cruda, 7,3% de cenizas, NANTA, S.A.®). A partir de los 63 días de edad, los conejos fueron alimentados con una dieta comercial (16,5% de proteína cruda, 15,0% de fibra cruda, 3,0% de grasa cruda, 7,8% de cenizas, NANTA, S.A.®).

**Caracteres:** El peso al destete (P28) y el peso al sacrificio (P63) se midió individualmente para cada animal a los 28 y 63 días de edad, respectivamente. El tamaño de la camada (TC) se midió como el número total de gazapos por camada, hasta un máximo de seis partos. La tasa de ovulación (TO) se estimó por laparoscopia en el día 12 de la segunda gestación y post-mortem en la última gestación.

Se han analizado un total de 30.420 y 29.075 datos para los caracteres P28 y P63, respectivamente. Estos datos proceden de un total de 4.027 camadas producidas por 1.317 hembras. Además, se analizaron los datos de 1.210 laparoscopias y 4.480 partos. El número de animales incluidos en el pedigrí ha sido de 30.666.

**Análisis estadísticos:** El modelo utilizado para analizar la TO y el TC fue:

$$y_{ijkl} = AE_i + P_j + a_k + p_k + e_{ijkl}$$

donde,  $AE_i$  es el efecto año-estación (44 y 49 niveles para TO y TC, respectivamente),  $P_j$  es estado fisiológico (4 y 5 niveles para TO y TC, respectivamente),  $a_k$  es el valor aditivo del animal,  $p_k$  es el efecto permanente no aditivo de la hembra, y  $e_{ijkl}$  es el efecto residual.

El modelo utilizado para analizar el P28 y P63 fue:

$$y_{ijklm} = AE_i + OP_j + b \times NV + a_k + m_i + l_{im} + e_{ijklm}$$

donde,  $AE_i$  es el efecto año-estación (46 niveles),  $OP_j$  es el efecto del orden de parto de la camada de origen (cuatro niveles: 1, 2, 3 y >3),  $NV$  es el número de gazapos nacidos vivos en los que nació el animal  $k$  y  $b$  es el coeficiente de regresión,  $a_k$  es el valor aditivo del animal  $k$ ,  $m_i$  es el efecto aleatorio ambiental de la madre del animal  $k$ ,  $l_{im}$  es el efecto aleatorio de la camada común del animal  $k$  y  $e_{ijklm}$  es el efecto residual.

La estructura de las correlaciones entre los efectos así como las distribuciones *a priori* han sido los mismos que los utilizados por Minguez et al. (2015). Se realizó un análisis bayesiano bivalente con aumento de datos (ver Blasco, 2017). Se utilizó una cadena de 3.000.000 iteraciones, con un periodo de quemado de 750.000 iteraciones, tomando una de cada 100. La posible falta de convergencia se realizó utilizando el criterio de Geweke.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso medio obtenido a los 28 y 63 días de edad ha sido de 0,50 y 1,74 kg, respectivamente.

En el primer período de selección se ha incrementado la TO en 0,24 óvulos/generación (lo que corresponde a una mejora de 1,5% por generación) pero la respuesta correlacionada en TC ha sido de 0,07 gazapos/generación (0,8% por generación). Para los caracteres de crecimiento (figura 1), se ha obtenido una respuesta correlacionada en P28 y P63 de 2,7 y 11,3 g/generación, lo que implica una mejora de aproximadamente un 0,5% y 0,7% por generación, respectivamente.

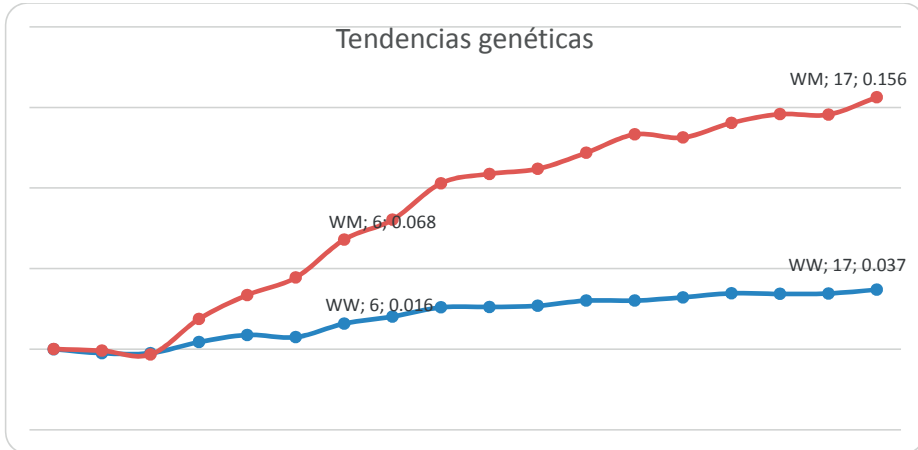
En el segundo período de selección se ha mejorado el TC en 0,17 gazapos/generación (1,9% por generación), debido a la mejora en los dos componentes: TO (0,17 óvulos/generación; 1,0% por generación) y supervivencia prenatal (0,01; 1,7% por generación). Durante este segundo período de selección, la respuesta correlacionada en los caracteres de crecimiento ha sido menor; 1,9 y 8,0 g/generación, lo que implica una mejora de aproximadamente un 0,4% y 0,5% por generación para P28 y P63, respectivamente. La correlación genética moderada positiva estimada entre OR y P63 podría explicar las diferencias entre dos períodos de selección. Durante el primer período de selección, se logró un aumento más alto de la tasa de ovulación y por lo podría explicar una mayor respuesta correlacionada en P63. La respuesta correlacionada en P28 podría explicarse por una correlación genética positiva y alta entre P28 y P63. Resultados similares han sido obtenidos en líneas seleccionadas por tasa de ovulación en conejo (Quirino et al., 2009) y cerdo (Rosendo et al., 2007). En los experimentos de selección por tamaño de camada, la respuesta ha sido nula o negativa (Rochambeau, 1998; García y Baselga, 2002; Minguez et al., 2016).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blasco, A. 2017. Bayesian data analysis for animal scientists. Springer, New York, USA
- Cartuche, L., Pascual, M., Gómez, E.A. & Blasco, A. 2014. World Rabbit Sci. 22:165-177.
- García, M. L. & Baselga M. 2002. Livest. Prod. Sci. 78:91-98.
- Minguez, C., Sánchez, J. P., El Nagar A. G., Ragab M. & Baselga, M. 2016. J. Anim. Breed. Genet. 133:303-315.
- Mocé, M. L. & Santacreu M.A. 2010. Proc. 9<sup>th</sup> World Congress Genet. Appl. Livest. Prod. 1: 25-35.
- Ragab, M. & Baselga M. 2011. Livest. Sci. 136:201-206.
- Rochambeau, H. 1988. Proc. 4<sup>th</sup> World Rabbit Congress 2:1-68.
- Rosendo, A., Canario, L., Druet, T., Gogue, J. & Bidanel, J.P. 2007. J. Anim. Sci.



**Agradecimientos:** El trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2014-55921-C2-1-P) y la Generalitat Valenciana (Prometeo 2009/125).



**Figura 1.** Media genética estimada por generación para peso a los 28 (línea azul) y 63 (línea granate) de edad (en gramos) en un experimento de selección por tasa de ovulación durante 6 generaciones de selección y por niveles independientes para tasa de ovulación y tamaño de camada durante 9 generaciones de selección.

#### SELECTION FOR OVULATION RATE AND LITTER SIZE USING INDEPENDENT LEVELS IN RABBITS: CORRELATED RESPONSES ON GROWTH TRAITS

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the effect of selection for ovulation rate and litter size on growth traits in rabbit. The experiment involved two selection periods. In the first one, selection was performed for ovulation rate, recorded by laparoscopy at day 12 of their second gestation. In the second one, selection was performed for ovulation rate and litter size using independent culling levels. The total selection pressure was around 30 %. The measured traits were ovulation rate (TO), litter size (TC), weaning weight (P28) and marketing weight (P63). Data was analyzed using Bayesian inference methods. Positive correlated response in both periods was obtained for growth traits. The positive moderate genetic correlation estimated between OR and P63 could explain the correlated response found in P63. Correlated response on P28 could be explained by positive and high genetic correlation between P28 and P63.

**Keywords:** litter size, marketing weight, ovulation rate, genetic response, weaning weight.

## **POLIMORFISMOS EN LAS REGIONES REGULADORAS DEL GEN CAST: EFECTOS *IN VIVO* Y *POSTMORTEM* EN CERDOS DE TIPO IBERICO**

Alves<sup>1</sup>, E., Benítez, R., García-Casco, J., Muñoz, M., Caraballo, C., García, F., Silió, L. y Rodríguez, C.

<sup>1</sup>Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, 28040 Madrid  
silio@inia.es

### **INTRODUCCIÓN**

La Calpastatina (CAST) es una proteína que actúa como inhibidor endógeno específico de proteasas no lisosomales como las calpainas, con influencia en la degradación *in vivo* de las proteínas miofibrilares y en su degradación *postmortem* durante la transformación del músculo en carne. Por ello, el gen *CAST* es un potente candidato para explicar la variación genética en la terneza de la carne que ha sido objeto de múltiples estudios en vacuno y porcino (Kemp et al., 2010). Se trata de un gen de gran tamaño y complejidad y, en el caso de la especie porcina, consta de 35 exones que cubren una longitud de 123 Kb. Asimismo su expresión podría estar regulada por cinco promotores, tres de los cuales localizados en el extremo 5' (adyacentes a los exones 1xa, 1xb y 1u) y generan diferentes transcritos y múltiples isoformas (Meyers et al., 2008; Sensky et al., 2006). Actualmente hay más de 10.000 polimorfismos referidos en la base de datos *Ensembl*, para varios de los cuales se han descrito efectos sobre la terneza de la carne de cerdo (Ciobanu et al., 2004; Nonneman et al., 2011). En la mayoría de estos estudios, incluyendo las asociaciones detectadas por nosotros en cerdos de tipo Ibérico (Alves et al., 2013), se han utilizado SNPs localizados en la región codificante del gen. Los objetivos del presente trabajo fueron: a) identificar polimorfismos en regiones promotoras del gen *CAST* en cerdos de tipo Ibérico; b) estudiar la asociación entre las variantes génicas detectadas de mayor interés y la terneza de la carne, y c) estudiar la asociación con caracteres relacionados con el desarrollo muscular, dado el papel regulador del mismo atribuido a la Calpastatina.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Animales, Secuenciación y Genotipado.** Los animales, muestras biológicas y registros empleados en este estudio proceden de dos ensayos: a) 268 cerdos Duroc x Ibérico alimentados *ad libitum* en cebadero y sacrificados con 131 kg de peso medio (Muñoz et al., 2011) y b) 490 Ibéricos puros engordados en Montanera y sacrificados con 165 kg de peso medio (Alves et al., 2016). Como medida de terneza se determinó la resistencia al corte Warner-Blatzer en muestras de lomo utilizando un equipo Texture Analyzer TA-XTplus. Se secuenció casi completa la región codificante del gen (2064 pb-cDNA), así como de las regiones reguladoras (1692 y 1905 pb DNA genómico), en 10 animales Duroc y nueve Ibéricos de distintas procedencias. Un SNP y una InDel detectados en la región promotora adyacente al exón 1xb se genotiparon mediante secuenciación Sanger y un segundo SNP, detectado en la posible región promotora adyacente al exón 1u, fue genotipado por pirosecuenciación.

**Análisis estadístico.** El análisis de los registros de resistencia al corte ( $\text{kg/cm}^2$ ) y rendimiento de lomos (% sobre peso de canal) se llevó a cabo separadamente para cada ensayo, carácter y marcador genético mediante un modelo animal básico con diferentes efectos fijos y como covariables el peso de la canal, así como las requeridas para la estimación de los efectos aditivos (*a*) y dominantes (*d*) de los SNPs o el número de copias de cada alelo de la InDel analizada. Para la realización de los cálculos se utilizó el programa Qxpak v.5.02 (Pérez-Enciso y Misztal, 2011).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las secuencias obtenidas de 19 animales mostraron un total de 16 SNPs y cinco InDels en las posibles regiones reguladoras adyacentes a los exones 1xa, 1xb y 1u. Se eligieron los SNPs g.5669 T>C y g.49346 C>T y la InDel presente en g.5670\_5684 para su genotipado y realización de estudios de asociación. Los polimorfismos se nombran de acuerdo con su posición en la secuencia de GenBank, con número de acceso EU137105. Los dos SNPs presentaron frecuencias alélicas no extremas tanto en los animales Duroc x Ibérico (MAF = 0,37 y 0,40) como en los Ibéricos (MAF = 0,28 y 0,29). Los animales cruzados presentaron

tres alelos para la InDel, dos de ellos con delección de 15 pb (g. 5670\_5684 delGGGGCGGGGCGGGGC) y de cinco pb (g. 5670\_5674 delGGGGC), y el tercero sin delección alguna (alelo *wild*), con frecuencias respectivas de 0,41, 0,17 y 0,42. En los Ibéricos puros únicamente se detectaron los alelos *wild* y g. 5670\_5684 delGGGGCGGGGCGGGGC (delección de 15 pb) con frecuencias idénticas (0,50) en ambos.

En la Tabla 1 se resumen los efectos de estos polimorfismos sobre la resistencia al corte en los animales cruzados e Ibéricos puros. Los tres marcadores presentan importantes efectos en los animales Duroc x Ibérico, en los que la media del carácter es 4,3 kg/cm<sup>2</sup> (SD= 1,2). En los animales Ibéricos puros, solamente la InDel presenta un sustancial efecto sobre la resistencia al corte, con una media en esta población de 4,6 kg/cm<sup>2</sup> (SD= 1,3). En ambos tipos de animales el alelo *wild* - sin delección- está asociado a una carne significativamente más dura. Conforme a la hipótesis, en cruzados y puros se observan efectos significativos de los tres marcadores sobre rendimiento de lomos, carácter elegido como representativo del desarrollo muscular (Tabla 2). La magnitud de estos efectos puede valorarse mejor considerando las diferentes medias del rendimiento de lomos: 5,5% (SD= 0,7) en Duroc x Ibérico y 2,5% (SD= 0,2). De modo consistente con los resultados de terneza, en ambos grupos el alelo *wild* -sin delección- está asociado a mayor rendimiento de lomos.

En estudios previos, se ha determinado mediante q-PCR la expresión del gen *CAST* en muestras de tejido muscular obtenidas en animales de los dos tipos genéticos (diafragma en los cruzados y lomo en los Ibéricos puros), con resultados coherentes con los efectos fenotípicos descritos. El alelo *wild* de la delección afecta positiva y significativamente la transcripción del gen (Alves et al., 2016). En el estudio de expresión en animales puros se diferenció la transcripción de las isoformas *CAST*-1xa, -1xb y -1u, observándose un efecto positivo significativo del alelo g.49346C sobre la expresión global del gen, atribuible al transcrito de la isoforma *CAST*-1u, conforme a la posición del SNP g.49346 C>T, adyacente a la posible región promotora al exón 1u. Estos efectos sobre la transcripción darían lugar a una mayor inhibición de las calpaínas y de los procesos *in vivo* y *postmortem* asociados a estas proteínas. Debe tenerse en cuenta que el SNP g.49346 C>T altera la diana de unión a un factor de transcripción (Myoblast determining factors family, Myf5) relacionado con la regulación temprana del desarrollo del músculo esquelético (Francetic y Li, 2011), lo que explica la relación entre este polimorfismo y el rendimiento del lomo.

Dada su localización próxima, los tres polimorfismos analizados presentan desequilibrio de ligamiento (DL), especialmente fuerte entre los SNPs g.5669 T>C y g.49346 C>T ( $r^2 = 0,95$ , en Ibéricos y 0,46 en Duroc x Ibérico), siendo menor en ambos tipos genéticos el DL entre la InDel y los dos SNPs ( $r^2$  de 0,18 a 0,40). Ello dificulta la interpretación individualizada del conjunto de resultados, haciendo aconsejable la identificación y análisis de los haplotipos presentes: tres en Ibéricos y seis en los cruzados. Los contrastes entre haplotipos (resultados no detallados) permiten descartar la causalidad del SNP g.5669 T>C, indican que los efectos sobre terneza son atribuibles primariamente a la InDel, y confirman que el SNP g.49346 C>T afecta al rendimiento de lomos, con interacción entre ambos polimorfismos.

En nuestro conocimiento las asociaciones detectadas no se han descrito previamente en razas seleccionadas convencionales. ¿Estamos ante unas asociaciones específicas de los cerdos Ibéricos, tanto puros como cruzados?. Está pendiente la comparación de las frecuencias de la InDel y del SNP g.49346 C>T observadas en este estudio con las de razas convencionales. Pero, la singularidad de estos efectos debe atribuirse a un aspecto característico del cerdo Ibérico: su elevada tasa de recambio proteico. Hace más de una década, Rivera-Ferre et al. (2005) mostraron que los animales Ibéricos tienen un potencial de síntesis proteica suficiente para que su deposición de proteína fuera similar a la de la raza Landrace, si bien su elevada degradación proteica limite notablemente su desarrollo muscular, muy inferior a la de la raza citada. Aunque existen distintos sistemas intracelulares de degradación proteica (lisosomales y no lisosomales), los polimorfismos citados de las regiones reguladoras del gen *CAST* pueden afectar sustancialmente a uno de los segundos dando lugar a los efectos estimados sobre terneza y desarrollo muscular.

**Tabla 1.** Efectos aditivos (*a*) y dominantes (*d*) de polimorfismos localizados en promotores del gen *CAST* sobre la resistencia al corte (kg/cm<sup>2</sup>) en muestras de lomo de cerdos de tipo Ibérico

Polimorfismos	Duroc x Ibérico		Ibérico	
	<i>a</i> (SE)	<i>d</i> (SE)	<i>a</i> (SE)	<i>d</i> (SE)
SNP g.5669 T>C	-0,47 (0,16)**	1,07 (0,26)***	0,04 (0,13)	0,25 (0,15)
InDel g. 5670_5684				
- efecto delGGGGC	0,52 (0,16)***	-	-	-
- efecto alelo <i>wild</i>	0,50 (0,11)***	-	0,48 (0,08)***	-
SNP g.49346 C>T	0,43 (0,11)***	0,06 (0,14)	0,06 (0,13)	0,24 (0,15)

*P* < 0,01\*\*; *P* < 0,001\*\*\*

**Tabla 2.** Efectos aditivos (*a*) y dominantes (*d*) de polimorfismos localizados en promotores del gen *CAST* sobre el rendimiento de lomos (% sobre peso canal) de cerdos de tipo Ibérico

Polimorfismos	Duroc x Ibérico		Ibérico	
	<i>a</i> (SE)	<i>d</i> (SE)	<i>a</i> (SE)	<i>d</i> (SE)
SNP g.5669 T>C	-0,16 (0,08)*	0,37 (0,13)**	0,05 (0,02)*	0,01 (0,02)
InDel g. 5670_5684				
- efecto delGGGGC	0,18 (0,08)*	-	-	-
- efecto alelo <i>wild</i>	0,12 (0,06)*	-	0,06 (0,02)**	-
SNP g.49346 C>T	0,15 (0,06)**	0,17 (0,07)*	0,05 (0,02)*	0,01 (0,02)

*P* < 0,05\*; *P* < 0,01\*\*; *P* < 0,001\*\*\*

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, E. et al. 2013. VII World Dry-Cured Ham Congress, Ourique, Portugal, 22-28 Mayo 2013.
- Alves, E. et al. 2016. 9<sup>th</sup> International Symposium on Mediterranean Pig, Portoalegre, Portugal, 3-5 Noviembre 2016.
- Ciobanu, D.C. et al., 2004 J. Anim. Sci. 84: 2973–2982.
- Francetic, T. & Li, Q., 2011. Transcription 2:3, 109-114.
- Kemp, C.M. et al., 2010. Meat Sci. 84: 248–256.
- Meyers, S. N. & Beaver, J. E., 2008. Anim. Genet. 39: 531-543.
- Nonneman, D. et al., 2011. J. Anim. Sci. 89: 2663–2672
- Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2011. BMC Bioinformatics. 12: 202.
- Rivera-Ferre, M.G. et al., 2005. J. Nutrition. 135: 469-478
- Sensky, P.L.K.K. et al. 2006. J. Anim. Sci. 84: 2973–2982.

**Agradecimientos:** Animales, muestras y registros utilizados se obtuvieron en el marco de los contratos CC06-057 INIA-SAT Vallehermoso y CON 12-047 INIA-SRC.

### POLIMORPHISMS ON THE REGULATORY REGIONS OF *CAST* GENE: *IN VIVO* AND *POSTMORTEM* EFFECTS IN CROSSBRED AND PUREBRED IBERIAN PIGS

**ABSTRACT:** Calpastatin (*CAST*) inhibits calpain and, hence, regulates *in vivo* and post *mortem* proteolysis. The *CAST* gene contains multiple promoters that generate different transcripts resulting in several isoforms. We estimated the effects on *longissimus* muscle tenderness and carcass loin content of three polymorphisms located on the gene regulatory regions in 490 purebred Iberian pigs and 298 crossbred with Duroc. Most relevant and consistent associations were observed between InDel g. 5670\_5684 and Warner Blatzer shear force (~ 0.50 kg/cm<sup>2</sup>) and SNP g.49346 C>T and percentage of loins on carcass weight (0.15 % in crossbred pigs and 0.05% in purebred Iberian).

**Keywords:** Iberian pig, Calpastatin, meat tenderness, muscle growth

## GENEALOGÍA, MARCADORES Y DEPRESIÓN CONSANGUÍNEA EN LA PIARA IBÉRICA DEL DEHESÓN DEL ENCINAR

Toro<sup>1</sup>, M.A. y Rodrigáñez<sup>2</sup>, J.

<sup>1</sup>Depto. de Producción Agraria, UPM, Madrid

<sup>2</sup>Dpto. Mejora Genética, INIA, Madrid  
miguel.toro@upm.es

### INTRODUCCIÓN

La preocupación por el cálculo de los coeficientes de consanguinidad y parentesco así como por sus consecuencias, la depresión consanguínea, ha sido una constante en el manejo de la piara de cerdos ibéricos del 'El Dehesón'. Preocupación materializada en el empleo de estrategias de elección de reproductores y de apareamientos que minimicen los riesgos de la depresión. Dichos cálculos, que fueron manuales hasta los años 70 prosiguieron con metodologías más sofisticadas (bayesianas, programación lineal, goteo de genes). De forma análoga, los primeros análisis moleculares, basados en isoenzimas, se continuaron con marcadores de ADN: RAPDs, AFLPs, microsatélites y a partir de los años 90, con las plataformas de genotipado de SNPs. El análisis de secuencias será la próxima etapa de estos estudios. En esta comunicación se revisan algunas de las aportaciones realizadas en estos estudios en la perspectiva de un posible regreso de la piara a su lugar de origen.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Evolución de los coeficientes de parentesco y consanguinidad genealógicos.** El análisis genealógico es el instrumento clásico para estudiar la evolución esperada de la variabilidad genética en una población mediante los conceptos de parentesco y consanguinidad. Suele resumirse en el concepto de censo efectivo aunque en su origen este concepto tenía un significado asintótico referido a un sistema regular de apareamientos. Hay varios métodos para calcular el parentesco y la consanguinidad: a) coeficientes de sendero de Wright; b) método tabular, que siendo muy antiguo, ha sido popularizado con la llegada de los modelos mixtos de evaluación genética; c) método de las contribuciones genéticas; d) 'goteo de genes' (gene-dropping), que es el que proporciona más información aunque a costa de un mayor coste computacional. Tras los primeros análisis de Odriozola (1976), estudios genealógicos más exhaustivos, incluyendo el parentesco debido al cromosoma X, se publicaron al comienzo de este siglo (Toro et al., 2000; Fernández et al., 2002). En el primero se estudió el pedigrí completo de la estirpe Guadyerbos procedente de 24 animales fundadores. La tasa de aumento de la consanguinidad fué de 2,21% por cohortes trianuales ( $N_e = 22,62$ ) o 0,91% por año. En el segundo trabajo se extendió a otras estirpes el análisis de las contribuciones al parentesco de fundadores y no fundadores. En la Figura 1 se representa la evolución a lo largo de su historia de parentesco y consanguinidad en las estirpes actualmente conservadas.

**Análisis genealógicos más complejos: Partición del parentesco y la consanguinidad.** Es posible una partición fina del parentesco y de la consanguinidad (revisado en García-Cortés et al., 2010), de forma que pueda calcularse de una forma exacta la parte de estos coeficientes (bien sea de un individuo o de un cohorte) atribuible a cada uno de sus ancestros. Con este enfoque se analizaron tres de las estirpes de la piara (Guadyerbos, Gamito y Torbiscal) que comparten algunos de sus fundadores (Rodrigáñez et al., 1998). Los resultados indican la importancia genética de una fundadora (Ruperta), con una contribución proporcional a las poblaciones estabilizada en valores respectivos de 0,18, 0,29 y 0,09. La proporción, atribuible a esta fundadora, de la consanguinidad media de las camadas nacidas en estas poblaciones es 0,19, 0,33 y 0,10, respectivamente.

**Parentesco y consanguinidad molecular I: Microsatélites.** A mediados de los años 90 se consideraban los microsatélites como los marcadores idóneos para estudiar el parentesco o la consanguinidad molecular. Una comparación entre el parentesco basado en la información molecular y el genealógico se llevó a cabo genotipando 62 cerdos (Toro et al., 2002; Alves et al., 2008) para 49 microsatélites. Se compararon ocho estimadores de la similaridad molecular con los valores genealógicos. Aunque los estimadores subestimaban de forma sustancial los valores genealógicos la

correlación era alta (0,78 - 0,93) aunque disminuía cuando los animales de distintas estirpes se analizaban separadamente (0,49 - 0,69 en Guadyerbas y 0,37 - 0,47 en Torbiscal). Las simulaciones complementarias indicaban que el desconocimiento de las frecuencias de la población base podrían explicar este sesgo.

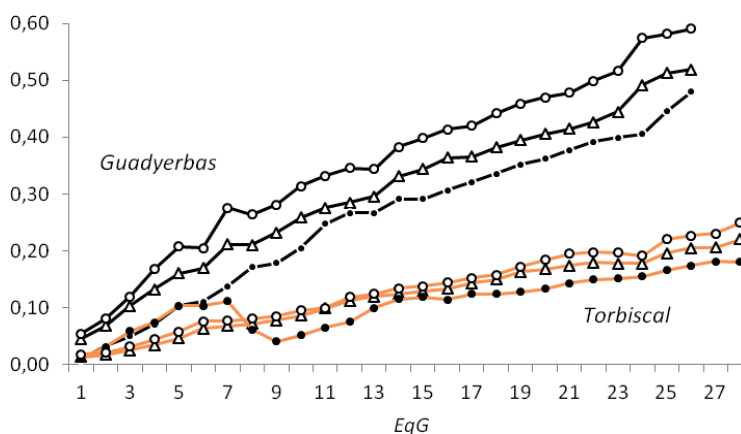
Aunque el parentesco y la consanguinidad molecular son los componentes clásicos de las medidas de diversidad genética, la riqueza alélica tiene asimismo importancia en la genética de la conservación. En el estudio de Rodrigáñez et al. (2008) se compararon métodos de análisis de diversidad genética y riqueza alélica. Se genotiparon para 18 microsatélites (uno por autosoma) un total de 68 jabalíes y 234 cerdos domésticos de las razas Duroc e Ibérico, incluyendo 63 animales de las líneas Torbiscal y Guadyerbas. Los resultados indican que la ordenación de estas poblaciones de acuerdo a sus contribuciones a la diversidad total se modifica en función de los criterios empleados, ya que diversidad genética y riqueza de alelos privados no contemplan el mismo tipo de diversidad.

**Parentesco y consanguinidad molecular II: SNPs.** Las técnicas de genotipado de alta densidad ofrecen nuevas perspectivas en la gestión genética de poblaciones amenazadas. Estos estudios se iniciaron en 'El Dehesón' genotipando para 20.652 SNPs 51 animales Torbiscal generados por una combinación de apareamientos de máximo y de mínimo parentesco para disponer de una amplia dispersión de la consanguinidad. Se observó una correlación alta entre los coeficientes de consanguinidad genealógica y los calculados a partir de los SNPs ( $r = 0,814 - 0,919$ ), aunque unos 200 de frecuencias intermedias proporcionaban una correlación satisfactoria en este escenario (Silió et al., 2013). En un estudio posterior se genotiparon 35.519 SNPs en los reproductores de la estirpe Guadyerbas nacidos entre 1992 y 2001. El parentesco molecular computado con SNPs es un mejor predictor del parentesco genealógico que el obtenido con microsatélites (Saura et al., 2013). Este estudio y otro paralelo realizado en Torbiscal (Silió et al., 2016) confirmaron que las tasas de cambio en parentesco genealógico y por tanto el censo efectivo fueron muy similares a las estimadas con datos moleculares. Recientemente, Gomez-Raya et al. (2015) han desarrollado nuevas medidas de la consanguinidad incorporando la longitud de los ROH (Runs of Homozigosity) como variable aleatoria y calculando varios parámetros asociados con la función de densidad de esta variable. A partir de datos de 217 cerdas Torbiscal genotipadas para 35.023 SNPs se encontró que la correlación entre la mayor parte de los coeficientes de consanguinidad basados en estas nuevas medidas y los genealógicos oscila entre 0,60 y 0,70.

**Estudios sobre la depresión consanguínea.** Uno de los objetivos de los análisis genealógicos es la estima de la depresión consanguínea, que se ha abordado también en casi todos los trabajos anteriores. Aunque el tema había sido ya tratado por Odriozola (1976), un trabajo más extenso se llevó a cabo analizando el número de lechones nacidos vivos entre 1974 y 1984 en 4.657 camadas. Los resultados indicaban una disminución de entre 0,14 y 0,35 lechones por cada 10% de incremento de la consanguinidad (Toro et al., 1988). Utilizando información molecular como medida de la 'homocigosidad realizada', Silió et al. (2013) eligieron un panel de 192 SNPs de frecuencias intermedias genotipados en 322 lechones para estimar la depresión en el crecimiento post-destete. Por cada 10% de aumento de la consanguinidad molecular, se observaron efectos negativos de -4,25% y -1,81% sobre la ganancia diaria y el peso a 90 días, respectivamente. En un estudio posterior en la estirpe Guadyerbas (Saura et al., 2015) se genotiparon 109 cerdas, con datos de lechones nacidos y nacidos vivos, para 51.127 SNPs. La depresión consanguínea se estimó utilizando tres medidas de consanguinidad: a) a partir del pedigrí; b) a partir de los SNPs y c) a partir de los ROHs, detectándose una depresión consanguínea significativa con las tres medidas. Además la información genómica permitió identificar una región en el cromosoma 13 asociada con la depresión solapante con una región en la que previamente se habían localizado un QTL para tamaño de camada. En el estudio más reciente, Silió et al. (2016) analizaron 6.854 camadas Torbiscal que mostraron un impacto negativo significativo de la consanguinidad reciente como se esperaba de acuerdo con la hipótesis de la purga: -0,20 lechones nacidos por camada por un 10% de consanguinidad reciente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, E., Barragán, C & Toro, M.A. 2008. SJAR 6: 248-251.
- Fernández, A., Rodrigáñez, J., Toro, M.A., Rodríguez, M.C & Silió, L. 2002. J. Anim. Sci. 80: 2267–2275.
- Gacia-Cortés, L., Martínez-Ávila, J.C. & Toro, M.A. 2010. Conserv. Genet. 11: 1945–1952.
- Gomez-Raya, L., Rodríguez, C., Barragán, C. & Silió, L. 2015. Genet. Sel. Evol. 47: 81
- Odriozola, M. 1976. IRYDA, 146 pp
- Rodrigáñez, J., Toro, M.A., Rodríguez, C. & Silió, L. 1998. ITEA 94: 316-324
- Rodrigáñez, J., Barragán, C., Alves, E., Gortázar, C., Toro, M.A. & Silió, L. 2008. SJAR 6: 107-115.
- Saura, M., Fernández, J., Rodríguez, M.C., Toro, M.A., Barragán, C., Fernández, A.I. & Villanueva, B. 2013. PLOS ONE 8(10):e78314.
- Saura, M., Fernández, A., Varona, L., Fernández, A.I., de Cara, M.A.R, Barragán, C. & Villanueva, B. 2015. Genet. Sel. Evol., 47:1
- Silió, L., Rodríguez, M.C., Fernández, A., Barragán, C., Benítez, R., Óvilo, C. & Fernández, A.I. 2013. J. Anim. Breed. Genet. 130: 349–360.
- Silió L, Barragán, C, Fernández, A.I, García-Casco J. & Rodríguez, M.C. 2016, J. Anim. Breed. Genet. 133:145-54.
- Toro M.A., Silió, L., Rodrigáñez, J. & Dobao, M.T.I. 1988. Anim. Prod. 46: 79-85.
- Toro, M.A., Barragán, C., Rodrigáñez, J., Rodríguez, M.C. & Silió, L. 2002. Conserv. Genet. 3: 309-320.
- Toro, M.A., Rodrigáñez, J., Silió, L. & Rodríguez, C. 2000. Conserv. Biol. 14: 1843-1851.



**Figura 1.** Evolución de los coeficientes de consanguinidad ( $F$ , ●), parentesco ( $f$ ,  $\Delta$ ) y parentesco para genes del cromosoma X ( $f_x$ ,  $\circ$ ) en sucesivas generaciones de *Guadyerbas* y de *Torbiscal* ( $EqG \geq 9$ ) y sus estirpes fundadoras ( $EqG < 9$ )

## GENEALOGY, MARKERS AND INBREEDING DEPRESSION IN THE ‘EL DEHESÓN’ IBERAN PIG HERD

**ABSTRACT:** Concern about the calculation of coefficients of consanguinity and kinship as well as their consequences, inbreeding depression, has been constant in the management of El Dehesón herd. Concern that has materialized in the implementation of reproductive and mate selection strategies that minimize the risks of depression. These calculations, which began to be manual until the 1970s, were implemented using the most sophisticated methodologies (Bayesian, linear programming, gen dropping). Similarly, the first molecular analysis, based on enzymatic markers, were continued with the classical molecular markers, RAPD, microsatellites and from the 90s, with the platforms of high density genotyping. Sequence analysis will be the next step in these studies. In this communication we review some of the contributions made with these studies if, as we hope, the herd recovers again.

**Keywords:** Iberian pig, genealogical analysis, microsatellites, SNPs

## DEPRESIÓN ENDOGÁMICA POTENCIAL PARA TAMAÑO DE CAMADA EN CERDOS IBÉRICOS DE LA ESTIRPE TORBISCAL

García-Cortés<sup>1</sup>, L.A., Rodríguez, C., Gómez Raya, L., Rauw, W. y Silió, L.

<sup>1</sup>Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, 28040 Madrid

garcia@inia.es

### INTRODUCCIÓN

Le estirpe de cerdo ibérico Torbiscal ha sido preservada durante 28 equivalentes generacionales en la finca El Dehesón del Encinar (Oropesa, Toledo). Manteniendo igualadas las contribuciones de los reproductores se ha tratado de minimizar el parentesco medio entre individuos, mientras que la planificación de apareamientos de mínimo parentesco ha tratado de paliar la consanguinidad en la medida de lo posible. Una revisión exhaustiva de los procedimientos empleados sobre esta pira y sus consecuencias puede encontrarse en estas mismas jornadas (Toro y Rodríguez, 2017).

El análisis de la depresión consanguínea por fundadores ya ha sido realizada por Rodríguez et al. (1998) en una línea consanguínea de cerdos Large White, mientras que Casellas (2016) realizó un análisis de la depresión consanguínea según su origen en fundadores y no fundadores en una población de conejos.

En este trabajo utilizaremos el procedimiento desarrollado por Casellas (2016) para analizar la depresión consanguínea de la estirpe Torbiscal con el objeto de determinar si este tipo de análisis es adecuado para su uso en líneas consanguíneas sometidas a un plan de conservación genética.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se dispone de 6855 registros de tamaño de camada de 1990 cerdas Ibéricas Torbiscal y una genealogía completa que consta de 4882 individuos repartidos en 28 equivalentes generacionales, que en lo sucesivo denominaremos cohortes. El promedio de lechones nacidos por camada fue de 8,3.

El tamaño de camada se considera un carácter de la madre y se analiza con un modelo lineal estándar (Modelo 1) que incluye dos efectos fijos, el número de orden del parto ( $o$ ) y la estación de parto ( $e$ ) y dos efectos aleatorios, el efecto genético aditivo ( $a$ ) y el efecto permanente ( $p$ ).

Modelo 1:  $y = o + e + a + p + e$

Este análisis se completa con un segundo modelo (Modelo 2) que añade a los anteriores el efecto de la depresión endogámica ( $d$ ) tal como describe Casellas (2016).

Modelo 2:  $y = o + e + a + p + d + e$

El efecto de la depresión endogámica relaciona el potencial de depresión endogámica de cada individuo de la población con los fenotipos de sus descendientes por doble vía y se relaciona con la carga de genes deletéreos que porta dicho individuo.

Estos dos modelos se analizan del modo habitual usando inferencia bayesiana y cabe destacar que el nuevo efecto descrito por Casellas (2016) incluye una matriz de incidencias que dicho autor denomina  $Z_3$  y que incluye los coeficientes parciales de consanguinidad tal como describen Caballero y Toro (2000) y García-Cortés et al. (2010).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se presenta la contribución de los individuos de cada cohorte en el parentesco medio de las cohortes sucesivas. En esta figura puede apreciarse, por un lado, que la contribución de la primera cohorte es mayor debido a que acumula las contribuciones de sus ancestros desconocidos. También puede apreciarse el cuello de botella sufrido, por problemas sanitarios, por la población de la cohorte 22, aunque dicha situación se corrige en las cohortes sucesivas.



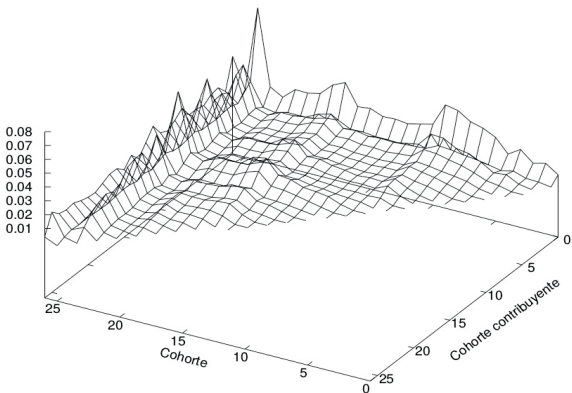
En la Tabla 1 se presentan las medias posteriores de los componentes de varianza para ambos modelos. En esta tabla puede observarse que en ambos modelos el carácter tamaño de camada presenta una varianza aditiva muy baja. También cabe destacar que el componente de varianza del potencial de depresión endogámica es prácticamente nulo.

A pesar de que la única diferencia entre ambos modelos es el efecto del potencial de depresión endogámica, que es prácticamente nulo, la varianza aditiva se ve significativamente reducida en este segundo modelo. Como muestra la Figura 2, las distribuciones posteriores de la varianza aditiva para ambos modelos también dejan ver esta disminución. Cabe destacar que las covarianzas a priori de ambos efectos, el genético aditivo y el del potencial de depresión, coinciden. Este puede ser el motivo de que la varianza posterior de los efectos genéticos aditivos se vea afectada.

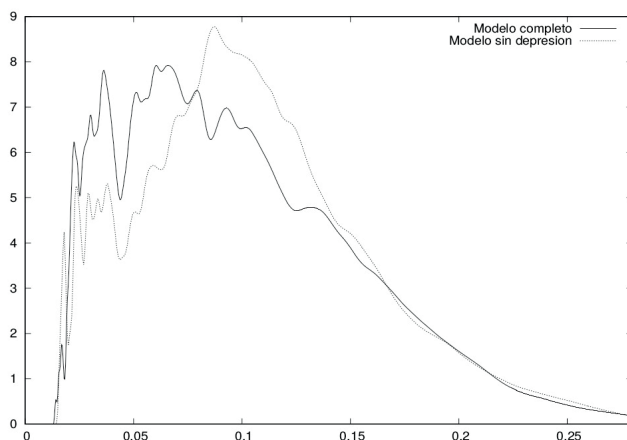
Los efectos de la depresión consanguínea potencial estiman teóricamente la carga de alelos deletéreos de cada individuo, tanto si están en homocigosis o no. En esta población, el valor tan pequeño de estos efectos puede ser debido, por un lado, a que la población ha sufrido un proceso de purga genética debido a su pequeño tamaño efectivo. Por otra parte, igualar las contribuciones provoca una homogeneidad tal que el modelo es incapaz de discriminar eficientemente unos efectos de otros.

**Tabla 1.** Esperanzas marginales posteriores de los componentes de varianza de ambos modelos

	Modelo 1	Modelo 2
Varianza genética aditiva	0,12	0,10
Varianza ambiental permanente	0,58	0,62
Varianza del potencial de depresión consanguínea	-	0,006
Varianza residual	4,26	4,21



**Figura 1.** Contribuciones de cada cohorte al parentesco medio de las cohortes sucesivas en la estirpe Torbisal.



**Figura 2.** Distribuciones marginales posteriores para la varianza genética aditiva en ambos modelos

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caballero, A. & Toro, M. 2000. Genet. Res. 75:331-343.
- Casellas, J. 2016. Reunión de Mejora Genética, Valencia.
- García-Cortés, L.A. et al. 2010. Conserv. Genet. 11:1945-1952.
- Rodríguez, J. et al. 1998. Animal Science 67:573-582.
- Toro, M. & Rodríguez, J. 2017. Jornadas AIDA, Zaragoza, Junio 2017.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado por el proyecto AGL2016-75942-R.

#### POTENTIAL OF INBREEDING DEPRESSION FOR LITTER SIZE IN TORBISCAL IBERIAN PIGS

**ABSTRACT:** Litter size of the Torbiscal strain was analyzed with two models, one of them including the potential of inbreeding depression. The predicted inbreeding depression for each individual was decomposed in terms of the founder and non-founder contributions. Given the conservation management implemented in this population, the contributions of ancestors were not significantly different from zero (0.006). The additive variance was 0.12 and 0.10 for the models including or not the potential of inbreeding depression respectively. Our results suggest that the potential of inbreeding depression cannot be predicted in closed populations where optimal genetic contributions have been implemented.

**Keywords:** Genetic contributions, litter size, Iberian pigs, inbreeding depression

## EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE LA DIETA CON ÁCIDO OLEICO SOBRE EL METABOLISMO MUSCULAR EN *BICEPS FEMORIS* DE CERDOS IBÉRICOS EN CRECIMIENTO

Benítez<sup>1</sup>, R., Isabel<sup>2</sup>, B., Fernández<sup>1</sup>, A., Núñez<sup>1</sup>, Y., De Mercado<sup>3</sup>, E., Gómez Izquierdo<sup>3</sup>, E., García-Casco<sup>1</sup>, J., López-Bote<sup>2</sup>, C. y Óvilo<sup>1</sup>, C.

<sup>1</sup> Dpto. de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. Coruña, km 7,5, Madrid.

<sup>2</sup> Dpto. Producción Animal, UCM. Ciudad Universitaria, s/n, Madrid

<sup>3</sup> Centro de pruebas de porcino ITACYL (Hontalbilla), Segovia.

rmbenitez@inia.es

### INTRODUCCIÓN

La composición de los tejidos animales es determinante en la calidad de sus productos y está influenciada por varios factores como son: la dieta, la raza, la edad y el sexo. La raza Ibérica se caracteriza por su alto potencial lipogénico, gran capacidad de desaturación y un característico perfil de ácidos grasos condicionado por su sistema tradicional de producción en Montanera, que conduce a un cambio en el perfil lipídico en el músculo y la grasa con un incremento de ácidos grasos monoinsaturados, principalmente oleico (Ventanas et al., 2008; Barea et al., 2013). En cerdo ibérico el empleo de pienso enriquecidos en ácido oleico puede favorecer la monoinsaturación de los tejidos y emplearse como alternativa al engorde tradicional en Montanera (López-Bote, 1998). Esta modificación de los tejidos puede deberse a acumulación directa de los componentes de la dieta pero también a la modulación de la síntesis endógena mediante cambios en la expresión génica y en la actividad enzimática. En este trabajo se han evaluado los efectos de una dieta suplementada con 6% de girasol alto oleico (HO) y otra basada en carbohidratos como fuente de energía (CH) sobre la composición tisular y parámetros productivos de cerdos Ibéricos en crecimiento temprano. También se ha realizado un estudio comparativo del transcriptoma del músculo *Biceps femoris* mediante secuenciación masiva (RNAseq) entre los animales sometidos a los dos tipos de dieta.

### MATERIAL Y METODOS

**Animales y registros fenotípicos:** Se utilizaron 29 machos castrados Ibéricos Torbiscal, que comenzaron el ensayo con 19,9 kg (SD=3,8 kg) de peso medio y que se mantuvieron en condiciones idénticas de manejo, excepto el tratamiento nutricional con dietas isoenergéticas e isoproteicas incorporando aceite de girasol de alto oleico (HO, n=14) o carbohidratos (CH, n=15) como fuente de energía. Los animales se sacrificaron después de siete días de tratamiento con 24,1 kg (SD=4,5 kg) de peso medio. Para el estudio transcriptómico se utilizaron 6 animales de cada dieta, elegidos de forma equilibrada en pesos, edades y camadas. Se registró el consumo de pienso, la ganancia media de peso y el índice de conversión. Se muestrearon los músculos: *Longissimus dorsi* y *Biceps femoris* y la grasa subcutánea de lomo y bíceps.

**Análisis fenotípico:** Se determinó el contenido en grasa intramuscular y la composición de ácidos grasos del músculo *B.femoris*, siguiendo el procedimiento descrito por Segura y López-Bote (2014). La influencia de la dieta sobre la composición de ácidos grasos se analizó con un modelo que incluyó dieta como efecto fijo, y box y camada como aleatorios mediante el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (SAS, 2002).

**Análisis transcriptómico:** Se extrajo ARN total de bíceps de 12 animales (6 HO y 6 CH) con el sistema Ribopure (Ambion). Se generaron librerías que fueron secuenciadas utilizando la plataforma HiSeq2000 (Illumina, Inc.). La calidad de las secuencias fue analizada con la herramienta FastQC, verificando la calidad media de bases por posición, la longitud de las lecturas, porcentaje de cobertura, ambigüedad de bases, contenido en GC y contenido en secuencias sobre representadas.

El mapeo de las lecturas frente al genoma de referencia (Sscrofa10.2) se realizó con la herramienta libre TopHat v.2.1.0 (Trapnell et al., 2012), tras la eliminación de las secuencias de los adaptadores de Illumina utilizando la herramienta Trim\_Galore. También se eliminaron aquellas bases que presentaron una calidad inferior a 20 (*Phred score*) y a en su caso, las lecturas que habían quedado reducidas a un tamaño

menor de 40 bases. Para el ensamblado se utilizó Cufflinks v.2.0.2 que emplea el archivo de anotaciones GTF, teniendo en cuenta las posibles alternativas de *splicing* de cada gen, y aporta información sobre la expresión de éste en FPKM (lecturas por kilobase por cada millón de lecturas mapeadas). Para confirmar que el mapeo había sido correcto se utilizaron dos herramientas: Samstats y Qualimap. El análisis de expresión diferencial se realizó con la herramienta libre Cuffdiff, después de unir los transcritos ensamblados de todas las muestras en un solo archivo con Cuffmerge, aumentando así la profundidad de secuenciación. Se llevó a cabo un filtrado de los genes diferencialmente expresados (DE) obtenidos de acuerdo con tres criterios (Ayuso et al., 2012), una expresión media mayor de 0.5 FPKM en al menos uno de los grupos, un valor de Fold Change (FC)  $\geq 1,5$  y un FDR  $< 0,1$ . El paquete de R CummeRbund fue utilizado para analizar el *output* de Cuffdiff. Se realizó un *clustering* de las muestras para identificar cada uno de los grupos y se comparó la expresión entre las dos dietas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Análisis fenotípico:** Los parámetros productivos de los animales tras una semana de tratamiento únicamente indicaron efecto de la dieta en el caso del músculo *B. femoris* que presentó un mayor porcentaje de grasa intramuscular en aquellos animales que recibieron la dieta HO (2,39 vs 2,07,  $P < 0,04$ ). La composición de los ácidos grasos en el músculo *B. femoris* y en la grasa del bíceps reflejó la composición de la dieta, con mayor cantidad de oleico y MUFA, y menor SFA y PUFA en la dieta HO.

**Análisis del transcriptoma:** Para cada muestra secuenciada se obtuvo una media entre 60-80 millones de lecturas. Todas las muestras pasaron el control de calidad (FastQC). TopHat/Cufflinks mapeó entre el 78 y el 83 % de lecturas, la mayoría de ellas de forma pareada. Para obtener el número de genes expresados se determinó el valor de FPKM. Se detectaron 14182 genes expresados (de los 29661 genes anotados). La mayoría de ellos (10888) presentó una expresión media o baja, entre 0,5 y 10 FPKM, siendo una pequeña minoría (545) los que expresaron con un valor superior a 1000 FPKM.

Se identificaron 25 genes DE, de los cuales 17 genes estaban sobre expresados en HO y ocho en CH. El rango de los FC en los 17 genes sobre expresados en HO osciló entre 2,3 y 23,5 y entre 1,9 y 11,2 en los sobre expresados en CH. Los genes con mayores diferencias de expresión fueron *ALB* y *APOC3* sobre expresados en HO y el *microRNA143* y *TBXAS1* en CH. Se realizó una interpretación funcional (rutas metabólicas y funciones GO más destacadas) de los 25 genes DE con los softwares IPA y DAVID. Se observó un enriquecimiento de las funciones relacionadas con metabolismo lipídico, bioquímica de pequeñas moléculas, transporte de moléculas, desarrollo celular y muerte, y supervivencia celular. Los cuatro genes citados previamente están relacionados con el metabolismo lipídico en concreto con la síntesis lipídica y el metabolismo y la acumulación de ácidos grasos. Se detectaron también posibles reguladores, como *ATF4*, *PPARGC1A* y *TNF* que podrían regular la expresión de varios genes DE relacionados con esas mismas funciones biológicas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barea et al. 2013. *Animal* 7: 688-6.
- López-Bote, C. J. 1998. *Meat Science* 26: 121-129.
- Segura, J. & Lopez-Bote, C.J. 2014. *Food Chem.* 15: 145: 821-5
- Trapnell et al. 2012. *Nat. Protoc.* 7(3): 562-78.
- Ventanas et al. 2008. *Animal* 2: 621-630.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado con los proyectos S2013/ABI-2913 MEDGAN-CM y MINECO AGL2013-48121-C3. Agradecemos la colaboración de todo el personal del Centro de pruebas de porcino ITACYL (Hontalbilla) Segovia.

**Tabla 1.** Interpretación funcional de los 25 genes DE (IPA).

Categories	Functions Annotation	Genes	P-Value
Lipid Metabolism, Small Molecule Biochemistry	synthesis of lipid	ALB,APOC3,CYP1A1,INSIG1,NR4A3,PKD4,TBXAS1,VEGFA	2,29E-06
Lipid Metabolism, Molecular Transport	accumulation of triacylglycerol	APOC3,INSIG1,mir-143,PKD4	2,99E-06
Lipid Metabolism, Molecular Transport	concentration of lipid	ALB,APOC3,CYP1A1,INSIG1,PCK2,PKD4,PHGDH,VEGFA	6,98E-06
Lipid Metabolism, Small Molecule Biochemistry	fatty acid metabolism	ALB,APOC3,CYP1A1,INSIG1,PKD4,PHGDH,VEGFA	7,56E-06
Cellular Development and Tissue Development	differentiation of connective tissue cells	BMPR1B,INSIG1,mir-143,NR4A3,PKD4,TF,VEGFA	1,66E-05
Lipid Metabolism, Molecular Transport	accumulation of lipid	APOC3,INSIG1,mir-143,PKD4,PHGDH	3,17E-05
Lipid Metabolism, Small Molecule Biochemistry	synthesis of fatty acid	ALB,APOC3,INSIG1,PKD4,VEGFA	3,37E-05
Connective Tissue Development and Function	adipogenesis	BMPR1B,mir-143,NR4A3,PKD4	3,58E-05
Nutritional Disease	obesity	APOC3,GPT2,mir-143,NR4A3,PKD4,VEGFA	4,00E-05
Inflammatory Response	inflammation of organ	ALB,CISH,CYP1A1,INSIG1,mir-143,PKD4,PHGDH,TF,VEGFA	4,11E-05
Gene Expression	binding of DNA	ALB,BMPR1B,CISH,CYP1A1,TF,VEGFA	4,30E-05
Cell Death and Survival	necrosis	ALB,APOC3,BMPR1B,CISH,mir-143,NR4A3,PCK2,PHGDH,SES2,TF,TMEM107,VEGFA	7,80E-05
Cellular Growth and Proliferation	proliferation of cells	ALB,BMPR1B,CISH,CYP1A1,INSIG1,mir-143,NR4A3,PCK2,PKD4,PHGDH,SES2,TBXAS1,TF,VEGFA	9,52E-05
Energy Production and Lipid Metabolism	oxidation of lipid	CYP1A1,NR4A3,PKD4,SES2	1,01E-04

### EFFECTS OF DIET SUPPLEMENTATION WITH OLEIC ACID ON MUSCLE METABOLISM IN BICEPS FEMORIS OF GROWING IBERIAN PIGS

**ABSTRACT:** Tissue composition largely determines the quality of meat and meat products and is influenced by factors as diet, genetic type, age or sex. Diet influences animal body and tissue composition due to direct deposition and to the nutrients effects on metabolism. In this study we evaluated the effects of a diet supplemented with 6% high oleic sunflower (HO) or carbohydrates as an energy source (CH) on the tissue composition and quality traits of growing Iberian pigs. A comparative study of the *Biceps femoris* transcriptome with RNAseq between animals fed with both types of diet was also carried out. Fatty acid composition of animal tissues reflected the diet composition and indicates higher lipogenesis in CH group, as expected. We detected 25 DE genes, some of them with relevant functions in lipid metabolism, small molecule biochemistry, molecular transport, cellular development, inflammatory response and cell death and survival (i.e. *ALB*, *INSIG1*, and *APOC3*). The bioinformatic analysis also allowed to predict potential regulators for the expression differences observed.

**Keywords:** Iberian pig, RNA-Seq, tissue composition, diet.

## EFFECTO DEL GENOTIPO Y EL PESO FETAL SOBRE EL TRANSCRIPTOMA MUSCULAR DEL CERDO IBÉRICO

García-Contreras<sup>1</sup>, C., Vazquez-Gómez<sup>2</sup>, M., Astiz<sup>1</sup>, S., Rey<sup>2</sup>, A., Benítez<sup>1</sup>, R., Núñez<sup>1</sup>, Y., Isabel<sup>2</sup>, B., González-Bulnes<sup>1</sup>, A y Óvilo<sup>1</sup>, C.

<sup>1</sup>INIA, Madrid, España. <sup>2</sup>Facultad de veterinaria, UCM, Madrid, España

garcia.consolacion@inia.es

### INTRODUCCIÓN

El cerdo Ibérico, en comparación con razas comerciales mejoradas, tiene una elevada tendencia a la acumulación de grasa subcutánea e intramuscular, mayores índices de desaturación de grasa, mayores niveles de circulación de leptina en sangre, así como un mayor consumo de alimento debido a su genotipo ahorrador y resistencia a leptina (Muñoz et al., 2009; Óvilo et al., 2005). El crecimiento pre y postnatal, así como los aspectos críticos de la calidad de la carne, como el contenido de grasa intramuscular (GIM) y la composición de ácidos grasos (AG) están fuertemente determinados por la raza y el genotipo, incluso en fases de desarrollo temprano (Ayuso et al., 2016). Por otra parte, otros estudios previos han mostrado que la raza de cerdo Ibérico es altamente susceptible a cambios en la cantidad y composición de la dieta, especialmente durante el desarrollo prenatal donde las deficiencias nutricionales pueden inducir a la aparición del crecimiento intrauterino restringido (IUGR; Gonzalez-Bulnes et al., 2012). Por ello, puede considerarse que tanto el genotipo como otros factores individuales, como la nutrición materna durante periodos críticos del desarrollo fetal podrían afectar al crecimiento y metabolismo y regular la expresión de genes relacionados con el desarrollo y la acumulación de grasa, actuando sobre la homeostasis fetal y permitiendo la adaptación a condiciones adversas. El objetivo de este estudio fue evaluar los patrones de expresión del genoma en músculo *L. dorsi* en individuos de distinto tipo genético (Ibérico puro e Ibérico cruzado con Large White) y en individuos con fenotipos extremos de crecimiento fetal, con el fin de identificar los genes y vías moleculares implicados en las diferencias fenotípicas entre dichos grupos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio incluyó 7 cerdas múltiparas Ibéricas puras, inseminadas con semen heterospérmico (mezcla de semen de verraco Ibérico puro y Large White, 1:1) con el fin de obtener fetos cruzados Ibérico x Large White (IBxLW) y fetos Ibéricos puros (IBxIB). Las cerdas fueron alimentadas con una dieta estándar hasta el día 35 de gestación, momento en el cual la cantidad de alimento se redujo a un 50% de sus necesidades de mantenimiento para la gestación. Este tipo de dieta afecta al correcto desarrollo fetal e induce la aparición de IUGRs (Gonzalez-Bulnes et al., 2012). A día 77 de gestación, se sacrificaron los animales obteniéndose un total de 51 fetos (27 fetos IBxIB, 15 machos y 12 hembras; y 24 fetos IBxLW, 14 machos y 10 hembras). La identificación del genotipo fetal se realizó mediante el análisis de polimorfismos en los genes *LEPR*, *IGF2* y *MC1R*, útiles como marcadores raciales, utilizándose ADN obtenido de muestras de hígado de todos los animales. Se pesaron y midieron todos los fetos y se tomaron muestras de músculo *longissimus dorsi* para el estudio del transcriptoma fetal. Para el análisis del transcriptoma se seleccionaron un total de 32 fetos con pesos extremos, 16 IBxIB y 16 IBxLW. La extracción del ARN total se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del kit RiboPure (Ambion) y su calidad se evaluó mediante análisis en Agilent 2100 Bioanalyzer. La preparación de la librería se efectuó mediante el *mRNA-Seq sample preparation kit* (Illumina) y se realizó la evaluación de la calidad de las lecturas secuenciadas mediante FASQC. A continuación, se usó Trim Galore (v.0.4.1) para la eliminación de los adaptadores de secuenciación y las colas de Poly A y Poly T. Las lecturas se mapearon frente al genoma de referencia (Sscrofa10.2) usando TopHat v.2.0.12 con Bowtie2 (v.2.2.3). Los transcritos se ensamblaron y se cuantificaron en FPKM mediante Cufflinks v.2.2.1, seguido de Cuffmerge, que fusiona los transcritos ensamblados de todas las muestras con los transcritos de referencia. Se utilizó Cuffquant para calcular los niveles de expresión génica para cada muestra. El paquete CummeRbund Bioconductor R se utilizó para analizar las salidas de Cuffdiff y determinar el agrupamiento de las muestras de acuerdo con los datos de expresión, con el fin de evaluar la consistencia de los grupos comparados. La interpretación

biológica de los datos de expresión diferencial obtenidos se llevó a cabo utilizándose la herramienta DAVID. Se calculó un valor de *P* corregido por pruebas múltiples utilizando el algoritmo de Bonferroni y se consideraron significativos los términos GO con un valor de  $q < 0,05$ . Además, se utilizó el *software* Ingenuity Pathway Analysis (IPA) para identificar y caracterizar las funciones biológicas, las redes de genes y las rutas canónicas afectadas por los genes diferencialmente expresados (DE).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

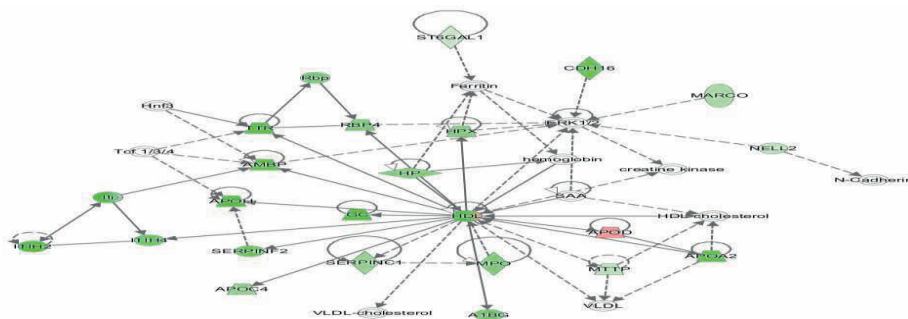
La media del peso fetal fue de 328,13±72,32g observándose un efecto del genotipo, siendo los fetos cruzados más pesados que los Ibéricos (363,13±68,91g vs. 293,13±57,88g respectivamente;  $P < 0,005$ ). Con respecto al análisis de la expresión génica se encontraron 368 genes DE en función del tipo genético ( $q < 0,05$ ), de los cuales 303 estuvieron sobreexpresados en fetos IBxIB (con un FC entre 2,9 y 835;  $q < 0,05$ ) y 65 en LWxIB (rango de FC entre 2 y 857;  $q < 0,05$ ). Se observaron genes candidato como *NR4A3*, *PFKFB3*, *PPARG1-α*, *APOD* o *CCL2* ( $q < 0,005$ ) sobreexpresados en fetos LWxIB. Los genes *PPARG1-α*, *PFKFB3* y *APOD* son genes que están relacionados con procesos metabólicos como el metabolismo de la fructosamina, la glicolisis, el metabolismo lipídico o con el desarrollo cerebral. En el caso de fetos IBxIB, se observó una activación de genes relevantes como *CEBPA*, *PPARG*, *MARCO*, *GATA1*, *APOA2* o *APOE*. Este último, *APOE*, está relacionado con procesos biológicos como respuesta al exceso de dieta, procesos catabólicos del colesterol, transporte lipídico o respuesta a estrés oxidativo. *PPARG* está considerado como uno de los principales reguladores de la adipogénesis; de hecho, mutaciones en dicho gen han sido relacionadas con la reducción del tejido adiposo y el contenido en grasa en ratones (Olswang et al., 2002). Las principales funciones biológicas alteradas que se observaron fueron el metabolismo lipídico ( $P < 0,000001$ ; Figura 1) y la interacción señalización célula-célula ( $P < 0,000001$ ). Asimismo, la interpretación funcional de los genes DE permitió identificar reguladores potencialmente involucrados en las diferencias de expresión, como *CEBPA*, *CEBPB*, *HNF1A* o *HNF4A*, todos ellos activados en el músculo de animales puros. Los resultados de expresión génica diferencial en genes relacionados con el metabolismo lipídico concuerdan con las diferencias significativas observadas entre fetos IBxIB y LWxIB en cuanto a los niveles de colesterol total en sangre (54,28±2,11mg/dl vs. 44,77±2,75mg/dl respectivamente;  $P < 0,01$ ) y en los niveles de LDL (36,36±2,05mg/dl vs. 30,51±1,58mg/dl respectivamente;  $P < 0,05$ ), con mayores niveles en fetos IBxIB. El muestreo realizado también permitió analizar el efecto del peso fetal sobre la expresión génica, comparando dentro de cada genotipo los fetos con valores extremos de peso. En fetos IBxIB, se encontraron 26 genes DE en función del peso, estando 22 sobreexpresados en individuos de peso alto (FC entre 1,7 y 34,1;  $q < 0,05$ ), entre los que podemos destacar el gen *MMP9* relacionado con la unión de colágeno y fibronectina, esencial en el desarrollo muscular. Por otro lado, en los individuos de bajo peso, sólo encontramos 4 genes sobreexpresados (FC entre 1,8 y 168,5;  $q < 0,05$ ). Sin embargo, cuando se analizó el efecto peso en fetos cruzados, se observó un total de 78 genes DE, siendo en este caso sólo 5 los genes sobreexpresados en individuos de alto peso (FC entre 3,1 y 65,4;  $q < 0,05$ ) y 73 los activados en los pequeños (FC entre 1,8 y 1337;  $q < 0,05$ ). Entre éstos últimos (en los de bajo peso, cruzados) se detectaron genes como *APOD* relacionado con procesos metabólicos lipídicos, transporte de lípidos, metabolismo de la glucosa o la angiogénesis; o *PTGS2*, relacionado con el metabolismo y la biosíntesis de ácidos grasos, lo que podría estar relacionado con la mayor acumulación de grasa y la tendencia a la obesidad de estos individuos en la vida adulta. En concordancia, las funciones y redes enriquecidas en individuos de bajo peso estuvieron relacionadas con enfermedades neurológicas, anomalías del desarrollo o desórdenes tisulares.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayuso, M., Fernandez, A., Nunez, Y., Benitez, R., Isabel, B., Fernandez, A. I., Rey, A. I., Gonzalez-Bulnes, A., Medrano, J. F., Canovas, A., Lopez-Bote, C. J. & Ovilo, C. 2016. PLoS One. 11(12): e0167858.
- Gonzalez-Bulnes, A., Ovilo, C., Lopez-Bote, C.J., Astiz, S., Ayuso, M., Perez-Solana, M. L., Sanchez-Sanchez, R. & Torres-Rovira, L. 2012. Reproduction. 144(2):269-278.
- Muñoz, G., Ovilo, C., Silio, L., Tomas, A., Noguera, J. L., & Rodriguez, M. C. 2009. J Anim Sci. 87(2): 459-468.
- Olswang, Y., Cohen, H., Papo, O., Cassuto, H.,

Croniger, C. M., Hakimi, P., Tilghman, S. M., Hanson, R. W. & Reshef, L. 2002. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 99(2):625-630. • Óvilo, C., Fernández, A., Noguera, J. L., Barragán, C., Letón, R., Rodríguez, C., Mercadé, A., Alves, E., Folch, J. M., Varona, L. & Toro, M. 2005. Genet. Res. 85(1), 57–67.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto nacional AGL2013-48121-C3-R del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (MINECO). C. García-Contreras y M. Vázquez-Gómez disfrutaron de un contrato FPI del MINECO (BES-2014-070464) y un contrato FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (FPU014/01285).



**Figura 1.** Red génica de genes DE relacionados con el metabolismo lipídico, el transporte molecular y la bioquímica de pequeñas moléculas.

## EFFECT OF FETAL GENOTYPE AND WEIGHT ON MUSCLE TRANSCRIPTOME OF IBERIAN PIG

**ABSTRACT:** The Iberian pig breed is characterized by higher adipogenic potential and lower lean growth than commercial breeds. Also, Iberian pigs are highly susceptible to changes in maternal nutritional level and diet composition, with growth and tissue composition being highly dependent on genetic type and diet, even at early developmental stages. The aim of this study was to evaluate the expression profiles of the *longissimus dorsi* transcriptome of pure Iberian and Iberian x Large White crossbred fetuses, with extreme body weight values, in order to identify the genes and molecules involved in their phenotypic differences. We obtained a total of 51 purebred and crossbred fetuses at day 77 gestation. *L. dorsi* transcriptome was studied with RNAseq in 32 fetuses, 16 from each genotype, and selecting individuals with extreme body weight values in each genotype. The results showed that 368 genes were differentially expressed (DE) between genotypes and the enriched functions in Iberian fetuses were related to lipid metabolism and cell to cell signaling interaction. On the other hand, 26 genes were affected by weight in Iberian fetuses; while in crossbred animals 73 were DE conditional on weight. The identified genes indicate differential regulation of relevant functions and pathways mainly involved in lipid metabolism, muscle development and tissue disorders, which may explain the phenotypic differences among the compared groups.

**Keywords:** Iberian pig, prenatal development, genotype, transcriptome



## EXPRESIÓN MUSCULAR DE RNAs LARGOS NO-CODIFICANTES EN RESPUESTA A LA INGESTIÓN DE ALIMENTOS

Cardoso<sup>1,2</sup>, T.F., Quintanilla<sup>3</sup>, R., Tibau<sup>4</sup>, J., Mármol-Sánchez<sup>1</sup>, E., González-Rodríguez<sup>3</sup>, O., González-Prendes<sup>1</sup>, R., Ballester<sup>3</sup> y Amills<sup>1</sup>, M.

<sup>1</sup>Departament de Genètica Animal, Centre de Recerca en Agrigenòmica (CSIC-IRTA-UAB-UB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193. <sup>2</sup>Fundación CAPES, Ministerio de Educación de Brasil, Brasilia - DF 70040-020, Brasil. <sup>3</sup>Genètica y Mejora Animal, IRTA, Torre Marimon, Caldes de Montbui 08140. <sup>4</sup>IRTA-Monells, Finca Camps i Armet s/n, Monells 17121. taina.figueiredo@cragenomica.es

### INTRODUCCIÓN

La secuenciación masiva del transcriptoma ha revelado la expresión de millares de RNA largos no-codificantes (lncRNA) cuya función se desconoce. Los lncRNAs tienen un tamaño mínimo de 200 nucleótidos y en humano representan un 68% del catálogo de genes expresados (Iyer et al., 2015). Estudios en humano y ratón han revelado que los lncRNA tienen un efecto muy importante sobre la regulación de la expresión génica a través de una variedad de mecanismos que incluyen la unión a los promotores de los genes, la remodelación de la cromatina y la modificación de las histonas, el reclutamiento de proteínas capaces de unirse a regiones reguladoras y el enmascaramiento de lugares de *splicing* en el mRNA (Jeon and Lee, 2011; Kino et al., 2010; Schmitz et al., 2010).

La expresión diferencial de lncRNAs se ha investigado en porcino con el fin de adquirir nuevos conocimientos sobre sus potenciales consecuencias fenotípicas. Zhao et al. (2015) identificaron lncRNAs que podrían desempeñar un papel clave en el desarrollo del músculo fetal porcino y demostraron que en general los lncRNAs están menos conservados que los genes que codifican mRNAs. Zhou et al (2014) usaron datos de RNA-seq y anotaciones de Unigene (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/unigene>) para identificar un total de 6621 RNAs largos no-codificantes e intergénicos (lincRNA) en porcino, y dicho catálogo fue ampliado a 12103 lincRNAs que actualmente están almacenados en la base de datos Animal lncRNA database (ALDB, <http://www.ibiomedical.net/aldb/>).

En un experimento previo, analizamos la expresión diferencial de mRNAs en el músculo *gluteus medius* porcino en respuesta a la ingestión de alimento (Cardoso et al., 2016). Dicho trabajo demostró que el aporte de nutrientes al músculo esquelético afecta a la expresión de numerosos factores de transcripción, algunos de ellos relacionados con el mantenimiento de los ritmos circadianos, y genes relacionados con el metabolismo, el estrés oxidativo y la formación de vasos sanguíneos. En el presente trabajo, nos hemos planteado extender estos análisis a la fracción lncRNA del transcriptoma.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Muestras biológicas y diseño experimental:** Para el experimento de análisis de la expresión lncRNA se obtuvieron muestras biológicas de cerdas sometidas a los siguientes tratamientos: T0 (ayuno), T1 (5 h post-ingestión de alimento) y T2 (7 h post-ingestión), conforme a lo descrito en Cardoso et al. (2016). Cada uno de estos puntos temporales estuvo representado por un total de 12 hembras de la raza Duroc, cuya fase de transición y engorde se había llevado a cabo en la granja experimental de porcino de IRTA-Monells, en idénticas condiciones de alojamiento, manejo y alimentación *ad libitum*. Cuando las cerdas alcanzaron un peso de 80 kg (edad aproximada de 120 días) fueron sacrificadas en el matadero experimental de IRTA-Monells.

**Medición de la expresión de lncRNAs mediante RNA-seq:** De cada individuo, se obtuvo una muestra del músculo *gluteus medius* que fue almacenada en RNAlater. El RNA total se extrajo con el kit RiboPure (Ambion, Austin, TX), se comprobó su calidad y cantidad, y fue secuenciado en el Centre Nacional d'Anàlisi Genòmica (CNAG, <http://www.cnag.cat>), mediante la aproximación RNA-seq, con un aparato HiSeq 2000. La calidad de las secuencias se verificó con el software *FASTQC*. Posteriormente, las secuencias fueron mapeadas con el programa *STAR* (Dobin et al., 2013), teniendo en cuenta el genoma de referencia porcino Sscrofa10.2. Para anotar los lncRNAs porcinos, se utilizaron dos bases de datos diferentes, Ensembl (<http://www.ensembl.org>) y ALDB (<http://www.ibiomedical.net/aldb>). Posteriormente, la expresión de los lncRNAs se cuantificó con el programa

*FeatureCounts v1.24.1* (Liao et al., 2014). Los análisis de expresión diferencial se realizaron con el paquete bioinformático *DESeq2* (Anders and Huber, 2010). El logaritmo de la tasa de cambio o "fold-change" (FC) se tuvo en cuenta para valorar si la expresión de un gen aumenta (valor positivo) o disminuye (valor negativo) respecto a un punto temporal de referencia, ya sea T0 (en las comparaciones T0-T1 y T0-T2) o T1 (en la comparación T1-T2). La búsqueda de lncRNA ortólogos en otras especies de mamíferos, así como la identificación de loci codificantes de proteínas situados cerca (< 30 kb) de los genes lncRNAs, se llevó a cabo con la herramienta *BioMart* de Ensembl (<http://www.ensembl.org/biomart/martview>) y la base de datos ALDB.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante las bases de datos Ensembl y ALDB, se identificó un total de 95 y 2688 lncRNAs expresados en el músculo *gluteus medius* porcino, respectivamente. Solamente 5 (Ensembl) y 71 (ALDB) lncRNAs mostraron expresión diferencial en respuesta a la ingestión de alimento ( $P$ -valor  $\leq 0,01$  y  $|\log_2FC| \geq 1$ ). Se llevó a cabo un segundo análisis de expresión diferencial más estricto ( $q$ -valor  $\leq 0,05$  y  $|\log_2FC| \geq 1$ ), y ninguno de los lncRNAs identificados como expresados diferencialmente con Ensembl superó la corrección del  $P$ -valor para múltiples contrastes, mientras que 10 lncRNAs presentes en ALDB continuaron siendo significativos. Los resultados más significativos (ALDB y Ensembl) se muestran en la Tabla 1.

Se observó que la identificación de los lncRNA porcinos dependía fuertemente de la base de datos elegida para anotarlos. Uno de los motivos es que en Ensembl se ha anotado un total de 321 lncRNAs porcinos, mientras que ALDB contiene 12103 lncRNAs. No se ha podido establecer el nivel de concordancia de resultados obtenidos con ambas bases de datos, ya que han sido anotadas de forma independiente y no existe correspondencia entre ambas. Para aquellos lncRNAs expresados diferencialmente, se analizó la existencia de secuencias ortólogas en otras especies. En general, el nivel de conservación evolutiva fue muy bajo. Solamente el lncRNA *7SK.32-207*, presente en Ensembl, tiene genes ortólogos en mamíferos placentarios, mientras que ALDBSSCG0000003715 y ALDBSSCG0000005454, disponibles en ALDB, presentan loci ortólogos en humano y en ratón. Sin embargo la baja conservación evolutiva de la secuencia primaria de los lncRNAs no significa que carezcan de una función biológica importante, pues podría existir conservación a un nivel estructural superior (Johnsson et al., 2014).

Puesto que los lncRNAs a menudo regulan la expresión de genes cercanos (Guil and Esteller, 2012), hemos investigado la expresión de genes mRNA situados cerca (< 30 kb) de los lncRNA expresados diferencialmente. De este modo, hemos observado que nueve genes mRNA presentan expresión diferencial ( $P$ -valor  $< 0,05$  y  $|\log_2(FC)| > 0,6$ ), destacando *ND1* (T0-T1:  $P$ -valor = 0,01 y  $\log_2(FC) = -0,8$ ), *PTGES2* (T0-T2:  $P$ -valor = 0,04 y  $\log_2(FC) = 1,31$ ; T1-T2:  $P$ -valor = 0,02 y  $\log_2(FC) = 1,36$ ), *CYCS* (T1-T2:  $P$ -valor = 0,0009 y  $\log_2(FC) = 1,96$ ) y *GABPB2* (T1-T2:  $P$ -valor = 0,04 y  $\log_2(FC) = 1,25$ ). En definitiva, nuestros resultados indican que la ingestión de alimento tiene efectos sobre la expresión muscular de lncRNAs, lo cual sugiere que podrían regular el metabolismo y la homeostasis energética de dicho tejido.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anders & Huber. 2010. *Genome Biol.* 11: R106.
- Cardoso, TF. et al. 2016. XVIII Reunión Nacional de Mejora Genética Animal, Valencia, España
- Dobin, A. et al. 2013. *Bioinformatics* 29: 15–21.
- Guil, S. et al. 2012. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 19: 1068–75.
- Iyer, M. et al. 2015. *Nat. Genet.* 47: 199–208.
- Jeon & Lee 2011. *Cell* 146: 119–133.
- Johnsson, P. et al. 2014. *Biochim. Biophys Acta* 1840: 1063–1071.
- Kino, T. et al. 2010. *Sci. Signal.* 3: ra8-ra8.
- Liao, Y. et al. 2014. *Bioinformatics* 30: 923–930.
- Schmitz, K.M. et al. 2010. *Genes Dev.* 24: 2264–2269.
- Zhao, W. et al. 2015. *Sci. Rep.* 5: 8957.
- Zhou et al. 2014. *Genome Biol. Evol.* 6: 1387-1392.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado con los proyectos AGL2013-48742-C2-1-R y AGL2013-48742-C2-2-R concedidos por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO). Los autores agradecen el apoyo del MINECO por la acreditación del Centre de Recerca en Agrigenòmica como *Centro de Excelencia Severo Ochoa 2016-2019* (SEV-

2015-0533). Nuestro reconocimiento a la empresa Batallé por su apoyo en la generación del material animal.

**Tabla 1.** Principales RNA largos no-codificantes diferencialmente expresados en el músculo gluteus medius porcino antes de comer (T0) vs 5 horas (T1) y 7 horas (T2) después de ingerir alimento.

Antes (T0) vs 5 h después de comer (T1)							
Base de datos	Gene	log <sub>2</sub> (FC)	P-valor	q-valor	Expr. media* T0	Expr. media* T1	Chr
ALDB	ALDBSSCG0000000258	-1,28	7,36E-08	1,76E-04	48,48	18,63	1
Ensembl	RNASEL	-1,44	0,02	0,98	3,62	1,3	9
Antes (T0) vs 7 h después de comer (T2)							
Base de datos	Gene	log <sub>2</sub> (FC)	P-valor	q-valor	Expr. media* T0	Expr. media* T2	Chr
ALDB	ALDBSSCG00000003483	7,7	2,28E-24	1,53E-21	0,27	58,17	18
Ensembl	ENSSSCG000000018063	-1,1	3,62E-03	0,31	85,77	39,55	MT
5 h (T1) vs 7 h después de comer (T2)							
Base de datos	Gene	log <sub>2</sub> (FC)	P-valor	q-valor	Expr. media* T1	Expr. media* T2	Chr
ALDB	ALDBSSCG00000003483	7,57	3,61E-23	8,53E-20	0,31	56,88	18
Ensembl	ENSSSCG000000018063	-1,09	1,64E-03	0,14	82,05	39,55	MT

\* Valores medios de expresión por conteos normalizados.

## MUSCLE EXPRESSION OF LONG NON-CODING RNAs IN RESPONSE TO FOOD INGESTION

**ABSTRACT:** We have used a RNA-seq based approach to compare the lncRNA expression patterns in the *gluteus medius* muscle of fasted pigs vs fed pigs (5 h and 7 h after food intake). By considering the Ensembl and ALDB databases, we have detected differential expression for 5 and 71 lncRNAs ( $P\text{-valor} \leq 0.01$  y  $|\log_2\text{FC}| \geq 1$ ), respectively. In general, differentially expressed (DE) lncRNAs happened to be poorly conserved. We have also observed that in the vicinity of several DE lncRNAs, there are mRNA-encoding genes that are also DE at different timepoints. This result is interesting because there are evidences that lncRNAs might modulate the expression of neighbouring genes. In summary, our results indicate that the ingestion of food drives changes in the expression of a number of lncRNAs in the pig skeletal muscle, a feature that suggests that they might be involved in the physiological response of the muscle towards nutrient supply.

**Keywords:** RNA-Sequencing, lncRNA, food intake.

## EFFECTO DE LA INGESTIÓN DE ALIMENTO SOBRE LA EXPRESIÓN MUSCULAR DE miRNAs EN PORCINO

Mármol-Sánchez<sup>1,\*</sup>, E., Quintanilla<sup>2</sup>, R., Cardoso<sup>1,3</sup>, T.F., Tibau<sup>4</sup>, J., González-Rodríguez<sup>2</sup>, O., González-Prendes<sup>1</sup>, R., Ballester<sup>2</sup>, M. y Amills<sup>1</sup>, M.

<sup>1</sup>Departament de Genètica Animal, Centre de Recerca en Agrigenòmica (CSIC-IRTA-UAB-UB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193. <sup>2</sup>Genètica y Mejora Animal, IRTA, Torre Marimon, Caldes de Montbui, 08140. <sup>3</sup>Fundación CAPES, Ministerio de Educación de Brasil, Brasilia - DF 70040-020, Brasil. <sup>4</sup>IRTA-Monells, Finca Camps i Armet s/n 17121 Monells.  
emilio.marmol@cragenomica.es

### INTRODUCCIÓN

Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas moléculas (≈ 22 nucleótidos) de RNA no codificante capaces de unirse a la región 3'UTR de ciertos RNA mensajeros (mRNAs) y catalizar su degradación o bien inhibir su traducción. En humano, se han obtenido sólidas evidencias de que los miRNAs cumplen un papel fundamental en la regulación del metabolismo lipídico (Flowers et al., 2013). Aunque en las diferentes especies domésticas se hayan establecido catálogos de numerosos miRNAs expresados en distintos tejidos, se sabe muy poco acerca de su función o de la identidad de los genes a los cuales regulan. Concretamente, en porcino se ha caracterizado el catálogo de miRNAs del músculo *longissimus dorsi*, hígado y tejido adiposo (Chen et al., 2011), de los adipocitos intramusculares (Guo et al., 2012) y se ha analizado la expresión diferencial de miRNAs en diversas razas porcinas (Li et al., 2012). De entre los resultados obtenidos, se ha demostrado que la expresión del miRNA-122 disminuye en cerdos alimentados con una dieta rica en colesterol (Cirera et al., 2010), y que miR-130b y miR-374b están implicados en la regulación del metabolismo lipídico del lechón (Pan et al., 2013). Resultados obtenidos en la especie humana (Heilbronn et al., 2005; Leonardson et al., 2010) y en ratón (Wolfrum et al. 2000) evidencian que la ingestión de alimento desencadena un cambio de la expresión génica en múltiples órganos y tejidos, y entre ellos, el tejido muscular esquelético. Así pues, en el presente trabajo se ha llevado a cabo un experimento consistente en analizar la expresión muscular de miRNAs en cerdos Duroc, sometidos a dos tipos de alimentación y sacrificados en diferentes puntos temporales pre y post-ingestión, con el objetivo de identificar los miRNAs que puedan tener una función reguladora del metabolismo muscular.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestras biológicas y diseño experimental:** Se analizó la expresión muscular de miRNAs en muestras de músculo *gluteus medius* de 48 cerdas Duroc de 120 días de edad distribuidas homogéneamente en 4 grupos y sacrificadas en diferentes puntos temporales:

- 1) Animales alimentados *ad libitum* (AL) y sacrificados en ayunas (T0),
- 2) Animales alimentados con una ración restringida en la primera fase del engorde (AR) y sacrificados en ayunas (T0),
- 3) Animales alimentados *ad libitum* (AL) y sacrificados a las 5 horas de haber comido (T1) y
- 4) Animales alimentados *ad libitum* (AL) y sacrificados a las 7 horas de haber comido (T2).

Utilizando el preparado comercial RiboPure RNA Purification kit (Ambion) se extrajo la fracción total de RNA a partir de muestras de músculo conservadas en RNA-later a -80°C. El kit comercial Agilent Small RNA Chip se empleó para determinar el porcentaje de la fracción de RNA pequeño no-codificante (sncRNA) respecto al total de RNA extraído. Para elaborar librerías a partir de la fracción de sncRNA de cada muestra, se precisó un porcentaje mínimo del 0,5% de miRNAs sobre el RNA total, y un valor RIN superior a 7. Se prepararon alícuotas con una cantidad mínima de 0,2-2 µg de RNA en un volumen de 50 µl de agua libre de RNAasas, con un cociente de absorbancias de A260/280 de 1,8-2 (Nanodrop ND-1000), y se conservaron a -80°C. Las muestras fueron secuenciadas por la empresa Sistemas Genómicos S.L. (<https://www.sistemasgenomicos.com>) mediante un aparato Hi Seq 2500 Sequencer (Illumina).

**Análisis bioinformático:** Los adaptadores fueron eliminados de las secuencias mediante el software *Cutadapt* (Martin, 2011), descartando las lecturas con un tamaño inferior a 15 o superior a 30 nucleótidos y obteniéndose un número de lecturas de  $\approx$  10 millones para cada muestra secuenciada. Aproximadamente el 75% de las lecturas fueron mapeadas y anotadas de acuerdo al genoma de referencia porcino Sscrofa10.2, utilizando el software *Bowtie1* (Langmead et al., 2009) y teniendo en cuenta las especificaciones de lecturas cortas de miRNAs (Tam et al., 2015; Ziemann et al., 2016). El número de lecturas mapeadas en el genoma porcino se estimó mediante el software *FeatureCounts* (Liao et al., 2014). Con la finalidad de detectar miRNAs que presentaran expresión diferencial (ED), se compararon los grupos AL-T0 vs AL-T1, AL-T0 vs AL-T2, AL-T1 vs AL-T2 y AL-T0 vs AR-T0 utilizando los paquetes bioinformáticos *DESeq2* y *EdgeR* (Love et al., 2014; Robinson et al., 2010).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la comparación AL-T0 vs AL-T1, se encontró ED sólo con *EdgeR* y para un único miRNA (ssc-miR-215, Tabla 1). En cambio, para la comparación AL-T0 vs AL-T2 los programas *EdgeR* y *DESeq2* detectaron, de manera consistente, ED para siete miRNAs (Tabla 1, indicados en negrilla). Además, *DESeq2* determinó la existencia de ED para 2 miRNAs adicionales: ssc-miR-215 y ssc-miR-7857-3p. No se hallaron diferencias de expresión significativas para AL-T1 vs AL-T2 y AL-T0 vs AR-T0. El número de miRNAs que mostraron ED estadísticamente significativa fue sustancialmente menor en comparación con los datos de ED de mRNAs previamente analizados en la misma población mediante protocolos bioinformáticos semejantes (135 mRNAs con ED en AL-T0 vs AL-T2). Ello es consistente con el hecho de que el rango de expresión de un miRNA en general es bastante más limitado que el de un mRNA, puesto que un mismo miRNA puede regular a centenares de mRNAs diana. De este modo, cambios sutiles en la expresión de determinados miRNAs pueden tener un gran efecto sobre la expresión génica global.

Estudios recientes han demostrado que determinados miRNAs tienen una función esencial en el mantenimiento de la homeostasis metabólica del organismo, regulando la respuesta fisiológica a variaciones en el aporte de nutrientes (Hartig et al., 2015). Por ejemplo, los miRNAs controlan la formación de islotes  $\beta$  de Langerhans y la secreción de insulina estimulada por la glucosa, el metabolismo del colesterol y otros lípidos en el hígado, y el almacenamiento de energía en el tejido adiposo (Singh et al., 2012). De hecho, algunos miRNAs incluidos en la Tabla 1 podrían tener una función biológica relacionada con la absorción de nutrientes y el metabolismo: por ejemplo, en humano el miRNA-339 está asociado con la respuesta al estrés oxidativo (Saddic et al., 2015). Ello concuerda con el análisis de ED de genes mRNA realizado en la misma población experimental Duroc (Figueiredo et al., 2016), donde se observó la existencia de ED para loci relacionados con dicho proceso biológico. Por otra parte, el mRNA de la proteína G6PC, que cataliza la formación de glucosa libre ante estados de hipoglucemia, ha sido identificado como diana de miR-339 (Chen et al., 2014), lo que podría explicar la disminución en su expresión en T2 ante la demanda de energía celular. Asimismo, el miRNA-7 afecta a la expresión del receptor *IGF-1R* (Wang et al., 2014), que tiene un papel fundamental en el proceso de absorción de la glucosa mediado por la insulina (Clemmons, 2004). En definitiva, nuestros resultados indican que el aporte de nutrientes al músculo esquelético determina un cambio en la expresión de distintos miRNAs, y un objetivo de futuro consistiría en determinar a qué genes regulan con la finalidad de comprender mejor su función biológica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Flowers, E. et al. 2013. *Metabolism*. 62(1): 12-20.
- Chen, C. et al. 2011. *BMC Genomics*. 12: 448.
- Guo, Y. et al. 2012. *PLoS One*. 7(9): e45410.
- Li, H.Y. et al. 2012. *Anim Genet*. 43(6): 704-13.
- Cirera, S. et al. 2010. *Comp Med*. 60(2): 136-41.
- Pan, S. et al. 2013. *Br J Nutr*. 109(10): 1731-8.
- Heilbronn, N.K. et al. 2005. *Am J Clin Nutr*. 81(1): 69-73.
- Leonardson, A.S. et al. 2010. *Hum Mol Genet*. 19(1): 159-69.
- Wolfrum, C. et al. 2000. *Biochemistry*. 39(6): 1469-74.
- Martin M. 2011. *EMBnet.Journal*. 17(1), pp. 10-12.
- Langmead, B. et al. 2009. *Genome Biology*. 10:R25.
- Tam, S. et al. 2015. *Brief in Bioinf*. 16(6), 950–963.
- Ziemann, M. et al. 2016. *RNA*. 22:1-19.
- Liao, Y. et al. 2014. *Bioinformatics*. 30(7):923-30.
- Love, M.I. et al. 2014. *Genome Biology*. 15:550.
- Robinson, M.D. et al. 2010. *Bioinformatics*. 26, pp. -1.
- Hartig, S.M. et al. 2015. *Trends Endocrinol*

Metab. 26(12): 733-745. • Singh, P.K. et al. 2012. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 9(6): 334-344. • Saddic, L.A. et al. 2015. Physion Genom. 47: 455-462. • Cardoso, T.F. et al. 2016. XVIII Reunión Nacional de Mejora Genética Animal, Valencia, España. • Chen, Y. et al. 2014. Liver Int. 34(7): 976-990. • Wang, B. et al. 2014. Diagn Pathol. 9:211. • Clemmons, D.R. 2004. Horm Res. 62(1): 77-82.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado con los proyectos AGL2013-48742-C2-1-R y AGL2013-48742-C2-2-R concedidos por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO). Los autores agradecen el apoyo del MINECO por la acreditación del Centre de Recerca en Agrigenòmica como *Centro de Excelencia Severo Ochoa 2016-2019* (SEV-2015-0533). Nuestro reconocimiento a la empresa Batallé por su apoyo en la generación del material animal.

**Tabla 1.** miRNAs diferencialmente expresados (*EdgeR* y *DESeq2*) en cerdos alimentados *ad libitum* y sacrificados en ayunas (AL-T0) vs cerdos alimentados *ad libitum* y sacrificados 5 horas (AL-T1) o 7 horas (AL-T2) después de haber comido.

EdgeR T0 vs T1					
miRNA	log <sub>2</sub> FC	P-valor	FDR	Expr. media-T0 (counts per million)	Expr. media-T1 (counts per million)
ssc-miR-215	2,98	2,41E-05	0,0057	0,76	3,61

DESeq2 T0 vs T2					
miRNA	log <sub>2</sub> FC	P-valor	FDR	Expr. media-T0 (counts per million)	Expr. media-T2 (counts per million)
ssc-miR-1285	-1,54	2,08E-06	0,0006	549,43	72,70
ssc-miR-339	-0,87	1,05E-04	0,015	7,23	3,21
ssc-miR-421-5p	1,02	1,75E-04	0,0166	5,19	10,71
ssc-miR-374a-3p	0,83	3,80E-04	0,0266	103,01	171,28
ssc-miR-129a-3p	-1,06	5,44E-04	0,0266	31,14	8,59
ssc-miR-296-3p	-0,80	5,61E-04	0,0266	29,39	13,29
ssc-miR-215	1,06	8,97E-04	0,0304	0,47	1,52
ssc-miR-7	0,80	9,64E-04	0,0304	180,40	304,72
ssc-miR-7857-3p	-0,90	1,91E-03	0,0492	4,67	1,63

## EFFECT OF FOOD INTAKE ON THE MUSCULAR EXPRESSION OF miRNAs IN PIGS

**Abstract:** The aim of this study was to analyze microRNA muscular expression in pigs in response to food intake and different dietary conditions. We analyzed 48 Duroc pigs divided in 4 groups: pigs fed *ad libitum* and slaughtered under fasting conditions (AL-T0), pigs fed *ad libitum* and slaughtered 5 hours after last food intake (AL-T1), pigs fed *ad libitum* and slaughtered 7 hours after last food intake (AL-T2) and pigs fed with restricted feeding during the first fattening phase and slaughtered under fasting conditions (AR-T0). We used a comparative bioinformatics pipeline to determine differential expression over groups and discovered ssc-miR-215 to be differentially expressed between AL-T0 vs AL-T1, while seven miRNAs (ssc-miR-1285, ssc-miR-339, ssc-miR-421-5p, ssc-miR-374a-3p, ssc-miR-129a-3p, ssc-miR-296-5p and ssc-miR-7) showed differential expression between AL-T0 vs AL-T2 ((FDR < 0.05, |log<sub>2</sub>FC| > 0.6). These results may indicate that food intake can decisively influence muscle microRNA expression as a regulatory mechanism that may contribute to fine-tune the physiological adaptation to nutrient supply.

**Key words:** RNA-sequencing, microRNA, food intake.

## VARIACIÓN DEL TAMAÑO DE LOS ADIPOCITOS SEGÚN EL NIVEL DE VITAMINA A EN LA DIETA, EL TIPO DE ALIMENTACIÓN Y LA CASTRACIÓN EN CERDOS DUROC DE DISTINTO GENOTIPO *LEPR*

Solé<sup>1</sup>, E., Pena<sup>1</sup>, RN., Bosch<sup>2</sup>, L., Tor<sup>1</sup>, M., Reixach<sup>3</sup>, J. y Estany<sup>1</sup>, J.

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, Lleida.

<sup>2</sup>Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, Girona. <sup>3</sup>Selección Batallé, Riudarenes, Girona

emma.sole@ca.udl.cat

### INTRODUCCIÓN

El contenido de grasa intramuscular (GIM) y su composición tienen gran importancia en la calidad de la carne, ya que influyen caracteres como la jugosidad y el sabor (Wood et al., 2003). En cerdos, la dieta y la ración influyen directamente tanto en la cantidad como en la composición de la grasa (Wood et al., 2008). En este sentido, se ha observado que la restricción de vitamina A en la dieta puede incrementar el contenido de GIM (Ayuso et al., 2015a), aunque la magnitud de este efecto depende del genotipo de cada animal (Olivares et al., 2009). La restricción al 75-80% del consumo de pienso ad libitum también se ha asociado con un mayor depósito de GIM (Daza et al., 2007), aunque suele ir acompañado de un efecto negativo en el crecimiento. Por otra parte, el contenido y la composición de la grasa, en especial GIM, están sujetos a una fuerte componente genética. La mutación descrita en el gen receptor de la leptina (*LEPR*) por Óvilo et al. (2005) es una de las pocas que se conocen cuyo efecto explica una parte relevante de la variación del contenido de grasa y de GIM en porcino. Por último, la castración es posiblemente el factor de manejo más determinante para aumentar la GIM. Una alternativa a la castración quirúrgica es la inmunocastración. En este trabajo se presenta un experimento diseñado para explorar el efecto del nivel de vitamina A en la dieta, la restricción del consumo y la inmunocastración sobre los caracteres de producción y de la calidad de la canal, la carne y la grasa según el genotipo *LEPR*. El objetivo de esta primera entrega es presentar los primeros resultados del experimento y en particular discutir el efecto de los anteriores factores sobre el tamaño de los adipocitos de la grasa subcutánea (GSC) e intramuscular.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Experimento.** A los dos meses de edad se distribuyeron 220 cerdas en 20 cuadras de 11 individuos de una misma granja. Todas las cerdas eran originarias de la misma línea Duroc en la que la mutación *LEPR* segrega. Las cuadras se asignaron a cada tratamiento de forma alternativa de acuerdo con un diseño factorial 2x2, según el nivel de vitamina A (con [+] y sin [-] suplementación) y el tipo de alimentación (A: ad libitum y R: restringida). La mitad de las cerdas de cada cuadra permanecieron enteras (E) mientras que la otra mitad fueron inmunocastradas (IC). Las cerdas se engordaron hasta los 7 meses de edad siguiendo el mismo programa de alimentación. El pienso [+] se suplementó con 7840-4900 UI Vitamina A/kg según la fase del programa de alimentación, mientras que en el pienso [-] no se añadió vitamina A en el corrector. Las cerdas en las cuadras con alimentación restringida comieron entre los 30 y 50 kg de peso vivo un tercio menos que los esperados ad libitum. La inmunocastración se practicó mediante la aplicación de tres dosis de la vacuna Improvac® /Vacsincel® (Zoetis). Las cerdas se pesaron cinco veces durante el engorde hasta que a los 7 meses de edad se sacrificaron en un matadero comercial. A un total de 80 hembras, dos hembras enteras y dos hembras inmunocastradas elegidas al azar por cuadra, se les controló el peso de la canal, el espesor de la grasa dorsal, la profundidad del lomo, el porcentaje de magro y el peso del jamón. De cada una de estas cerdas se recogieron muestras de sangre, hígado, músculo *gluteus medius* (GM) y GSC.

**Genotipado.** Se aisló ADN del músculo GM para determinar el genotipo del polimorfismo del exón 14 del gen *LEPR* (NM\_001024587:g.1987C>T) mediante un protocolo de High Resolution Melt (Luminaris Color HRM Master Mix, ThermoFisher) en un termociclador a tiempo real (QuantStudio 3, LifeTechnologies).

**Estudio histológico.** Se eligieron 56 muestras de GSC y GIM distribuidas equilibradamente entre tratamientos, las cuales fueron congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  y procesadas mediante un criostato. A continuación, se tificaron con Oil Red O durante 6 minutos y Hematoxilina de Mayer 1 minuto y se analizaron mediante un microscopio óptico (Olympus bx50, Nikon Act-1). En cada muestra se midió el área de 25 adipocitos con el programa *ImageJ* (Mehlem *et al.*, 2013).

**Análisis de datos.** Los caracteres tomados en matadero y el área de los adipocitos se analizaron mediante un modelo en el que se incluyeron como factores fijos el nivel de vitamina A ([+] y [-]); el tipo de alimentación (A y R); la inmunocastración (IC y E); y el genotipo *LEPR* (C y T, atendiendo a la naturaleza dominante de C), así como las correspondientes interacciones dobles. Este análisis se realizó utilizando el paquete estadístico JMP 12 (SAS Institute Inc.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ni la restricción de vitamina A en la dieta ni la alimentación restringida tuvieron efecto sobre los caracteres medidos en matadero (Tabla 1), excepto en el peso de la canal, que fue mayor en las cerdas suplementadas con vitamina A ( $P<0.05$ ). Estos resultados están en sintonía con los obtenidos por Ayuso *et al.* (2015b) y Olivares *et al.* (2009), quienes observaron que la restricción de vitamina A en la dieta no afectaba el rendimiento productivo. En cambio, la inmunocastración afectó a todos los caracteres estudiados. Así, las hembras inmunocastradas presentaron mayor peso de la canal y del jamón y mayor espesor de grasa dorsal. En contrapartida, la profundidad del lomo y el porcentaje de magro disminuyeron. De forma similar, el alelo T del gen *LEPR* promovió la deposición de grasa y disminuyó el porcentaje de magro, en consistencia con resultados anteriores obtenidos en esta misma línea (Ros-Freixedes *et al.*, 2016).

**Tabla 1.** Medias mínimos-cuadráticas ( $\pm$ error típico) del peso de la canal (PC), del espesor de grasa (GD) y la profundidad de lomo (PL), peso del jamón (PJ) y porcentaje de magro según el nivel de vitamina A, tipo de alimentación, castración y genotipo *LEPR*<sup>1</sup>.

Carácter	Vitamina A		Alimentación		Castración		<i>LEPR</i>	
	[+]	[-]	A	R	E	IC	C	T
<b>PC</b> , Kg	93,2 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	90,0 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	92,7 $\pm$ 1,0	90,6 $\pm$ 1,0	88,7 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	94,6 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	90,6 $\pm$ 0,8	92,7 $\pm$ 1,3
<b>PJ</b> , Kg	11,7 $\pm$ 0,1	11,4 $\pm$ 0,1	11,6 $\pm$ 0,1	11,4 $\pm$ 0,1	11,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	11,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	11,5 $\pm$ 0,1	11,6 $\pm$ 0,1
<b>GD</b> , mm	35,6 $\pm$ 1,1	33,8 $\pm$ 0,9	34,4 $\pm$ 1,0	35,0 $\pm$ 1,0	32,0 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	37,3 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	32,8 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	36,6 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>
<b>PL</b> , Kg	41,6 $\pm$ 1,1	40,8 $\pm$ 1,0	40,7 $\pm$ 1,0	41,6 $\pm$ 1,1	43,1 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	39,3 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	43,2 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	39,2 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>
<b>Magro</b> , %	35,0 $\pm$ 1,1	36,7 $\pm$ 0,9	35,7 $\pm$ 1,0	36,0 $\pm$ 1,0	38,5 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	33,2 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	38,2 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	33,5 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Vitamina A: con [+] y [-] sin suplementación; Alimentación: ad libitum (A) y restringida (R); Castración: hembras enteras (E) e inmunocastradas (IC); y *LEPR*: genotipos CC y CT (C) y genotipo TT (T). <sup>a,b</sup> Dentro de cada fila y factor, las medias con superíndices distintos difieren significativamente ( $P<0.05$ ).

Los adipocitos de GSC fueron más grandes y más variables que los de GIM. La castración fue el único tratamiento que afectó el tamaño de los adipocitos (Tabla 2), que resultaron ser más grandes en las hembras inmunocastradas que en las enteras, tanto en GSC como en GIM, lo que confirmaría que el mayor contenido graso de los castrados se explica en parte por una mayor hipertrofia de los adipocitos.



**Tabla 2.** Medias mínimos-cuadráticas ( $\pm$ error típico) del tamaño de los adipocitos ( $\mu\text{m}^2$ ) de la grasa subcutánea (GSC) e intramuscular (GIM) según tratamiento<sup>1</sup>

Grasa	Vitamina A		Alimentación		Castración		LEPR	
	[+]	[-]	A	R	E	IC	C	T
<b>GSC</b>	59,1 $\pm$ 3,0	55,5 $\pm$ 2,6	59,0 $\pm$ 2,8	55,6 $\pm$ 2,8	53,1 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup>	61,6 $\pm$ 2,8 <sup>a</sup>	55,0 $\pm$ 2,3	59,7 $\pm$ 3,5
<b>GIM</b>	32,1 $\pm$ 1,5	33,1 $\pm$ 1,3	33,2 $\pm$ 1,4	31,1 $\pm$ 1,4	30,1 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>	34,5 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	32,0 $\pm$ 1,1	33,2 $\pm$ 1,7

<sup>1</sup> En la tabla 1 está la explicación de cada tratamiento.

<sup>a,b</sup> Dentro de cada fila y factor, las medias con superíndices distintos difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

No se observó relación entre el tamaño de los adipocitos de GSC y el de los GIM ( $r = 0,18$ ;  $P > 0,05$ ), lo que indicaría que ambos tejidos presentan patrones de desarrollo diferentes. La interacción entre el nivel de vitamina A de la dieta y la castración fue significativa ( $P < 0,05$ ), de tal manera que la inmunocastración aumentó el tamaño de los adipocitos de GIM cuando el pienso se suplementó con vitamina A (35,7  $\mu\text{m}^2$ , en IC, y 28,1  $\mu\text{m}^2$ , en E), pero no cuando no se suplementó (33,0  $\mu\text{m}^2$  y 32,9  $\mu\text{m}^2$ , en IC y E, respectivamente). Este resultado sugiere que la vitamina A potencia específicamente la lipogénesis en GIM en los animales con mayor capacidad de deposición de grasa.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayuso, M. et al. 2015. J. Anim Sci. 93:2730–2744a.
- Ayuso, M. et al. 2015. Meat Sci. 108:9–16b.
- Daza, A. et al. 2007. Anim. Feed Sci. Tech. 138:61-74.
- Mehlum, A. et al. 2013. Nat Protoc. 8:1149-1154.
- Olivares, A. et al. 2009. Meat Sci. 82:6–12.
- Óvilo, C. et al. 2005. Gen Res, 85:57-67.
- Ros-Freixedes, R. et al. 2016. PLoS ONE. 11:1-18.
- Wood, J. D. et al. 2008. Meat Sci. 78:343–358.
- Wood, J. D. et al. 2003. Meat Sci. 66:21–32.

**Agradecimientos:** Experimento financiado por CDTI (IDI 20150115) y análisis histológico por MINECO (AGL2015-65846-R). E. Solé disfruta de una beca de la Universidad de Lleida.

#### EFFECT OF *LEPR* GENOTYPE, VITAMIN A CONCENTRATION, DIETARY RESTRICTION AND CASTRATION ON ADIPOCYTE SIZE OF DUROC PIGS

**ABSTRACT:** Intramuscular fat (IMF) content and composition are influenced by both genetic and environmental factors. The aim of the present study is to assess the effect of dietary vitamin A, dietary restriction and immunocastration by *LEPR* genotype on carcass traits and adipocytes size. 220 Duroc females were distributed randomly depending on three treatments: diet with or without vitamin A supplement (7840-4900 IU/kg), restricted or ad libitum access to feed for 1 month and immunocastrated or entire females. At slaughter, carcass traits were recorded, and samples from *gluteus medius* (GM) and subcutaneous backfat (SBF) were obtained. Pigs were genotyped for the exon 14 *LEPR* mutation. Vitamin A levels, diet restriction and *LEPR* genotype did not affect carcass traits. In contrast, immunocastrated females had heavier carcasses and bigger adipocytes both in IMF and in SBF. No relationship was observed between SBF and IMF adipocyte size ( $r = 0.18$ ;  $P > 0.05$ ). In addition, there was a significant interaction between immunocastration and dietary vitamin A affecting IMF adipocyte size only when diets were supplemented with vitamin A

**Keywords:** Vitamin A; adipocyte size; immunocastration; pig; *LEPR*

## EDICIÓN GÉNICA EN LA SELECCIÓN: POSIBILIDADES Y CONSECUENCIAS

González-Recio<sup>1</sup>, O., Fernández<sup>1</sup>, J., Toro<sup>2</sup>, M.A. y Villanueva<sup>1</sup>, B.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ctra La Coruña. Km 7,5. Madrid 28040.

<sup>2</sup>Dpto. Producciones Agrarias. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. UPM. Ciudad Universitaria s/n. Madrid 28040.

gonzalez.oscar@inia.es

### INTRODUCCIÓN

La edición génica de precisión es considerada por algunos autores como la próxima revolución de la mejora genética animal (Jenko et al., 2015; Voytas y Gao, 2014; Champer et al., 2016). Esta técnica consiste en cambiar una determinada secuencia del ADN por otra que produzca la inactivación del gen o un cambio en la proteína transcrita, modificando así el fenotipo del individuo.

La edición génica tiene un claro impacto en caracteres mendelianos, sobre todo si la penetrancia alélica es alta. Sin embargo, su impacto no está tan claro cuando se trata de caracteres cuantitativos que se ajustan al modelo infinitesimal (pequeño efecto de los genes sobre el fenotipo, y una notable influencia del ambiente). Algunas simulaciones han mostrado un impacto importante sobre los programas de mejora de caracteres complejos (Jenko et al., 2015) pero, para ello era necesario editar hasta 20 loci y que explicaran un alto porcentaje de la varianza genética. Además asumía un 100% de éxito en la edición. Hasta la fecha son pocos los caracteres de interés económico que están regulados por pocos genes que contribuyen a un alto porcentaje de la variabilidad genética, y además las técnicas de edición génica, incluida la CRISPR/Cas9 no tienen una precisión del 100% (e.g. Ma et al., 2017).

En este trabajo evaluamos las consecuencias que tendría la aplicación de la edición génica en un programa de mejora en las condiciones tecnológicas actuales considerando la disponibilidad o no de información genómica.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Población base:** Se simuló una población de individuos diploides con un genoma de 10 cromosomas de 1 Morgan cada uno. Cada cromosoma contenía 10.000 loci bialélicos neutros distribuidos homogéneamente a lo largo del genoma.

El desequilibrio de ligamiento se creó mediante apareamientos al azar en una población de 1000 individuos (machos:hembras = 1) durante 4000 generaciones con una tasa de mutación de  $2,5 \times 10^{-5}$ , hasta que la heterocigosidad esperada de la población alcanzó un valor de equilibrio. Se asumió una heredabilidad de 0,40. Este carácter estaba controlado por 1000 loci (QTLs) elegidos de manera aleatoria, con efectos aditivos distribuidos según una normal e ignorando efectos de epistasias. Se simuló un programa de selección durante 40 generaciones de forma simplificada. En cada generación de selección se disponía de 500 hembras que dejaban un macho y una hembra, de manera que se evaluaban 1000 individuos por generación. Los progenitores de la siguiente generación eran los 50 machos con los mejores valores mejorantes estimados y las 500 hembras. Cada macho se apareaba con 10 hembras de forma aleatoria.

**Escenarios simulados:** Se consideraron cuatro escenarios que se diferenciaban en i) el tipo de evaluación que se realizaba (BLUP o GBLUP) y ii) el uso o no de edición génica en los machos reproductores.

- i) *Evaluación:* El valor mejorante estimado se obtuvo a través de **BLUP** el fenotipo de los candidatos, y la genealogía completa, o mediante **GBLUP** usando sólo los fenotipos y genotipos de los candidatos a la selección en una determinada generación, asumiendo en este caso que se genotipaban 1.500 marcadores bialélicos por cromosoma, distribuidos uniformemente a lo largo del genoma.
- ii) *Edición génica:* En los escenarios que la contemplaban, todos los reproductores machos (50) se sometían a edición génica en aquellos loci que explicaban más de un 1% de la varianza genética y que no fuesen homocigotos para el alelo favorable (12 - 20 loci). Se consideró que la edición génica para cada locus y cromosoma tenía un tasa media de éxito del 75% en cada locus,

provocando mosaicismos en las células germinales. Se distinguen así escenarios con edición (**GE**) y sin edición (**No\_GE**) para cada uno de los sistemas de evaluación.

**Parámetros de control:** En todas las generaciones se calculó el valor fenotípico y mejorante promedio de la población, el cambio en frecuencia global en el genoma y en particular en los QTLs y en los loci editados, la consanguinidad genealógica y la precisión (medida como la correlación entre el verdadero valor mejorante y el estimado) y el sesgo de la evaluación. Cada escenario se replicó 25 veces y los resultados presentados son promedios de esas réplicas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

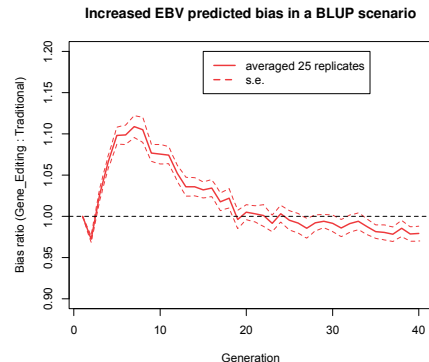
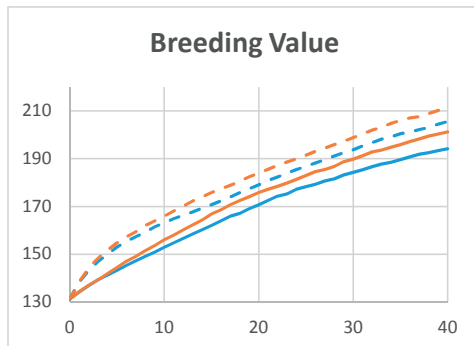
En esta simulación, se observó que la edición génica aumentó en la ganancia genética en un 77% en las cinco primeras generaciones tanto en un programa tradicional como de selección genómica (Figura 1). No se observó un aumento relevante de la consanguinidad, y en algunos casos se produjo una disminución de la misma debido a que la edición génica permite la elección de familias no portadoras de los alelos mejorantes, pero que disponen de buena combinación genética en el resto del genoma. Contrariamente a la hipótesis inicial, la técnica de edición no perjudicó la precisión de las evaluaciones genéticas, manteniendo una correlación alta entre el verdadero valor genético y el predicho. Sin embargo, la simulación muestra que en las primeras generaciones de edición se produce un sesgo de hasta un 10% en la predicción de los valores mejorantes cuando la evaluación se realiza a través de BLUP. Este sesgo disminuye a medida que se van fijando los loci en los que se hace edición. Dicho sesgo no se produce cuando se implementa una evaluación genómica, ya que podemos identificar que progenie ha heredado el alelo editado, y cual no (Figura 2). Este sesgo puede ser un inconveniente en programas como el vacuno lechero donde existe una alta presión por parte de los ganaderos para que la prueba inicial coincida con la prueba de progenie, a pesar de no afectar a la precisión de los valores genéticos/genómicos (Figura 3).

En el caso de los loci selectivos se observa un mayor aumento de la frecuencia bajo los escenarios de edición génica, sobre todo en los loci editados, de tal manera que todos quedan fijados en la población en unas 12-17 generaciones (Figura 4). De manera que para que la edición génica tenga una utilidad en el tiempo sería necesario reevaluar los loci sobre los que se hace edición.

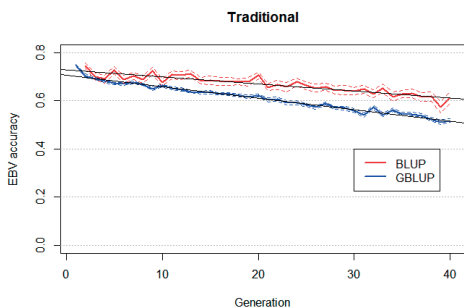
Este estudio muestra que la edición génica es una herramienta que puede aumentar el progreso genético de los programas de selección, al aumentar de manera mucho más rápida la frecuencia de los alelos favorables.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

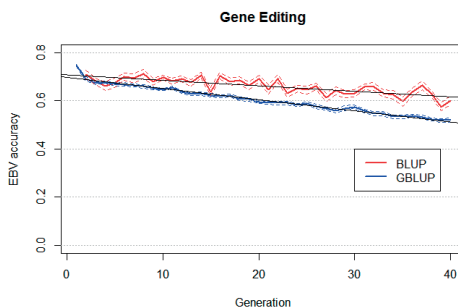
- Champer, J., Buchman, A. & Akbari, O. S. 2016 Nat. Rev. Genet. 17: 146–159.
- Jenko, J., Gorjanc, G., Cleveland, M.A., Varshney R.K., Whitelaw, B.A., Wooliams, J.A. & Hickey, J.M. 2015. Genetics Selection Evolution 47:55.
- Ma, X., Chen, C., Veevers, J., Zhou, X., Ross, R.S., Feng, W. & Chen, J. 2017. Sci. Rep 7: 42244
- Voytas, D.F. & Gao, C. 2014. PLoS Biol 12(6): e1001877. doi:10.1371/journal.pbio.1001877



**Figura 1.** Ganancia genética a lo largo de las 40 generaciones en un programa de selección tradicional (azul) o genómica (naranja) con (línea de trazos) o en ausencia de edición genética (línea sólida)



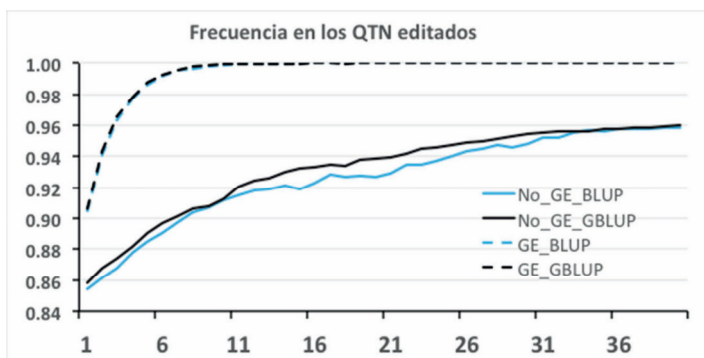
**Figura 2.** Tasa media (error estándar en línea discontinua) de incremento en el error medio cuadrático en las evaluaciones genéticas al implementar edición génica en el programa de selección.



1

2

**Figura 3.** Precisión de las evaluaciones genéticas a lo largo de las generaciones de selección para GBLUP y BLUP en un programa tradicional o de edición génica (error estándar de las 25 réplicas en línea discontinua)



**Figura 4.** Evolución de la frecuencia de los loci que explican al menos un 1% de la varianza genética en la generación cero. Se muestran los cuatro escenarios estudiados, y los resultados están promediados por las 25 réplicas.

## GENE EDITION IN BREEDING PROGRAMS: POSIBILITIES AND CONSEQUENCES

**ABSTRACT:** Gene edition is a novel technique that can revolutionize breeding programs. It allows changing a given allele in a particular locus of an individual in a precise manner. We aim to evaluate the impact of implementing gene editing in terms of genetic gain, inbreeding, and genetic evaluation accuracy. Gene editing increased genetic gain by 50-75%, however it did not impair inbreeding regarding the current scenario. Gene editing presented more favourable results under a genomic selection scenario than under a traditional BLUP scenario.. The latter showed slower genetic gains, and a bias in predicted breeding values during the first generations of selection.

**Keywords:** Gene edition, CRISPR/Cas9, breeding program, genomic selection

## EVALUACIÓN GENÉTICA CON PATERNIDAD INCIERTA EN ACUICULTURA

De Paz<sup>1</sup>, R., Villanueva<sup>1</sup>, B., Herlin<sup>2</sup>, M., Millán<sup>3</sup>, A., Martínez<sup>4</sup>, P., Toro<sup>5</sup>, M.A. y Fernández<sup>1</sup>, J.

<sup>1</sup> Dpto. Mejora Genética Animal, INIA. Madrid. <sup>2</sup> ABSA-Culmarex. Es Coll D'en Rabassa, Mallorca. <sup>3</sup> Geneaqua SL. Lugo. <sup>4</sup> Dpto. Xenética, Fac. Veterinaria, USC. Lugo. <sup>5</sup> Dpto. de Producción Agraria, ETSIA, UPM, Madrid, España. [jmj@inia.es](mailto:jmj@inia.es)

### INTRODUCCIÓN

El uso de marcadores moleculares para asignar paternidad y reconstruir las genealogías es un procedimiento habitual en programas de acuicultura que utilizan puesta masal o que incluyen la cría de varias familias en el mismo tanque. La genealogía reconstruida es necesaria para obtener las estimas de los valores mejorantes por metodología BLUP y para controlar el incremento en consanguinidad. Cuando se usan pocos marcadores una proporción de individuos serán compatibles con varios parentales. En esta situación hay tres posibilidades: i) usar la descendencia asignada a una sola madre y un solo padre (pero así descartamos candidatos a la selección); ii) genotipar los individuos dudosos y los posibles parentales para más marcadores (lo que conlleva un coste extra); y iii) calcular una matriz de relaciones aditivas que incluya esa incertidumbre. Sin embargo, la ventaja de incluir más individuos en la evaluación a través de paternidades inciertas en la precisión de la evaluación y en la presión de selección no está clara. En este trabajo simulamos un programa de selección en dorada comparando, en términos de precisión de las estimas de valores mejorantes y de la selección de intensidad, tres estrategias de evaluación que incluyen o no individuos con paternidad incierta.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Estructura poblacional:** Se simuló una estructura poblacional similar a la de un programa de selección en dorada donde 1500 candidatos se generan a partir de 50 machos y 50 hembras. Se consideraron apareamientos aleatorios de los parentales (puesta masal) o apareamientos dirigidos (un macho aparea con una sola hembra y viceversa).

**Asignación de paternidad:** En ambos escenarios la asignación de parentales para cada candidato se hizo en base a 4 u 8 marcadores microsatélites con frecuencias alélicas iguales a las que se encuentran en el stock de reproductores de la empresa ABSA. Alternativamente se corrieron simulaciones con 25, 50 o 100 SNPs a frecuencias intermedias. Las probabilidades de un candidato de ser hijo de un determinado reproductor se calcularon usando un programa propio escrito en FORTRAN. Las correspondientes matrices de parentesco se generaron usando una modificación del método tabular, como se propone en Pérez-Enciso y Fernando (1992) usando el software U\_P\_C (J. Fernández).

**Evaluación y selección:** El objetivo de selección fue un carácter infinitesimal que se podía medir en los propios candidatos a la selección. Se consideraron dos heredabilidades,  $h^2 = 0,1$  y  $0,5$ . Las estimas de los valores mejorantes (EBVs) se obtuvieron por metodología BLUP usando el software REML.f90 (I. Misztal). Se consideraron tres escenarios: i) sólo se usaban los candidatos asignados a una sola madre y un solo padre (BLUP\_U); ii) se usaban también los que tuvieran uno de los parentales determinado correctamente y varios posibles parentales del otro sexo (BLUP\_P); iii) se añadían los individuos con varios padres y madres posibles (BLUP\_M). En todos los casos se seleccionó por truncamiento los 50 individuos con los mejores EBVs. Como casos de control se simuló selección sobre los valores fenotípicos y selección sobre los EBVs calculados por BLUP usando las verdaderas relaciones genealógicas (BLUP\_G).

**Criterios de comparación:** Los distintos escenarios se compararon en términos del porcentaje de paternidades asignadas correctamente, la correlación entre los verdaderos valores mejorantes y los EBVs, el valor mejorante promedio de los seleccionados, el número de seleccionados que coincidían entre criterios y el parentesco promedio de los seleccionados. Todos los resultados corresponden al promedio de 100 réplicas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La precisión en la asignación de paternidades fue muy alta excepto cuando se usaban 25 SNP con puesta masal (Tabla 1). Así la ganancia en número de candidatos disponibles por usar paternidades múltiples es, en general, muy baja. Cuando se parte de parejas conocidas

los porcentajes son prácticamente el 100% incluso en el caso de 25 SNP. Es, por tanto, muy recomendable que en las especies que sea técnicamente factible se realicen apareamientos dirigidos aunque luego se críen todas las progenies juntas.

**Tabla 1.** Porcentaje de individuos asignados correctamente (U) y porcentaje de individuos nuevos que se añaden a la evaluación al aceptar incertidumbres (P y M).

	Apareamientos aleatorios					Apareamientos dirigidos				
	4 mic	8 mic	25 SNP	50 SNP	100 SNP	4 mic	8 mic	25 SNP	50 SNP	100 SNP
U	94,42	99,98	48,97	99,70	100,00	99,98	100,00	98,72	100,00	100,00
P	5,02	0,02	20,52	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
M	0,56	0,00	30,51	0,01	0,00	0,02	0,00	1,28	0,00	0,00

El caso con peor porcentaje de asignación (25 SNP con apareamiento masal) sería a priori el que más se podría beneficiar de la inclusión de candidatos con paternidades múltiples. Así en la Tabla 2 se observa como el verdadero valor mejorante de los seleccionados sube de 108,62 a 109,73 cuando usamos individuos con un solo padre bien asignado y a 110,31 cuando se añaden los de padres y madres múltiples. Esta mejora se debe a un aumento en el número de candidatos (mayor presión de selección) más que a un aumento en la precisión de las estimas (0,76, 0,78 y 0,75 para BLUP\_U, BLUP\_P y BLUP\_M, respectivamente). Para el resto de escenarios la precisión y la respuesta es la misma (Tabla 2) e igual a la que se obtiene cuando se usa la verdadera genealogía (BLUP\_G, datos no mostrados).

**Tabla 2.** Valor mejorante promedio de los individuos seleccionados y correlación entre los valores mejorantes estimados y verdaderos ( $\rho$ ). Apareamiento al azar y  $h^2 = 0,5$

	TBV seleccionados			$\rho$		
	BLUP_U	BLUP_P	BLUP_M	BLUP_U	BLUP_P	BLUP_M
25 SNP	108,62	109,73	110,31	0,76	0,78	0,75
50 SNP	110,75	110,75	110,75	0,79	0,79	0,79
100 SNP	110,64	110,64	110,64	0,79	0,79	0,79
4 mic	110,67	110,77	110,76	0,79	0,79	0,79
8 mic	110,72	110,72	110,72	0,79	0,79	0,79

BLUP\_U: individuos con padres únicos; BLUP\_P: más individuos con un padre (madre) único y varios del otro sexo; BLUP\_M: más individuos con varios padres y madres posibles.

Con  $h^2 = 0,1$  los resultados siguen el mismo patrón aunque, obviamente, las respuestas (TBV de seleccionados) son menores (datos no mostrados). Bajo selección fenotípica la precisión de la evaluación y los TBV de los seleccionados fueron menores (0,71, 109,70 y 0,32, 101,90 para  $h^2 = 0,5$  y  $h^2 = 0,1$ , respectivamente) excepto en el escenario BLUP\_U con 25 SNP y  $h^2 = 0,5$ .

El efecto de cada una de las estrategias en el número de individuos evaluados y la precisión de la evaluación van a tener como consecuencia una distribución diferente de las contribuciones de cada posible parental. En la Tabla 3 puede verse que la varianza de las contribuciones puede ser bastante más alta de la que se obtiene solamente por el hecho de que el apareamiento es al azar, con la posible reducción de la variabilidad genética transmitida a la siguiente generación. De cualquier manera, en nuestras simulaciones esto no se traduce en diferencias en el parentesco promedio de los seleccionados (en el rango de 0,3 a 0,5 con apareamiento al azar) porque todos los reproductores eran no emparentados y los hermanos de cualquier familia van a tener el mismo parentesco entre ellos. Hay que destacar que cuando los apareamientos eran dirigidos el parentesco promedio de los seleccionados fue mayor (0,07 y 0,11 para  $h^2 = 0,5$  y  $h^2 = 0,1$ , respectivamente). Bajo selección fenotípica el parentesco promedio de los seleccionados

fue siempre menor que en el resto de escenarios (0,03 y 0,02 para  $h^2 = 0,5$  y  $h^2 = 0,1$ , respectivamente)

**Tabla 3.** Varianza de las contribuciones de los parentales. Apareamiento al azar y  $h^2 = 0.5$

		4 micr	8 micr	25 SNP	50 SNP	100 SNP
BLUP_G	28,87					
BLUP_U		56,48	42,66	34,06	81,58	28,87
BLUP_P		77,96	28,89	44,07	37,88	28,87
BLUP_M		28,87	28,87	28,87	28,87	28,87

BLUP\_G: relaciones genealógicas reales; BLUP\_U: individuos con padres únicos; BLUP\_P: más individuos con un padre (madre) único y varios del otro sexo; BLUP\_M: más individuos con varios padres y madres posibles.

A la vista de los resultados anteriores se podría concluir que en programas de acuicultura, donde el número de individuos evaluados es alto, no se obtienen ventajas sustanciales por incluir aquellos con paternidades múltiples (excepto en casos muy extremos). Además, el uso de relaciones de parentesco inciertas puede dificultar el control del aumento de la consanguinidad. Es más recomendable mejorar las asignaciones de paternidad usando paneles de marcadores más informativos y/o haciendo apareamientos dirigidos.

Hay que tener en cuenta que hay otros factores que afectan a la precisión de la asignación por marcadores, como es la existencia de errores de genotipado y el hecho de que los reproductores pueden estar emparentados o ser consanguíneos. Puede que en generaciones posteriores del programa de selección, sea más ventajoso incluir paternidades inciertas ya que las familias seleccionadas tendrán cada vez más consanguinidad. La situación también cambiará si el stock de reproductores incluye individuos ya seleccionados y parentales originales no mejorados.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pérez-Enciso, M. & Fernando, R. 1992. TAG 84: 173-179.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a la empresa ABSA los datos sobre las frecuencias alélicas de los marcadores usados para la asignación de paternidad.

#### GENETIC EVALUATION WITH UNCERTAIN PARENTAGE IN AQUACULTURE

**ABSTRACT:** The use of molecular markers for assigning paternity is a standard approach in aquaculture breeding programs when mass spawning is applied or when families are reared together. The reconstructed genealogy is needed for obtaining BLUP estimates of breeding values, and for controlling the increase in inbreeding. When few microsatellite markers are used, there will be a proportion of individuals assigned to multiple parents. In this situation there are three possibilities: i) using exclusively the offspring assigned to a single mother and a single father (discarding thus selection candidates); ii) genotyping the dubious individuals (and the potential parents) for more markers (extra cost); and iii) calculating an additive relationship matrix that accounts for such uncertainty. In this study we simulated a breeding program for comparing three different strategies: a) use only those individuals assigned unambiguously to both parents; b) use only those individuals assigned to at least one single parent; c) include also individuals with both multiple paternity and maternity. Two different numbers of microsatellites and three different numbers of SNPs were considered in the paternity analysis. Results show that the inclusion of uncertain paternities gives no consistent advantages. Selection intensity when using only perfectly assigned offspring was already high enough and thus there was little margin for improvement.

**Keywords:** Aquaculture, uncertain paternity, genetic evaluation, breeding program.

## SESGO EN EVALUACIONES GENÉTICAS Y GENÓMICAS DE MANECH TETE ROUSSE

Legarra<sup>1</sup>, A., Astruc<sup>2</sup>, J.M. y Reverter<sup>3</sup>, A.

<sup>1</sup>INRA, UMR GenPhySE, CS52627, 31326 Castanet Tolosan, Francia. <sup>2</sup>IDELE, CS52627, 31326 Castanet Tolosan, Francia. <sup>3</sup>CSIRO Agriculture & Food; Brisbane, Queensland, Australia

andres.legarra@inra.fr

### INTRODUCCIÓN

En especies con generaciones solapadas y diversidad de información como los rumiantes, el BLUP es una herramienta clave para clasificar animales. Sin embargo, para tomar decisiones de selección correctas, es imprescindible la ausencia de sesgo. El ejemplo más típico es que los animales “probados” no deben ser sistemáticamente infra- o sobre-estimados respecto a los animales jóvenes. El uso de toros (y carneros) “genómicos” seleccionados ha mostrado sesgos en la valoración, con consecuencias negativas para seleccionadores y ganaderos (Winkelman, 2015). Sospechamos que el origen último de este problema es que el BLUP no es completamente robusto a selección. Este trabajo evalúa empíricamente la existencia de dicho sesgo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El “sesgo” *experimentado* por los utilizadores de animales mejorados se puede describir como “la diferencia entre el nivel esperado promedio y el nivel observado en prueba de progenie”. Sin embargo los animales testados en prueba de progenie son los machos genómicos seleccionados, y por tanto hay un proceso de selección. En conjunto, ese sesgo “observado” se puede describir como  $\mu_{progenie} - \mu_{genomico}$  y tiene dos componentes: la estimación correcta del promedio de *todos* los machos genómicos,  $(\mathbf{1}'\mathbf{u} - \mathbf{1}'\hat{\mathbf{u}})/n$  (que es fruto de la selección realizada en sus padres), y la ganancia genética estimada y realmente producida al *retener* (y testar) los *mejores* machos genómicos,  $i r\sigma_u - i\sigma_{\hat{u}}$ . El primer componente corresponde al error en la estimación del progreso genético:  $b_0 = (\mathbf{1}'\mathbf{u} - \mathbf{1}'\hat{\mathbf{u}})/n$  (idealmente 0). El segundo componente depende de que  $r\sigma_u = \sigma_{\hat{u}}$ , lo que sucede si  $b_1 = Cov(u, \hat{u})/Var(\hat{u}) = 1$ . Si  $b_1 < 1$  hay *sobredispersión* de valores genéticos. Los dos estadísticos  $b_0$  y  $b_1$  forman el test Interbull de validación de evaluaciones genómicas (Mantysaari et al., 2010).

Estas ( $b_0 = 0$ ,  $b_1 = 1$ ) son propiedades del BLUP, pero sólo bajo hipótesis muy restrictivas (Henderson, 1982): selección lineal incluida en los datos, modelo correcto, etc. En particular, la utilización de grupos genéticos sesga la estimación del progreso genético ( $b_0$ ), y la selección no considerada por el BLUP reduce la varianza genética y provoca  $b_1 < 1$ . Para complicar más el panorama, la confusión existente entre tendencia genética, grupos de contemporáneas y grupos genéticos es básicamente intratable algebraicamente.

Para verificar estas hipótesis, analizamos un juego de datos de cantidad de leche anual en Manech Tête Rousse (o Manex Burugorri), la variedad francesa de la Latxa Cara Rubia. El juego de datos contiene 1.703.515 registros (hasta 2015), 500.626 animales en genealogía, 26 grupos genéticos para considerar un ~20% de padres desconocidos (los últimos de ellos en 2006, 2009 y 2012) y 1.424 carneros genotipados. Las evaluaciones genéticas se realizaron por BLUP o SSGBLUP, en ambos casos utilizando, en lugar de grupos genéticos, metafundadores (Legarra et al., 2015) para garantizar comparabilidad de los valores genéticos. Los valores de cría estimados se refirieron a la base genética del grupo genético “padre desconocido, madre conocida” de 2000. Usamos la heredabilidad estimada por REML con todos los datos (0,34).

Para estimar los sesgos de las evaluaciones usamos el método R (Reverter et al., 1994). A partir de las evaluaciones “total” ( $u_w$ ) y “parcial” ( $u_p$ ) y el vector completo de  $\hat{\mathbf{u}}$  se calculan  $\hat{b}_1 = \hat{\mathbf{u}}'_w \mathbf{H}^{-1} \hat{\mathbf{u}}_p / \hat{\mathbf{u}}'_w \mathbf{H}^{-1} \hat{\mathbf{u}}_w$  y  $\hat{b}_0 = (\mathbf{1}'\mathbf{H}^{-1} \hat{\mathbf{u}}_w - \mathbf{1}'\mathbf{H}^{-1} \hat{\mathbf{u}}_p) / n$ , donde  $\mathbf{H}$  es la matriz de covarianzas del SSGBLUP.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se muestran en la Tabla 1. Hay que resaltar que estos resultados se refieren a *toda* la población, no solamente a las últimas generaciones. Hay sesgo de tipo  $b_0 > 0$ , implicando que el progreso genético se *sobreeestima*, y el valor más alto observado (0,12) es equivalente a medio año de progreso genético. El sesgo desaparece a medida que se van introduciendo datos.

La sobredispersión reflejada en el coeficiente  $b_1$  parece muy pequeña (los coeficientes son todos muy cercanos a 1), y por tanto no parece que la selección haya afectado mucho las varianzas genéticas. Sin embargo, los parámetros genéticos se estimaron con toda la base de datos. Por ejemplo, un uso de heredabilidades más altas generaría sobredispersión.

En la Figura 1 se ve que la estima de los efectos de los metafundadores (o grupos genéticos) indica una tendencia clara, que sin embargo se rompe en el último. En ovino lechero, los padres desconocidos pertenecen a la población mejorada y por tanto, si hay selección, el grupo genético  $n+1$  debe ser igual o mejor que el  $n$ . El error no se debe a falta de datos (la precisión de la estima es 0,95), sino a problemas de modelización. Soluciones razonables son o bien ignorar ese grupo, o bien postular una estructura de autocorrelación entre metafundadores. La estructura de covarianzas de los metafundadores es esencialmente  $\Gamma = 0,7I$ , lo que significa que *a priori* los metafundadores no están correlacionados y tienen valor 0.

Una de las aplicaciones de este tipo de validación retrospectiva es la evaluación de la calidad de las predicciones genómicas frente a las basadas en pedigrí (Olson et al., 2011). Típicamente la fecha de corte es una generación (es decir unos 4 años en vacuno y ovino lechero) Vistos los resultados, parece difícil garantizar siempre el no sesgamiento de las predicciones “parciales” respecto de las “totales”. El promedio de los padres da un estimador no sesgado del valor promedio de sus hijos (es decir  $b_0 = 0$ ), pero no se puede predecir el progreso más allá de una generación. Además, una predicción correcta del progreso genético requiere una estimación correcta de los valores parentales, y los valores genéticos de las hembras son siempre poco precisos.

En conclusión: las valoraciones en su conjunto son sesgadas sobre todo en la predicción del progreso genético, y la utilización de grupos genéticos parece aumentar el sesgo. Sin embargo, las predicciones a corto plazo parecen razonablemente no sesgadas. Se recomienda verificar la falta de sesgo de las valoraciones nacionales.

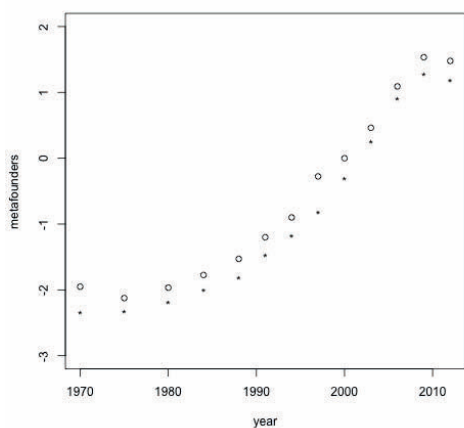
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Henderson, C. R. 1982. Proceedings of the World Congress on Sheep and Beef Cattle Breeding, 1:191–201. Legarra, A., Christensen, O.F., Vitezica, Z. G., Aguilar, I. & Misztal, I. 2015. Genetics 200: 455–68.
- Mantysaari, E., Liu, Z. & VanRaden, P. 2010. Interbull Bull 41.
- Reverter, A., Golden, B. L., Bourdon, R. M. & Brinks, J. S. 1994. J. Anim. Sci. 72: 34–37.
- Olson, K., VanRaden, P., Tooker, M. & Cooper, T. 2011. J. Dairy Sci. 94: 2613–2620.
- Winkelman, A. M., Johnson, D. L. & Harris, B. L. 2015. J. Dairy Sci. 98: 659–675.

**Agradecimientos:** Estudio financiado por el proyecto Incomings del metaprograma INRA SelGen, y por una acción conjunta INRA-CSIRO. Agradecemos a la empresa y organismo de selección, CDEO y ROLP, por la disponibilidad de los datos.

**Tabla 1.** Sesgo ( $b_0$ , expresado en desviaciones típicas genéticas) y sobredispersión ( $b_1$ ) de las evaluaciones BLUP y SSGBLUP para todos los animales utilizando diferentes fechas de corte en los datos.

Fecha de corte	Datos eliminados	Sesgo $b_0$		Sobredispersión $b_1$	
		BLUP	SSGBLUP	BLUP	SSGBLUP
2009	434061	0,10	0,12	0,9905	0,9937
2010	375347	0,11	0,13	0,9925	0,9959
2011	313505	0,06	0,06	0,9922	0,9961
2012	249956	0,03	0,03	0,9962	0,9962
2013	186062	0,03	0,03	0,9948	0,9984
2014	120861	0,02	0,01	0,9979	1,0013
2015	56385	0,01	0,01	0,9984	1,0016
2016	0	0	0	1	1



**Figura 1.** Estimaciones (en desviaciones estándares genéticas; con todos los datos) de los metafundadores ("o": padre desconocido; "\*": padre y madre desconocidos)

### BIAS IN GENETIC AND GENOMIC EVALUATIONS OF MANECH TETE ROUSSE

**ABSTRACT:** Bias of genomic selection is due to wrong estimation of genetic trend ( $b_0 \neq 0$ ) and overdispersion ( $b_1 \neq 1$ ) of the candidates' proofs. Unbiasedness only holds under very specific conditions, and therefore national evaluations should be checked for unbiasedness. MethodR provides statistics to assess it using large data sets. Here we analyse Manech Tete Rousse dairy sheep data using different truncation dates from 2011 to 2015. There is bias  $b_0$ , overestimation of the genetic trend up to 0.12 standard deviations of the trait, which decreases slowly as data accumulates. Genetic evaluation of this data set is unbiased in the short term but not in the medium term.

**Keywords:** bias, crossvalidation, BLUP, genomic

## **ESTIMACIÓN CONJUNTA DE PARÁMETROS GENÉTICOS DE PRODUCCIÓN, CONFORMACIÓN DE LA UBRE Y RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA RAZA ASSAF**

Jurado<sup>1</sup>, J.J. y Jiménez<sup>1</sup>, MA.

<sup>1</sup>Departamento de Mejora Genética Animal. INIA. Ctra. de La Coruña, Km. 7,5. 28.040 Madrid. jurado@inia.es

### **INTRODUCCIÓN**

La raza ovina Assaf de aptitud lechera cuenta con un Programa Nacional de Mejora Genética desde el año 2005, tras la constitución de la Asociación de Ganaderos ASSAFE, responsable de la dirección y coordinación del mismo. Este programa tiene como objetivo de selección la mejora, tanto de la producción de leche por lactación, como de la calidad de la misma (MARM, 2011), y en la actualidad incluye 130 ganaderías colaboradoras de numerosas provincias españolas, especialmente de Castilla y León.

Inicialmente se utilizó como criterio de selección la producción de leche acumulada durante los primeros 120 días de lactación (Jiménez y Jurado, 2005). Posteriormente y dados los altos niveles productivos de la raza se comenzó a utilizar la producción tipificada a 150 días y un índice combinado de mérito genético (ICO) que incluye los caracteres de Kg de grasa y proteína ponderados en función del pago de la leche a los productores. Como resultado del proceso selectivo aplicado durante todos estos años se ha producido un progreso genético en el carácter producción de leche de 8,22 Kg/año desde el año 2003 hasta el 2013, no habiéndose producido un deterioro de la calidad de la misma (Jurado y Jiménez, 2016). Surge, entonces, la cuestión de la sostenibilidad de estos incrementos a largo plazo y su relación con otros caracteres como los ligados al ordeño. Con la disponibilidad, a partir del año 2014, de las bases de datos de recuento de células somáticas y de conformación de la ubre se plantea la posibilidad de añadir nuevos criterios de selección al programa de mejora con el objetivo de que el incremento de la leche por lactación no suponga un perjuicio al estado de las ubres y la producción se realice con una calidad sanitaria adecuada.

El propósito de este trabajo es dar a conocer los primeros pasos que se están llevando a cabo en la raza Assaf para proporcionar a los ganaderos un criterio de selección de reproductores que permita detectar animales con aptitud para producir leche en cantidad y calidad suficiente con garantías sanitarias, dentro de un contexto de rentabilidad económica y sostenibilidad en el tiempo. Se presentan las estimas de parámetros genéticos efectuadas conjuntamente para producción lechera (L150), resistencia a mastitis (RMT) y conformación de la ubre (CU). El objetivo final, en un futuro próximo, será el diseño de un nuevo ICO que incluya todos los caracteres analizados.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para realizar este análisis se han utilizado los datos de L150 y recuento de células somáticas (RCS) registrados en la base de datos de control lechero de la raza, acumulados hasta diciembre de 2015 y empleados en la valoración genética de enero de 2016. También se han utilizado los datos de los caracteres de CU recopilados por ASSAFE durante los años 2014 y 2015. El archivo conjunto para los distintos caracteres incluye 52.218 ovejas calificadas morfológicamente en escala de 1 a 9 puntos para cinco caracteres distintos (inserción de la ubre (ins), profundidad de la ubre (prf), verticalidad de los pezones (vrt), tamaño de los pezones (tpe) y calificación general), de acuerdo con el sistema de calificación propuesto por De la Fuente et al. (1996). Se ha realizado la transformación de Snell (1964) de los distintos CU con el objetivo de re-escalar las calificaciones y ajustarlas a una distribución normal. Además, se han empleado un total de 140.389 lactaciones válidas y 890.278 controles de RCS (estos datos han sido sometidos al protocolo especificado por Ali y Shook, 1980), habiéndose calculado el valor de RMT mediante el cambio de signo de RCS previamente transformado. Por último, la genealogía ha estado formada por 86.715 animales.

Los modelos estadísticos utilizados en el análisis han sido los siguientes:

- CU:  $y_{cu} = \mu + rae + lac + tp + estl + vacrt + u_{cu} + \epsilon$
- L150:  $y_{L150} = \mu + rae + lac + tp + intp1 + intp + u_{L150} + \epsilon_p + \epsilon$
- RMT:  $Y_{RMT} = \mu + rae1 + lac-ed + tp + intp + estl1 + u_{RMT} + \epsilon_p + \epsilon$

dónde  $y_{cu}$  es la calificación morfológica de la ubre de la oveja (ins, prf, vrt y tpe),  $y_{L150}$  es la producción de leche tipificada en 150 días de lactación (Kg),  $Y_{RMT}$  es la resistencia a mamitis,  $\mu$  es la media general,  $rae$  es la interacción rebaño-año-mes de parto,  $rae1$  es la interacción rebaño-año-mes de control,  $lac$  es el número de lactación,  $lac-ed$  es la interacción número de lactación-edad al parto,  $tp$  es el tipo de parto,  $estl$  es el número de días entre la fecha de parto y la fecha de la calificación (covariable),  $estl1$  es el estado de la lactación (número de días entre la fecha de parto y la fecha del control),  $vacrt$  es el valor del control lechero en la fecha de la calificación (covariable),  $intp1$  es el intervalo entre el parto y el primer control,  $intp$  es el intervalo entre partos,  $u_{cu}$ ,  $u_{L150}$  y  $u_{RMT}$  es el valor genético del animal para los caracteres,  $\epsilon_p$  es el valor del efecto permanente del animal y  $\epsilon$  es el residuo.

Para estimar los parámetros genéticos de los distintos caracteres se ha utilizado el programa VCE 6.0.2. (Neumaier y Groeneveld, 1998; Groeneveld et al., 2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características fenotípicas de los caracteres analizados en el estudio se presentan en la Tabla 1. Las medias obtenidas para los distintos caracteres son similares a las descritas en la razas Churra (Fernández et al., 1997) y Latxa (Legarra et al., 2001), excepto para el carácter tamaño de los pezones que presenta valores más bajos en la raza Assaf. El valor medio de L150 es superior al obtenido en la última valoración genética de la raza (317 Kg) pudiendo deberse al hecho de usar datos de ovejas calificadas y paridas en los últimos años de parto en los que la producción de leche se sitúa por encima de los 350 Kg en 150 días de lactación.

En la Tabla 2 se presentan las estimas de las heredabilidades y correlaciones genéticas entre los caracteres estudiados junto con sus errores típicos. Tal y como se observa, todas las estimas han resultado con un margen de error adecuado. En general, las heredabilidades son elevadas para los caracteres de ubre y verticalidad de los pezones y medias para el carácter tamaño de los pezones. Estos valores son superiores a los presentados en las razas Churra (Fernández et al., 1997), Manchega (Serrano et al., 2001) y Latxa (Legarra et al., 2001). La heredabilidad de L150 es muy superior a la estimada de forma individual y usada en la valoración genética de la raza debido al uso de un conjunto de datos asociados a un periodo de producción concreto, tal y como se ha comentado anteriormente. Finalmente, la estima obtenida para RMT es semejante a la referenciada en otros estudios (Ugarte, 2010).

Las correlaciones entre los caracteres CU y L150 son positivas para profundidad y tamaño de los pezones, en este último caso con valores muy bajos, y negativas para los otros dos caracteres, pudiendo ser indicativo de que una mayor producción de leche tiende a descolgar la ubre y disminuir la inserción, consecuencia de un mayor peso, al mismo tiempo que dificulta el ordeño. Son resultados similares a los obtenidos en la raza Churra (Fernández et al., 1997) aunque con valores, en el caso de la profundidad, inferiores (0,82 en la Churra frente a 0,38 en la Assaf). Muchos autores y estudios destacan la relación existente entre las altas producciones de leche y el empeoramiento de los caracteres de morfología y la dificultad en el ordeño. Por otro lado, las correlaciones entre los caracteres asociados a la producción de leche (0,39) son positivas, indicativo de que los animales que son resistentes frente a la mamitis (tienen un menor RCS) presentan una mayor producción de leche. Recientes estudios relacionados con la sanidad mamaria en ovino de leche ponen de manifiesto que un alto recuento de células somáticas en la producción de leche puede suponer una reducción de hasta un 20% de la producción láctea de los rebaños (Abascal, 2016).

Dado que el objetivo, en un futuro próximo, será el diseño de un nuevo ICO en el que se incluyan caracteres de CU y de producción de leche, los resultados obtenidos en este estudio dejan entrever la dificultad que, en principio, tendría el diseño de un criterio de

selección conjunto. Por un lado, dificultad debido los diferentes signos que existen entre las correlaciones de los distintos caracteres. Por otro lado, dificultad para encontrar ponderaciones económicas apropiadas, especialmente en el caso de los CU ya que para L150 y RMT se pueden calcular teniendo en cuenta el precio del pago de la leche y las penalizaciones en dicho pago por RCS que reciben los ganaderos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abascal, G. 2016. [www.oviespaña.com](http://www.oviespaña.com)
- Ali, A.K. & Shook, G.E. 1980. *J. Dairy Sci.* 63: 487-490
- De la Fuente, L.F., Fernández, G. & San Primitivo, F. 1996. *Lives. Prod. Sci.* 45: 171-178
- Fernández, G., Baró, J.A., De la Fuente, L.F. & San Primitivo, F. 1997. *J. Dairy Sci.* 80: 601-605
- Groeneveld, E., Kovac, M. & Mielenz, N. 2008. *VCE User's Guide and Reference Manual version 6.0.2.*
- Neumaier, A. & Groeneveld, E. 1998. *Genet. Sel. Evol.* 30: 3-26
- Jiménez, M.A. & Jurado, J.J. 2005. *ITEA Vol. Extra 26 (I)*: 99-101
- Jurado, J.J. & Jiménez, M.A. 2016. 11º Catálogo Nacional de Reproductores de la raza ovina Assaf española
- Legarra, A., Ugarte, E., Beltrán de Heredia, I. & Arranz, J. 2001. *ITEA Vol. Extra 22 (I)*: 24-26
- MARM 2011. Programa de Mejora de la Raza Ovina Assaf
- Serrano, M, Pérez-Guzmán, M.D., Montoro, V. & Jurado, J.J. 2001. *Lives. Prod. Sci.* 77 (2): 355-361
- Snell, E.J. 1964. *Biometrics* 20: 592-607
- Ugarte, E. 2010. [www.mastergr.upv.es](http://www.mastergr.upv.es)

**Tabla 1.** Estadísticos de los caracteres analizados.

CARÁCTER	MEDIA	SD
Inserción de la ubre	5,09	0,76
Profundidad de la ubre	5,62	0,92
Verticalidad de los pezones	4,14	1,15
Tamaño de los pezones	2,79	0,63
Producción de leche a 150 días	377	122
Recuento de células somáticas	4,1	2,0

**Tabla 2.** Estimaciones de las heredabilidades (diagonal) y correlaciones genéticas para inserción de la ubre (*ins*), profundidad de la ubre (*prf*), verticalidad de los pezones (*prt*), tamaño de los pezones (*tpe*), producción de leche tipificada en 150 días de lactación (L150) y resistencia a mastitis (RMT) en la raza ASSAF.

	<i>ins</i>	<i>prf</i>	<i>prt</i>	<i>tpe</i>	L150	RMT
<i>ins</i>	<b>0,305±0,008</b>	-0,831±0,010	0,438±0,014	-0,114±0,014	-0,308±0,011	0,322±0,011
<i>prf</i>		<b>0,419±0,006</b>	-0,422±0,013	0,178±0,010	0,379±0,011	-0,332±0,011
<i>prt</i>			<b>0,369±0,007</b>	0,264±0,014	-0,352±0,010	-0,051±0,010
<i>tpe</i>				<b>0,236±0,007</b>	0,010±0,010	-0,349±0,012
L150					<b>0,305±0,005</b>	0,392±0,009
RMT						<b>0,158±0,004</b>

### GENETIC PARAMETER ESTIMATION OF MILK YIELD, UDDER CONFORMATION AND SOMATIC CELL COUNTS TRAITS IN ASSAF SHEEP BREED

**ABSTRACT:** Currently the main focus of the genetic selection program of the Assaf sheep breed is to increase milk yield and milk quality. However, new challenges related with udder traits and milk health quality have now arisen. Genetic parameters of udder traits, mastitis resistance and milk traits have been estimated in the basis of 140,389 lactations and 890,278 somatic cell count test day. High heritabilities were found for all udder (except for teat size, 0,24) and milk traits (0,30-0,40), but lower for mastitis resistance (0,16). Genetic correlations revealed the antagonisms among milk yield and udder traits, but a positive relation between mastitis resistance and milk production.

**Keywords:** Assaf sheep breed, genetic parameters, udder traits, mastitis resistance.

## **Evaluación de la imputación de genotipos desde un chip de baja densidad (3K) a media (Chip-50K) y alta (Chip-HD) densidad en el ganado ovino**

Chitneedi<sup>1</sup>, P.K., A., Gutiérrez-Gil, B. y Arranz, J.J.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. pchi@unileon.es

### **INTRODUCCIÓN**

En el ganado ovino la aplicación de la selección genómica depende, en gran medida, del precio asociado al genotipado de los animales. Por ello, la posibilidad de tener un chip con un coste adaptado al valor individual de los animales podría hacer la selección genómica más atractiva para el sector ovino. Sin embargo, el descenso del precio iría encaminado a la utilización de un chip con una baja densidad de marcadores, lo que podría comprometer la precisión de la selección genómica. La imputación de genotipos podría ofrecer una solución práctica y eficiente a este problema, reduciendo el coste total asociado con el genotipado y, al mismo tiempo, mantener una fiabilidad aceptable de las estimaciones genómicas (Erbe et al., 2012). La imputación es una aproximación *in-silico* por la que para una población genotipada con un chip de baja o media densidad se infieren los genotipos faltantes de un chip de más alta densidad en base a la información de una población de referencia que ha sido genotipada con la máxima densidad de marcadores considerada. Distintos autores han probado la eficiencia de la imputación genómica, con una precisión que en ganado ovino varía entre el 71% y el 98% (Hayes et al., 2012; Ventura et al., 2016).

La aproximación de imputación más eficiente se basaría en el genotipado de alta densidad sólo para los animales con mayor contribución genética en la población, como los fundadores o los antecesores, mientras que el resto de la población se genotiparía con un chip de densidad más baja para luego inferir los genotipos faltantes (Cleveland y Hickey, 2013). El tamaño de la población de referencia, la fiabilidad de la información referente al pedigrí, la relación entre la población a imputar y la población de referencia, así como el tipo de información utilizada por el software seleccionado para el análisis, desempeñan un papel crítico para obtener genotipos imputados con alta precisión (Hozé et al., 2013). En este estudio, hemos evaluado el potencial y la precisión de un chip de baja densidad (Chip-LowDensity, Chip-LD) virtual, diseñado *in silico*, para realizar imputación de genotipos a dos niveles superiores de densidades genotípicas, densidad media (Chip-50K) y alta densidad (Chip-500K o Chip-HighDensity, Chip-HD).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Población de estudio:** Este trabajo se basa en una población comercial de ganado ovino lechero con un total de 1.775 animales de del Núcleo de Selección de ANCHE. Un total de 1.686 animales (16 machos y 1.670 hijas de los mismos) han sido genotipados con el Chip-50K (37.400 SNPs, tras el control de calidad). Un subconjunto de 240 animales de esa población (los 16 machos y 14 hijas de cada familia), además de 94 de los machos con más hijas en el Núcleo de Selección se genotiparon con el Chip-HD (490.940 SNPs, tras el control de calidad).

**Chip-LD:** El chip de baja densidad a evaluar, Chip-LD, se diseñó mediante la selección de un subconjunto de los marcadores comunes entre los chips ovinos de media (Illumina Ovine SNP50 BeadChip) y de alta densidad (Ovine Infinium® HD SNP BeadChip). Los criterios de selección fueron la localización de los marcadores a lo largo de los 26 autosomas ovinos y su grado de informatividad medida mediante la frecuencia para el alelo menos frecuente (MAF > 0,3). La distancia media entre los marcadores seleccionados para el Chip-LD fue de aproximadamente de 1 Mb y el MAF medio aproximadamente 0,40.

**Imputación de genotipos:** El software utilizado para la imputación ha sido Beagle\_v4.0 (Browning et al., 2008). Los datos de entrada para este análisis incluyeron los datos de genotipado del Chip-LD, los datos del pedigrí de la población y los datos de genotipado del chip de densidad superior en cada caso, el Chip-50K o el Chip-HD. La evaluación de la precisión de imputación llevada a cabo se ha basado en una estrategia de validación cruzada en la que se utilizaron dos porcentajes de enmascaramiento para los animales de la población de referencia, del 10% (10 iteraciones) y 30% (4 iteraciones).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

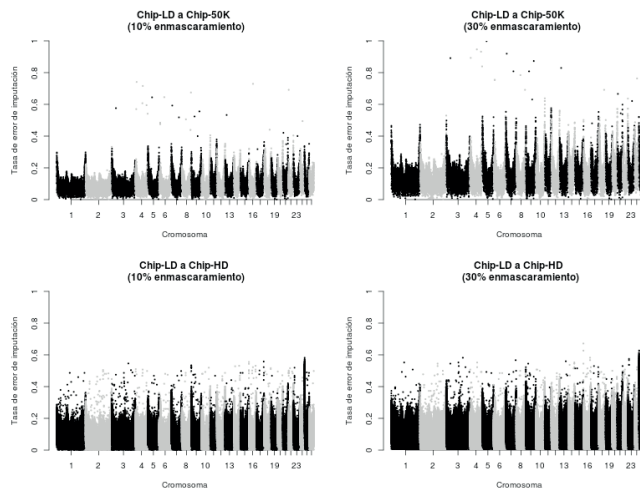
En base a los criterios establecidos para el diseño del Chip-LD *in silico*, un total de 2,935 fueron incluidos en el panel de baja densidad a evaluar en el presente trabajo. El rendimiento del software utilizado fue apropiado, con un rango de tiempo de ejecución de 3-30 minutos (para los cromosomas OAR26 y OAR1, respectivamente, y para la imputación de Chip-LD a Chip-50K y Chip-LD a Chip-HD).

Considerando los 26 cromosomas ovinos, el promedio de la precisión de imputación de los genotipos del Chip-50K a partir del Chip-LD para resultó ser muy similar para los dos niveles considerados de enmascaramiento, el 10% y el 30%, con valores del 93,53% ( $\pm 0,0086$ ) y 93,58% ( $\pm 0,0081$ ), respectivamente. Para la imputación del Chip-LD al Chip-HD, la precisión de la imputación fue del 88,3% ( $\pm 0,021$ ) para el nivel de enmascaramiento del 10% de la población de referencia y del 86,52% ( $\pm 0,012$ ) cuando se enmascaró el 30% de la población. La Figura 1 muestra el promedio, para las iteraciones realizadas, de la tasa de error en la imputación para cada uno de los marcadores imputados en los cuatro escenarios considerados. La menor precisión de imputación observada cuando la imputación de genotipos se hizo del Chip-LD al Chip-HD, comparando con la imputación al Chip-50K (aprox. 5-7% más baja), se podría atribuir a que el porcentaje de SNPs que tienen que ser imputados es mayor que cuando la imputación se hace en dos pasos y también al menor tamaño de la población de referencia (335 vs 1.680 animales) disponible para la imputación a la densidad superior. En ganado vacuno, otros autores han sugerido que, en el caso de la imputación desde la baja a la alta densidad, la mejor estrategia sería la imputación en dos pasos, inicialmente a densidad media y posteriormente a la mayor densidad (Berry et al., 2014). En cualquier caso, una población de referencia de mayor tamaño aumentaría considerablemente la precisión de la imputación (Hozé et al., 2013).

Comparando los resultados para los dos niveles de enmascaramiento considerados en la población de referencia, del 10% y 30%, vemos que este factor no tiene influencia para la imputación del Chip-LD al Chip-50K, mientras que en la imputación del Chip-LD al Chip-HD, la tasa de error de imputación fue superior en un 2% cuando el enmascaramiento afectó al 30% de la población de referencia. Esto se podría atribuir al menor número de iteraciones en los que se basa la estimación para este nivel de enmascaramiento, y/o al mayor número de genotipos a inferir para el mismo tamaño de población de referencia.

Con respecto a la distribución de la tasa de errores de imputación a lo largo de los cromosomas, a pesar de ser bastante homogénea para todos los escenarios, se observó que los marcadores localizados en los extremos de cada cromosoma muestran una tasa de error considerablemente más alta que la media del genoma (ver Figura 1). La identificación de esta condensación de errores en los extremos cromosómicos es relevante y se podría resolver mediante la redistribución de los marcadores en el diseño del Chip-LD, tratando de aumentar la densidad de marcadores en los extremos de los cromosomas. Hay que señalar además que, para la imputación a la densidad más alta, la tasa de errores fue excepcionalmente alta en el extremo proximal del cromosoma 25, llegando casi al 60%. Esto puede ser debido a la inadecuada asignación de SNPs en el Chip-HD, o a la mala calidad del borrador del genoma ovino de referencia en esa región específica.

Como principal conclusión del estudio podemos destacar que la imputación es una potente herramienta para inferir genotipos en poblaciones comerciales de ganado ovino, ofreciendo una tasa de errores relativamente baja, lo que es muy ventajoso en el ahorro de costes de genotipado. El coste de esta estrategia podría ser equivalente en costes al control de paternidad con marcadores microsatélites y, para aquellas poblaciones que utilicen la selección genómica, podría obtenerse con el coste de genotipado de un chip de baja densidad una estimación inicial del valor genético genómico que podría ser utilizado para decidir con qué animales se realiza la reposición.



**Figura 1.** Distribución de la tasa de errores de imputación a lo largo de los 26 cromosomas ovinos en los cuatro escenarios considerados: (i) Imputación del Chip-LD al Chip-50K con el 10% (a) y el 30% (b) de enmascaramiento; (ii) Imputación del Chip-50K al Chip-HD con el 10% (c) y el 30% (d) de animales enmascarados.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Berry, D.P. et al. 2014. *J. Animal. Breed Genet.* 131: 165-172.
- Browning B.L. & Browning S.R. 2009. *Am. J. Hum. Genet.* 84: 210-223.
- Cleveland, M.A. & Hickey, J.M. 2013. *J. Animal Sci.* 91: 3583-3592.
- Erbe, M., et al. 2012. *J. Dairy Sci.* 95: 4114-4129.
- Hayes, B. et al. 2012. *Animal Gen.* 43: 72-80.
- Hozé, C. et al. 2013. *Genetics Sel. Evol.* 45: 33
- Purcell, S. et al. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81: 559-575.
- Ventura, R.V. et al. 2016. *Genet. Sel. Evol.* 48: 71.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto AGL2012-34437 del Ministerio de Economía y Competitividad España (MINECO). P.K. Chitneedi es beneficiario de una beca predoctoral de la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo. B. Gutiérrez-Gil es investigadora contratada del programa “Ramón y Cajal” del MINECO (RYC-2012-10230).

#### LOW DENSITY CHIP DESIGN AND GENOMIC IMPUTATION FROM LOW DENSITY (LD-Chip) SNP CHIP TO MEDIUM (50K-Chip) AND HIGH (HD-Chip) DENSITY IN SHEEP

**ABSTRACT:** In this study we designed an *in silico* low density chip (LD-Chip) for a half-sib commercial population of the Selection Nucleus of Churra sheep and investigated the potential of this genomic tool to impute genotypes to medium (50K-Chip) and high (HD-Chip) marker densities. Based on the available genotypes for the ovine Chip-50K ( $n = 1,686$ ) and HD-Chip (335 individuals) a total of 2,935 markers common to the two panels and evenly distributed across the sheep genome were included in the *in silico* Chip-LD. The average error rate for the LD-Chip to 50K-Chip imputation was around 93.5% and ranged from 88,3% to 86,52% for the LD-Chip to HD-Chip imputation (depending on the masking level considered, 10% and 30%, respectively). For all the scenarios, a higher imputation error rate than the average was found at both ends of all the chromosomes. For the imputation to the HD-Chip density, a very high error rate was identified at the proximal end of chromosome 25. Globally, and although the identified limitations need to be solved, the *in silico* LD-Chip described here, together with the implemented imputation strategy, appear as an appropriate and affordable approach to obtain, in addition to the basic genetic tests (e.g. paternity), preliminary estimations of genomic breeding values that could guide breeding decisions.

**Keywords:** Churra sheep, SNP-Chip, imputation, accuracy.



## UTILIZACIÓN DE LAS VALORACIONES LINEALES Y LOS PESOS VIVOS A LOS 120 Y 210 DÍAS PARA LA PREDICCIÓN FENOTÍPICA DEL CRECIMIENTO CANAL Y LA CONFORMACIÓN DE LOS TERNEROS EN LA RAZA LIMUSINA

López-Paredes<sup>1</sup>, J., Jiménez-Montero<sup>2</sup>, J.A., Pérez-Cabal<sup>3</sup>, M.A., González-Recio<sup>4</sup>, O. y Alenda<sup>1</sup>, R.

<sup>1</sup> UPM, ETSIA Dpto. Prod. Agraria. <sup>2</sup> CONAFE. <sup>3</sup> UCM, Fac. Vet. Dpto. Prod. Animal. <sup>4</sup> INIA javier.lopez.paredes.21@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

La rentabilidad del sector vacuno carne depende en gran medida de los ingresos percibidos por la venta de terneros al sacrificio. Por tanto, es de gran utilidad detectar aquellos animales con un mayor valor al sacrificio. Este valor final del ternero está determinado por el peso de la canal comercializada y su conformación, caracteres a tener en cuenta en un programa de mejora, junto con los caracteres relacionados con los costes de cebo y de producción. El crecimiento canal determina los kilogramos comercializados y la conformación determina el precio percibido por kilogramo comercializado. Son ambos los caracteres determinantes de los ingresos percibidos por su venta al sacrificio y, por tanto, de uno de los factores que determinan la rentabilidad de la explotación. Sin embargo, no es posible obtener estos caracteres de aquellos animales destinados a reposición, o en explotaciones que venden al destete, así como de aquellos animales que son exportados a otros países o sacrificados en otras comunidades que no tengan disponible esta información al sacrificio. Muchas de las decisiones han de tomarse de forma inmediata, más en el caso de manejos extensivos con paridera continua y sería de gran utilidad, tener una predicción del valor del animal para tomar estas decisiones como la elección de los animales destinados a testaje o a reproductores. Por tanto, es necesario determinar aquellos caracteres que proporcionan una mejor predicción del valor final del ternero y tener una predicción de ese valor al sacrificio, con objeto de seleccionar aquellos animales con un mayor valor. Para ello es posible utilizar la información recogida hasta el destete. La Federación Española de Criadores de Limusín dispone de un control de rendimientos en el cual se califica a los animales al destete mediante valoraciones lineales (ICAR, 2016), y además se dispone de pesadas en vivo, que son ajustadas a 120 y 210 días pudiendo utilizar esta información para predecir el valor del animal al sacrificio. El objetivo del trabajo es predecir (fenotípicamente) el crecimiento canal y la conformación utilizando las calificaciones morfológicas (valoraciones lineales) y las pesadas al destete.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En la Tabla 1 se exponen las medias y percentiles de las valoraciones lineales (ICAR, 2016), los datos de sacrificio (crecimiento canal y conformación) y las pesadas desteten lactación, destete y pos destete (pesos ajustados 120 y 210 días) que se utilizaron en los análisis procedentes de la Federación Española de Criadores de Ganado Limusín. Las valoraciones lineales y pesos vivos fueron utilizados como variables de predicción de los caracteres crecimiento canal y conformación según la clasificación SEUROP (CEE nº 2930/81, 1981) con objeto de tener una estimación del valor final del ternero al sacrificio en el momento del destete. Se utilizaron los datos al sacrificio entre 10 y 18 meses, en el periodo 2003-2016 y se calculó el crecimiento canal como peso canal entre la edad al sacrificio (Tabla 1).

**Tabla 1.** Percentil 25, media, percentil 75 de los caracteres analizados en el estudio y número de registros, años y rebaños empleados.

Carácter	25%	Media	75%	Nº de registros	Años	Rebaños
Longitud del dorso (LD)	6,00	6,56	7,00	17.771	2005-2016	220
Longitud pelvis (LP)	5,00	6,04	7,00	17.771	2005-2016	220
Longitud nalga (LN)	5,00	6,22	7,00	17.771	2005-2016	220
Desarrollo (DS)	5,00	6,02	7,00	17.771	2005-2016	220
Grosor de cañas (GC)	2,00	3,21	4,00	17.771	2005-2016	220

Rectitud del dorso (RD)	6,00	6,88	8,00	17.771	2005-2016	220
Redondez de nalga (RN)	5,00	6,20	7,00	17.771	2005-2016	220
Profundidad de pecho (PP)	5,00	5,70	6,00	17.771	2005-2016	220
Espesor del lomo (EL)	5,00	5,60	6,00	17.771	2005-2016	220
Anchura de los trocánteres (AT)	5,00	5,89	6,00	17.771	2005-2016	220
Anchura de ancas (AA)	6,00	6,22	7,00	17.771	2005-2016	220
Anchura de pecho (AP)	6,00	6,30	7,00	17.771	2005-2016	220
Anchura de cruz (AC)	5,00	5,55	6,00	17.771	2005-2016	220
Anchura del dorso (AD)	4,00	5,25	6,00	17.771	2005-2016	220
Anchura de nalgas (AN)	5,00	6,06	7,00	17.771	2005-2016	220
Peso a los 120 días (P120)	145	164	185	26.274	2003-2016	226
Peso a los 210 días (P210)	237	268	303	21.066	2003-2016	226
Crecimiento canal (kg canal) <sup>1</sup>	0,673	0,772	0,865	15.692	2004-2016	283
Conformación de la canal (SEUROP)	R+	U-	U	15.624	2004-2016	283

<sup>1</sup> Calculado como peso canal entre edad al sacrificio

Se seleccionaron aquellos caracteres predictores del crecimiento canal y la conformación estableciendo varios modelos de regresión. Los caracteres (valoraciones lineales y pesadas) a incluir en cada modelo fueron determinados mediante regresión paso a paso (backward/forward) y el modelo resultante fue testado mediante una validación cruzada. La validación cruzada se realizó seleccionando aleatoriamente el 90% de los animales y a partir de ese modelo se predijo el valor de crecimiento y conformación del 10% resultante. Se realizó este proceso 10 veces y se determinó la media del cuadrado medio del error y de la correlación de Pearson entre el valor real y el predicho de las 10 iteraciones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para la predicción del crecimiento canal y la conformación combinando las distintas fuentes de información. Se muestra el coeficiente de correlación de Pearson y el cuadrado medio del error entre los valores predichos y los estimados, utilizando la media de 10 validaciones cruzadas.

**Tabla 2.** Cuadrado medio del error (CME) y coeficiente de correlación de Pearson (*r*) estimado entre el valor predicho para crecimiento canal y para conformación ( $\pm$  desviación estándar), utilizando diferentes modelos de predicción.

CRECIMIENTO CANAL							
	VL <sup>1</sup>	P120	P210	VL <sup>2</sup> +P120	VL <sup>3</sup> +P210	P120+P210	P120+P210+VL <sup>4</sup>
<b>CME</b>	0,072 $\pm$ 0,005	0,086 $\pm$ 0,002	0,066 $\pm$ 0,003	0,072 $\pm$ 0,005	0,066 $\pm$ 0,004	0,064 $\pm$ 0,002	0,065 $\pm$ 0,002
<b>r</b>	0,74 $\pm$ 0,02	0,79 $\pm$ 0,01	0,85 $\pm$ 0,02	0,80 $\pm$ 0,02	0,85 $\pm$ 0,02	0,85 $\pm$ 0,02	0,85 $\pm$ 0,02
CONFORMACIÓN <sup>9</sup>							
	VL <sup>5</sup>	P120	P210	VL <sup>6</sup> +P120	VL <sup>7</sup> +P210	P120+P210	P120+P210+VL <sup>8</sup>
<b>CME</b>	1,317 $\pm$ 0,064	1,407 $\pm$ 0,051	1,368 $\pm$ 0,055	1,374 $\pm$ 0,057	1,274 $\pm$ 0,087	1,407 $\pm$ 0,057	1,296 $\pm$ 0,053
<b>r</b>	0,38 $\pm$ 0,04	0,29 $\pm$ 0,05	0,33 $\pm$ 0,04	0,38 $\pm$ 0,05	0,44 $\pm$ 0,04	0,32 $\pm$ 0,04	0,40 $\pm$ 0,002

<sup>1</sup> LD, LN, DS, AC, PP y RD. <sup>2</sup> LD, AC y PP. <sup>3</sup> LD, RD, AP y PP. <sup>4</sup> LD, RD, PP y AP. <sup>5</sup> AC, AD, AN, AT, DS, RN, RD y GC. <sup>6</sup> AC, AD, AN, AT, DS, RN, RD y GC. <sup>7</sup> AC, AD, AN, AT, DS, RN, LD y LP. <sup>8</sup> AC, AD, AN, AT, DS, RN, LD y LP. <sup>9</sup> Conformación SEUROP expresada en escala numérica, donde una variación de una unidad supondría pasar de E a E+.

Para el carácter crecimiento canal, la correlación estimada fue de entre 0,742 y 0,850 y el cuadrado medio del error entre 0,06 y 0,08. El modelo que mejores predicciones obtuvo fue la combinación de las dos pesadas (P120 y P210) y las valoraciones lineales LD, PP, RD y AP, aunque tuvo una correlación similar a la estimada utilizando sólo las pesadas a los 120 y 210 días como variables de predicción. La utilización de sólo las valoraciones lineales dio

lugar a las correlaciones más bajas, siendo los caracteres incluidos en el modelo LD LN, DS, AC, PP y RD. Por tanto, para la estimación del crecimiento canal el mejor predictor es el peso a los 210 días, incorporar las valoraciones lineales permite aumentar la fiabilidad de estas predicciones, que podrían asociarse al rendimiento canal, siendo las valoraciones lineales más importantes AP, PP y LD.. En aquellos casos donde no haya pesos vivos las valoraciones lineales permiten obtener una estimación similar a las ofrecidas por las pesadas, con una menor fiabilidad.

Para la conformación, los errores cometidos (1,31-1,41) y las correlaciones (0,38-0,44) indican una moderada correlación entre las valoraciones lineales y las pesadas con la conformación final. Esta baja correlación podría ser debida a los sesgos producidos por el matadero o época del año en que se sacrifican los animales (Varona et al., 2008). La medición de la conformación en el matadero se realiza de manera subjetiva, pese a su repercusión en el valor final del ternero. La mejor estimación de la conformación se realizó utilizando la información del peso a los 210 días y las valoraciones lineales (AC, AD, AT, AN, LD, DS, RN, LP y GC), siendo la combinación de AC, AD, AT, AN, DS, RN, RD y GC mejor predictor de la conformación final del animal que las pesadas.

La utilización de la información al destete debe ser, por tanto, una información a utilizar para predecir el comportamiento al sacrificio del animal, obteniendo una mejor aproximación del crecimiento que de la conformación. Actualmente en la base de datos de la raza Limusina hay 15.119 animales que han sido calificados pero no tienen datos de sacrificio. Además hay 28.873 animales con peso a los 120 días que no tienen datos de sacrificio. Por último hay 23.161 animales con peso a los 210 días sin datos de sacrificio, pudiendo predecir su crecimiento y conformación a partir de la información expuesta en este trabajo. Estos caracteres han de considerarse en el programa de mejora, con objeto de evaluar los caracteres crecimiento canal y conformación de todos los animales y, en consecuencia, aumentar la rentabilidad de los reproductores. El uso de dispositivos objetivos de calificación morfológica tanto en animales vivos como sacrificados debe fomentarse. También debe considerarse la inclusión de los datos de matadero en el Programa de Mejora de la raza de las Comunidades Autónomas que no incorporan la información de matadero a su base de datos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altarriba, J. et al. ITEA (2007), 28 (2), 507-509
- CEE no. 2930/81. 1981. Community scale for the classification of carcass of adult bovine animals. Official publications of the European communities, L-2985 Luxemburg.
- ICAR (2016), ICAR recording guidelines ([www.icar.org](http://www.icar.org))
- Varona, L. et al. ITEA (2008), 104 (2), 139-144.

**Agradecimientos:** Gracias a la colaboración de FECL.

#### PHENOTYPIC PREDICTION OF THE SLAUGHTER YOUNG ANIMAL CARCASS GROWTH AND CARCASS CONFORMATION SCORE USING LINEAR SCORES AND WEIGHTS AT 120 DAYS AND 210 DAYS FOR LIMOUSIN BEEF CATTLE

**ABSTRACT:** Data from Spanish Limousine beef cattle Association (FECL) close to weaning was used to develop several regression models in order to predict slaughtered young animal carcass value. Carcass value was determined by carcass weight (determined by carcass growth) and carcass price (determined by carcass conformation score). Data used to predict models were linear scores and live weight adjusted at 120 and 210 days of age. Best prediction model for carcass growth was established using live weight adjusted to 210 days and linear scores of LD, RD, AP and PP with a Pearson correlation of real values and predicted higher than 0,85. For carcass conformation score prediction was wrong caused possibly by biased qualification at slaughterhouses. Best model's correlation was 0.44 and that included live weight adjusted to 210 days of age and AC, AD, AN, AT, LD, LP, DS, GC, RN. In conclusion, it is possible predict carcass value from animals intended to replacement using data close to weaning but is necessary unify the carcass conformation scores at slaughter.

**Keywords:** beef cattle, linear scores, profitability.

## SELECCIÓN POR CRECIMIENTO EN TERNEROS DE RAZA LIMUSINA

López-Paredes<sup>1</sup>, J., Jiménez-Montero<sup>2</sup>, J.A., Pérez-Cabal<sup>3</sup>, M.A. González-Recio<sup>4</sup>, O. y Alenda<sup>1</sup>, R.

<sup>1</sup> UPM, ETSIA Dpto. Prod. Animal. <sup>2</sup> CONAFE. <sup>3</sup> UCM, Fac. Vet. Dpto. Prod. Animal. <sup>4</sup> INIA javier.lopez.paredes.21@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

Un programa de mejora genética debe contemplar los ingresos y los costes de todos los animales de la explotación (Harris, 1970) y la integración de todos las fases de la producción de carne. La incorporación de los datos oficiales de los mataderos a un programa de mejora genética fue estudiada por Altarriba et al. (2007). Los reproductores y los animales exportados vivos no disponen de datos de matadero y su información no puede ser utilizada en los programas de mejora. Por ello es necesario utilizar la información recogida en los rebaños de nodrizas para predecir el comportamiento de estos animales en matadero, siendo este valor en matadero determinado por el crecimiento canal y la conformación de la canal (López-Paredes et al., 2017a). Además, el crecimiento canal permite predecir los costes de alimentación que ha tenido el animal hasta su sacrificio. Para la valoración de estos caracteres, la valoración genética multicarácter sería la mejor opción (Varona et al., 2011) pero en una valoración multirracial ([www.icbf.com](http://www.icbf.com)) la valoración unicarácter es la más factible debido al elevado número de animales valorados y de caracteres analizados. El objetivo de este trabajo es definir un índice de selección económico para crecimiento de la canal combinando los valores genéticos de caracteres morfológicos y pesadas en vivo de los terneros al destete, determinando la importancia de las valoraciones lineales y el peso al destete a la hora de predecir el crecimiento del animal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se determinó que la mejor predicción fenotípica del crecimiento canal (CREC) se obtuvo utilizando como variables predictores las valoraciones lineales de longitud de dorso (LD), rectitud de dorso (RD), anchura de pecho (AP), profundidad de pecho (PP) y peso a los 210 días (P210) utilizando la información procedente de la FEDCL (López-Paredes et al., 2017a). Partiendo de esos resultados se realizó, en primer lugar, una valoración genética utilizando el programa TM (Legarra et al., 2011) para estimar las componentes de varianza de los caracteres incluidos en el índice (LD, RD, PP, AP y P210) y del objetivo de selección (crecimiento canal) y se utilizó la teoría de los índices de selección (Hazel, 1943) para estimar los coeficientes del índice:

$$I = \sum b_i \times x_i$$

Donde  $b$  es el vector de coeficientes del carácter  $i$  en el índice (importancia económica) y  $x$  el valor genético para el carácter  $i$ . El vector de coeficientes fue calculado según:

$$b = GI^{-1} \cdot GIH' \cdot a$$

Donde  $GI$  es la matriz de varianzas y covarianzas genéticas entre los caracteres del índice;  $GIH$  es la matriz de varianzas y covarianzas genéticas entre los caracteres del índice y el objetivo de selección;  $a$  es el peso económico del crecimiento canal.

El peso económico del crecimiento canal (0,75€/g/día) fue estimado según la función de beneficio propuesta por López-Paredes et al. (2017b). En este valor económico se considera la influencia del carácter crecimiento canal el beneficio por ternero comercializado y año, calculado como ingresos por venta de ternero menos coste de cebo del ternero y coste de producción (coste de suplementación del rebaño expresado por ternero comercializado y año).

Una vez establecido el índice se comparó el crecimiento canal predicho por el índice con la predicción mediante valoración multicarácter incluyendo los caracteres, crecimiento canal, peso a los 210 días, longitud de dorso, rectitud de dorso, anchura de pecho y profundidad de pecho, utilizando los coeficientes de correlación de Pearson y de Spearman.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros genéticos de los caracteres incluidos en el índice se muestran en la Tabla 1. Las mayores heredabilidades fueron para LD, P210 y CREC, siendo las demás heredabilidades moderadas. Las mayores correlaciones genéticas con el crecimiento canal se obtuvieron con el P210 y con LD, siendo los caracteres más correlacionados genéticamente entre sí AP y PP. Varona et al. (2011) obtuvieron heredabilidades similares para los caracteres P210 y peso al sacrificio en la raza Pirenaica.

**Tabla 1.** Media posterior para la estima de la heredabilidad (diagonal) y correlaciones genéticas (fuera de la diagonal) de longitud de dorso (LD), rectitud de dorso (RD), profundidad de pecho (PP), anchura de pecho (AP), peso vivo a los 210 días (P210) y crecimiento canal (CREC).

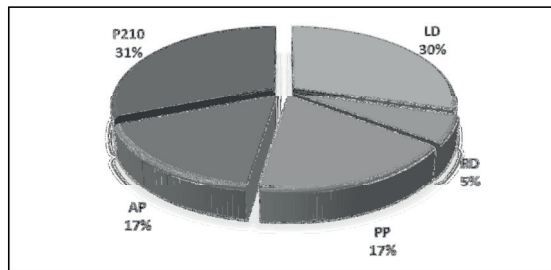
	LD	RD	PP	AP	P210	CREC
LD	0,33 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,58 ± 0,03	0,61 ± 0,02
RD		0,11 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,04 ± 0,03	0,04 ± 0,02
PP			0,12 ± 0,01	0,74 ± 0,01	0,49 ± 0,03	0,32 ± 0,02
AP				0,23 ± 0,02	0,46 ± 0,03	0,26 ± 0,02
P210					0,36 ± 0,02	0,69 ± 0,02
CREC						0,34 ± 0,02

**Tabla 2.** Media posterior para la estima de varianzas (diagonal) y covarianzas genéticas (fuera de la diagonal) de longitud de dorso (LD), rectitud de dorso (RD), profundidad de pecho (PP), anchura de pecho (AP), peso vivo a los 210 días (P210) y crecimiento canal (CREC).

	LD	RD	PP	AP	P210	CREC
LD	0,40 ± 0,03	0,05 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,08 ± 0,02	7,32 ± 1,83	17,70 ± 0,70
RD		0,13 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,27 ± 1,56	0,69 ± 0,51
PP			0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,02	3,01 ± 1,63	4,54 ± 0,41
AP				0,19 ± 0,02	3,95 ± 1,66	5,06 ± 0,53
P210					398,01 ± 173,61	629,12 ± 62,41
CREC						2093,06 ± 25,20

En la Tabla 2 se muestran las varianzas y covarianzas entre caracteres que fueron utilizadas para el establecimiento del índice de selección. El índice definido se muestra a continuación, así como la importancia económica de cada carácter expresada en porcentaje (Figura 1).

$$I \text{ CREC} = 22,74 \times \text{LD} - 7,61 \times \text{RD} + 27,04 \times \text{PP} - 18,69 \times \text{AP} + 0,75 \times \text{P210}$$



**Figura 1.** Importancia económica en porcentaje de longitud de dorso (LD), rectitud de dorso (RD), profundidad de pecho (PP), anchura de pecho (AP) y peso vivo ajustados a los 210 días (P210) en el índice de selección.

Los caracteres más importantes son P210 y la LD, seguidos de AP, PP y RD. Siendo buenos predictores del crecimiento del animal. Este índice tiene como objetivo predecir el valor económico del crecimiento canal a partir de la combinación de las valoraciones lineales y el peso a los 210 días. Esto permitirá tener una valoración de aquellos animales que no disponen de la información al sacrificio, bien sea por ser reproductores, que no van a ser sacrificados o bien sea porque no se ha recogido su dato, además de cuantificar la importancia de los caracteres tomados hasta el destete. Esto tiene gran importancia en la raza Limusina, debido a que en los últimos años, ha sufrido una gran expansión (MAGRAMA, 2014) y muchas de las crías (machos y hembras) son destinados a ser reproductores, comercializados en vivo y no podrán ser valorados por sus datos de sacrificio, determinando el índice expuesto qué caracteres son los más importantes para la mejora del crecimiento canal y por tanto de los ingresos por la venta del ternero al sacrificio. Se obtuvo una correlación de Spearman entre los valores del índice y de la valoración multicarácter de 0,62 y una correlación de Pearson de 0,58. La fiabilidad del índice fue de 0,76, obteniéndose una buena estimación del valor económico del carácter crecimiento canal. Se ha de considerar que la mejor opción sería utilizar una valoración multicarácter, este trabajo determina que caracteres se han de incluir en esa valoración multicarácter, con objeto de mejorar la estimación del carácter crecimiento canal.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altarriba et al. 2007. ITEA. 28 (2), 507-509
- Harris. 1970 Journal of Animal Science 30 (6): 860-865.
- Hazel 1943. Genetics 28 (6): 476-490.
- Legarra et al. 2011. TM Threshold Model. <http://snp.toulouse.inra.fr/~alegarra>.
- López-Paredes et al. 2017a. Jornadas AIDA (aceptado).
- López-Paredes et al. 2017b. (En vías de publicación)
- MAGRAMA, 2014. Estudio del sector de vacas nodrizas. Datos SITRAN 2014. Subdirección General de Productos Ganaderos. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Gobierno de España. [http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/estudio\\_nodrizas\\_2014\\_tcm7-267234.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/estudio_nodrizas_2014_tcm7-267234.pdf) (Acceso 26 de enero de 2017.)
- Varona et al. 2008. ITEA 104 (2): 139-144

**Agradecimientos:** Gracias a la colaboración e información aportada por la FECL.

### SELECTION OF CARCASS GROWTH IN BEEF CATTLE LIMOUSINE

**ABSTRACT:** Selection index was developed to improve carcass growth in beef cattle limousine, this index was composed by live weight at 210 days and linear scores of LD, AP, PP and RD. Moreover multitrait evaluation was done to estimate breeding values of carcass growth trait including weight at 210 days and LD, AP, PP and RD. Results from two breeding values estimates was compared with a correlation of Spearman of 0.62 and the reliability of the index was 0.76. Traits more important in the index were weight at 210 days and LD. Weight at 210 days and LD had a genetic correlation with carcass growth of 0.69 and 0.61 being the more important traits in order to improve carcass growth.

**Keywords:** beef cattle, linear scores, selection index, carcass growth prediction.

## POTENCIA ESTADÍSTICA DEL ANÁLISIS BAYESIANO DE LA DISTORSIÓN DE LA SEGREGACIÓN

Id-Lahoucine<sup>1</sup>, S., Cánovas<sup>2</sup>, A., Jatón<sup>2,3</sup>, C., Sargolzaei<sup>2,3</sup>, M. y Casellas<sup>1</sup>, J.

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

<sup>2</sup>Centre for Genetic Improvement of Livestock, Department of Animal Biosciences, University of Guelph, Guelph, Canada.

<sup>3</sup>Semex Alliance, Guelph, ON, Canada  
Samir.IdLahoucine@uab.cat

### INTRODUCCIÓN

La distorsión de la segregación (DS) definida como la desviación en las frecuencias genotípicas esperadas en la descendencia (Silver, 1993; Pardo-Manuel de Villena et al., 2000) continúa siendo poco estudiada, especialmente en las especies ganaderas. La DS puede ser el resultado de muchos mecanismos biológicos distintos, afectando a gametos, embriones, fetos (Huang et al., 2013), o incluso durante la etapa postnatal (Moore, 2006). En este sentido, el estudio de la DS puede conducir a la identificación de factores genéticos implicados en la fertilidad y los caracteres reproductivos. El modelo desarrollado por Casellas et al. (2014) presenta una metodología aplicable a las poblaciones de ganado con una parametrización flexible de la DS y para todo tipo de genealogías. El objetivo principal de este estudio fue evaluar la potencia estadística para detectar la DS bajo distintas estructuras poblacionales y genéticas para posterior aplicación utilizando datos reales en distintas poblaciones de vacuno de leche y carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se simularon generaciones parentales con un único marcador genético bialélico, asumiendo una frecuencia alélica entre 0,05 y 0,95. A partir de estos, se simularon diferentes tamaños poblacionales (N) con 25, 100, 200 y 500 individuos generados por apareamiento aleatorio bajo una estructura de 1, 25 o 100 hembras por semental (♀:♂). Los genotipos de la generación descendiente fueron simulados con diferentes niveles de DS entre -0,5 y 0,5 (modelización de la DS más abajo). Para cada escenario se generaron 10.000 réplicas.

Para la evaluación de la DS se utilizaron los modelos desarrollados por Casellas et al. (2014). A modo de ejemplo esta parametrización modela la probabilidad de heredar un alelo específico a partir de un progenitor heterocigoto (A/B) incluyendo el efecto de DS ( $\alpha$ ) como:

$$p(A)=1-p(B)=0,5+\alpha \text{ y } p(B)=1-p(A)=0,5-\alpha,$$

En el caso de los progenitores homocigotos se asume  $\alpha=0$ . Alternativamente, la DS se puede modelizar considerando el sexo de cada progenitor, asumiendo la misma parametrización, aunque estimando una  $\alpha$  para sementales ( $\alpha_s$ ) y otra para hembras reproductoras ( $\alpha_h$ ). A partir de un enfoque Bayesiano, las distribuciones posteriores conjuntas de los parámetros del modelo se definieron como:

$$p(\alpha|\mathbf{y}) \propto p(\mathbf{y}|\alpha)p(\alpha) \text{ y } p(\alpha_s, \alpha_h|\mathbf{y}) \propto p(\mathbf{y}|\alpha_s, \alpha_h)p(\alpha_s)p(\alpha_h),$$

donde  $\mathbf{y}$  era el vector de genotipos de la generación descendiente. Se asumieron a priori planos entre -0,5 y 0,5 para todos los parámetros de distorsión y una distribución multinomial para la verosimilitud de los datos (Casellas et al., 2014). Los parámetros  $\alpha$ ,  $\alpha_s$  y  $\alpha_h$  se caracterizaron a partir de sus distribuciones marginales posteriores obtenidas por Metropolis-Hastings (Hastings, 1970) con una única cadena de Markov Monte Carlo de 50.000 iteraciones. Su relevancia estadística se evaluó mediante un factor Bayes (FB).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El FB compara la probabilidad del modelo con DS ( $\alpha \neq 0$ ), en relación a otro modelo con  $\alpha=0$ . Podemos ver una relación directa del FB con la magnitud de DS en la Figura 2, donde a mayor DS más evidencia estadística se obtenía, decisiva a partir de  $\text{FB} > 100$  ( $\log_{10}(\text{FB}) > 2$ ) según la escala de Jeffreys (1984). Con el incremento de N también aumentó el FB (Figura 2), y con pocos individuos (N=25) los niveles bajos de DS no se pudieron detectar fácilmente (Tabla 1). Hay que mencionar que con escenarios de DS nula se obtuvo hasta un 0,29% de falsos positivos con  $\text{FB} > 10$  y 0,02% con  $\text{FB} > 100$ . En general, los valores de FB de la  $\alpha_s$  y  $\alpha_h$  respecto la  $\alpha$  fueron menos altos bajo la misma N (Figura 2, resultados no mostrados para

$\alpha_h$ ). Esto último se vio influido por el número de parámetros que se estimaron con la misma cantidad de datos, donde el  $\alpha$  dispone de dos fuentes de información (paterna y materna). La proporción de progenitores heterocigotos afectó claramente la potencia estadística del test. En la Figura 2 se presenta el FB en función de la proporción de progenitores heterocigotos (media entre la proporción de sementales y hembras heterocigotos;  $He$ ) para DS y proporción de sementales heterocigotos para  $DS_s$  ( $He_s$ ). A mayor  $He$  (o  $He_s$ ) más evidencia estadística se observó con el FB. Los FB máximos se obtuvieron cuando la mayoría de los progenitores eran heterocigotos ( $He$  y  $He_p > 0,5$ ), situación que se dio más fácilmente cuando habían pocos sementales en la población ( $\text{♀}:\text{♂}=100$ ). En contra, cuando habían pocos sementales y todos eran homocigotos, la potencia disminuía tal como muestra la Figura 2F, y aún más para el caso de  $DS_s$ , siendo esta nula si no había ningún semental heterocigoto (Figura 2I; línea gris claro).

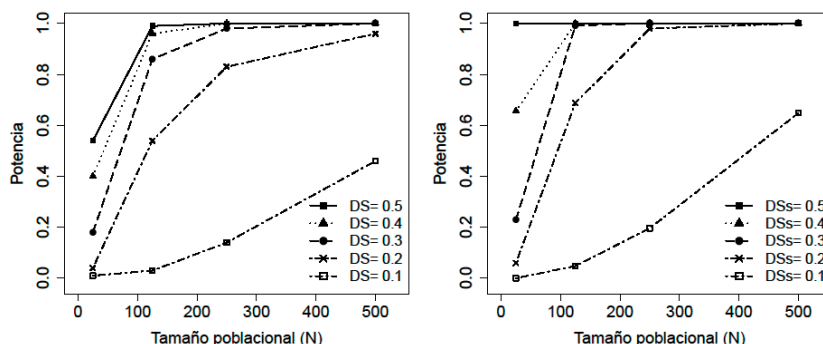
Por último, cabe destacar que la estimación de la DS mediante el modelo Bayesiano alcanzó una precisión (coeficiente de correlación entre los valores simulados y estimados de DS) superior a 0,97 para  $FB > 10$ . Sin embargo, la precisión de todas las réplicas sin descartar las no significativas fue más baja (0,60 en el caso de  $N=100$  y  $\text{♀}:\text{♂}=100$  para  $DS_s$ ).

Podemos concluir que la potencia estadística del modelo Bayesiano de análisis aumenta con el tamaño de la población, la proporción de sementales heterocigóticos (para  $DS_s$ ) y hembras heterocigóticas (para  $DS_h$ ) o la media de los dos (para DS) en la generación parental y la magnitud de la distorsión de la segregación (Figura 1). Aunque el número de hembras por semental no afecta a la potencia estadística por sí mismo, sí influyó sobre el número de sementales, y en consecuencia sobre la variabilidad genética disponible y la proporción de sementales heterocigóticos de la población. El siguiente paso es validar los resultados obtenidos con datos reales en una población de vacuno de leche (Holstein) con 1.263.568 animales genotipados y fenotipados para caracteres relacionados con la fertilidad y reproducción en vacas y toros (incluyendo parámetros de calidad del semen) con el fin de identificar las regiones en el genoma con distorsión de la segregación vía macho y/o hembra en poblaciones con elevada potencia estadística.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

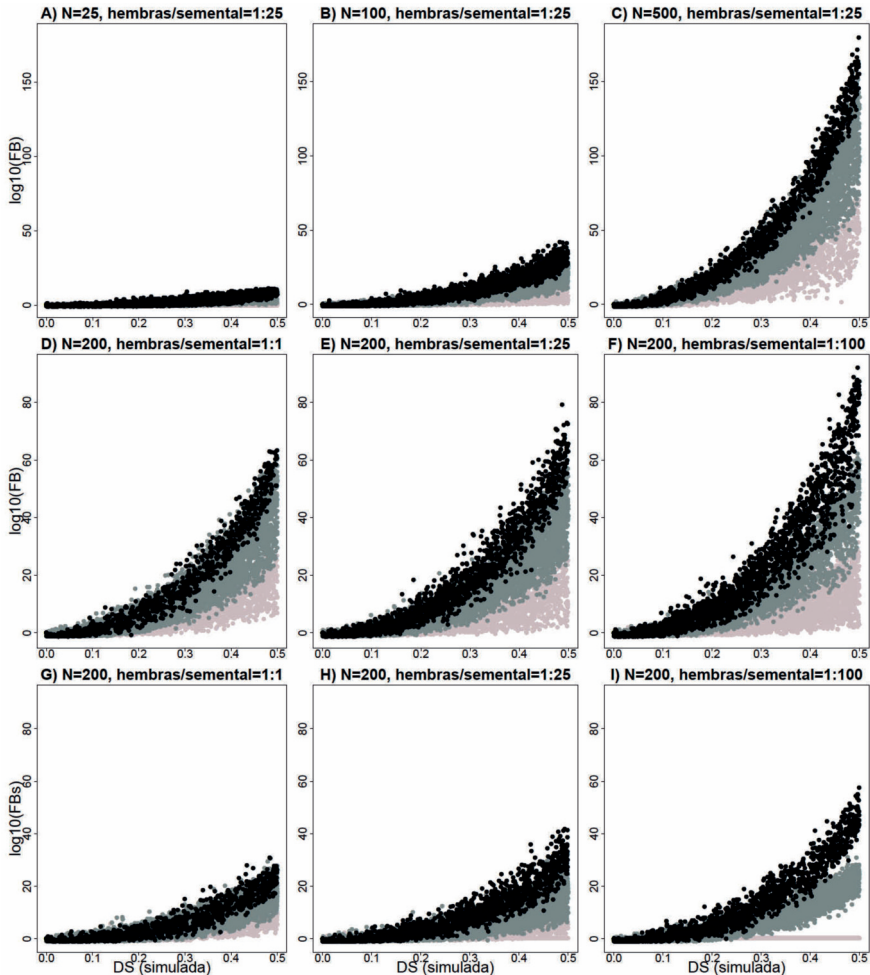
- Casellas, J. et al. 2014. *Genetics* 198: 1357-1367.
- Hastings, W.K. 1970. *Biometrika* 57: 97-109.
- Huang, L. O. et al. 2013. *Hum. Genet.* 132: 245–263.
- Jeffreys, H. 1984. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Moore, C. 2006. *Mamm. Genome* 17: 1005–1012.
- Pardo-Manuel de Villena, F., et al. 2000. *Genetics* 154: 333–342.
- Silver, L. 1993. *Trends in Genetics* 9: 250–254.

**Agradecimientos:** Investigación encuadrada en el proyecto BFO-16-04 financiado por Beef Farmers Ontario, Semex and American Angus Association - Angus Genetics Inc.



**Figura 1.** Potencia de detectar la distorsión de la segregación (DS; izquierda) o DS específica de sementales (todos heterocigotos;  $DS_s$ ; derecha) con un factor Bayes  $> 100$ .





**Figura 2.** Factor Bayes (FB) en función de los valores absolutos de la distorsión de la segregación global (DS; A-F) o DS específica de sementales ( $DS_s$ ; G-I), y de la media entre la proporción intra-sexo de reproductores heterocigotos relevantes con valores  $>0,5$  (negro),  $\leq 0,5$  y  $\geq 0,25$  (gris oscuro), o  $<0,25$  (gris claro).

## STATISTICAL POWER OF THE BAYESIAN ANALYSIS FOR TRANSMISSION RATIO DISTORTION

**ABSTRACT:** The aim of this research was to study the statistical power of the Bayesian analysis of transmission ratio distortion (TRD). The results obtained on simulated data sets showed that statistical power increased with population size, the mean between intra-sex proportion of relevant heterozygous parents, and the magnitude of the simulated TRD. The sire:dam ratio influenced the number of contributing sires and, consequently, the available genetic variability and the proportion of heterozygous sires. Pearson correlation coefficients between simulated and estimated TRD were greater than 0.97 when the Bayes Factor (BF) clearly favored the model with TRD against model without TRD ( $BF > 10$ ).

**Keywords:** transmission ratio distortion, heterozygous progenitors, Bayes factor.

## IDENTIFICACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS QUE REGULAN LA DETERMINACIÓN DEL SEXO EN SALMÓN ATLÁNTICO

Gabián<sup>1</sup>, M., Fernández, A.I., Morán, P., Villanueva, B., Chtioui, A. y Saura, M.

<sup>1</sup>INIA, Crta. La Coruña Km 7,5, 28040 Madrid. saura.maria@inia.es

### INTRODUCCIÓN

Visualmente, los salmones sólo pueden clasificarse como machos o hembras en la edad adulta, una vez que se manifiestan los caracteres sexuales secundarios. Sin embargo, la identificación temprana del sexo es de gran importancia en los planes de conservación y de mejora genética para controlar la proporción de sexos.

Los salmónidos presentan un mecanismo de determinación sexual sin cromosomas sexuales reconocibles, en el que el macho es el sexo heterogamético (Davidson et al., 2010). La investigación sobre el mapa genético de la determinación sexual en salmónidos es en general escasa, particularmente en el caso del salmón atlántico. Se ha sugerido que en la diferenciación sexual de estos peces, además de factores genéticos podrían estar involucrados también factores ambientales y epigenéticos (Martínez et al., 2014).

El objetivo de este estudio fue identificar regiones genómicas asociadas a la determinación del sexo en salmón atlántico. Para ello se utilizó un chip de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) de alta densidad, desarrollado recientemente para esta especie y se realizó un análisis de asociación del genoma completo (GWAS, *Genome-Wide Association Analysis*).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se genotiparon muestras de 204 salmones adultos (95 machos y 109 hembras), procedentes de cinco ríos que cubren todo el rango de distribución de la especie en la Península Ibérica (Miño, Ulla, Sea, Urumea y Bidasoa) con el chip de SNPs de 220K (Aquagen/CIGENE). Se utilizaron filtros estándar de calidad para SNPs y muestras. El número final de SNPs y muestras disponibles para los análisis fue de 163.747 y 198, respectivamente.

Para detectar asociaciones entre los SNPs y el sexo se realizó un GWAS con el programa *GenABEL* (paquete estadístico R, GenABEL project developers, 2013). Se analizó cada SNP de manera independiente asumiendo un modelo binomial y corrigiendo para la estructura poblacional. Para corregir el valor de probabilidad para múltiples comparaciones, se utilizó el método gráfico *QQ-plot*, que representa desviaciones de los valores de probabilidad observados y esperados. Aquellos SNPs que mostraron una asociación significativa con el sexo, de acuerdo al umbral definido para el valor de  $p$  obtenido en el *QQ-plot*, se consideraron como candidatos para ser incluidos en regiones QTL. Estas regiones se definieron como segmentos del genoma que contenían, al menos, dos SNPs consecutivos separados a una distancia  $\leq 1$  Mb.

Con el objetivo de identificar los genes incluidos en cada región, se utilizó la secuencia del genoma de *Salmo salar*, cuyo genoma está organizado en 29 cromosomas de diferentes tamaños. Dicha secuencia está disponible en la base de datos del NCBI. Utilizando la herramienta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), se identificaron genes de interés por su relación con la determinación sexual. Mediante búsqueda directa, se identificaron los genes anotados en la secuencia de salmón atlántico que estaban contenidos o cerca ( $< 5$  Mb) de regiones QTL. Se consideraron 5 Mb porque es la distancia a la cual el desequilibrio de ligamiento alcanza valores basales en estas poblaciones. A continuación y mediante búsqueda indirecta, se identificaron genes relacionados con la determinación del sexo descritas en especies próximas al salmón en la secuencia de *S. salar*, y se comprobó que estuvieran contenidos o cerca de regiones QTL. Del mismo modo, se compararon las regiones QTL que no contenían genes anotados con la base de datos del NCBI, para identificar genes asociados con el sexo en otras especies. Por último, para determinar la anotación funcional de los genes identificados se utilizaron bases de datos (*Swiss Prot*, *DAVID*) de diferentes taxones por similitud de secuencia.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron 324 asociaciones significativas ( $-\log(p) > 2.8$ ) con el sexo y 51 regiones QTL candidatas que contenían un total de 185 SNPs. En 20 de estas regiones se identificaron 26

genes relacionados con determinación o diferenciación sexual. Estos genes se mapearon en 14 de los 29 cromosomas de salmón atlántico (Tabla 1). En las 31 regiones restantes no se pudo detectar ningún gen directamente asociado con el sexo, aunque sí se identificaron 112 genes relacionados con mecanismos de transcripción y traducción que podrían estar implicados en la regulación de este proceso.

De entre los genes identificados, tres están implicados en la determinación sexual: *sdY*, *ctnb1* y *sf1*. El gen *sdY* (*sexually dimorphic on the Y-chromosome*) es el gen determinante del sexo específico de machos en trucha arcoíris, y se ha identificado en la mayoría de las especies de la familia de los salmónidos estudiados hasta la fecha (Yano et al., 2013). En salmón atlántico los estudios son escasos, y se ha visto cierta inestabilidad en la posición de este locus (Yano et al., 2013; Lubieniecki et al., 2015a). Eisbrenner et al. (2014) mapearon este gen en los cromosomas Ssa02, 03 y 06 en una población de salmón atlántico canadiense introducida en Tasmania. En el presente estudio hemos detectado similitud parcial de la secuencia de este gen en los cromosomas Ssa02, Ssa06, Ssa19 y Ssa21, dentro (o cerca) de regiones que resultaron significativas en el GWAS. Este resultado está en línea con la hipótesis de que la región determinante del sexo en salmónidos no está restringida a un único cromosoma y tiene la habilidad de translocarse entre cromosomas, no sólo entre especies sino dentro de la misma especie, como resultado de la alta densidad de ADN repetido en esta familia. El gen *ctnnb1* (*catenin beta 1*) se localiza en los cromosomas Ssa02 y Ssa13, en ambos casos a 1 Mb de una región QTL. Este gen actúa junto al gen *Rspo1* (*R-spondin 1*) (también en Ssa02) en la determinación y la diferenciación de los ovarios, de manera que ambos se activan en las células de estos órganos mediante la ruta de señalización de la insulina (Lubieniecki et al., 2015b). El gen *sf1* (*splicing factor 1*) se localiza en el cromosoma Ssa20 a 2 Mb de una región QTL. La anotación funcional reveló que se expresa tanto en ovarios como en testículos y está implicado en la regulación de la transcripción de la aromatasas, de la cual depende la proporción relativa de andrógenos y estrógenos (Schalburg et al., 2013).

En relación a los genes identificados que están relacionados con el desarrollo de las gónadas, los más interesantes se encontraron mayoritariamente en los cromosomas Ssa02 y Ssa06. En el cromosoma Ssa02 se identificaron los siguientes genes: (i) *cyp11b*, que regula la síntesis de andrógenos (también en Ssa05); (ii) *ctnnb1*, que interviene en la morfogénesis de las células implicadas en la diferenciación de los genitales (también en Ssa13); (iii) *tex10*, que se expresa en testículos y regula el inicio de la replicación del ADN; (iv) *Tekt2*, que está relacionado con la movilidad de los espermatozoides; (v) *Tdrp* y *Znf271*, que intervienen en la espermatogénesis; (vi) *Rspo1*, que regula la producción de células germinales masculinas e interviene en la meiosis; y (vii) *dnd*, que participa en el desarrollo de células germinales. Los genes identificados en el cromosoma Ssa06 fueron: (i) *col1a1*, que codifica para una cadena de colágeno que regula la fijación de las células germinales en los testículos y su posterior diferenciación; (ii) *Ppp1r9b*, que interviene en el comportamiento reproductivo del macho; (iii) *gopc*, que participa en la diferenciación del núcleo de los espermatozoides; (iv) *cited2*, que interviene en la diferenciación de las gónadas masculinas; (v) *gata4*, que participa en el desarrollo de las gónadas masculinas e interviene en la espermatogénesis; y (vi) *era*, que participa en el desarrollo de las gónadas femeninas.

En resumen, en este estudio se ha explotado la información contenida en un chip de SNPs de alta densidad para realizar un mapeo de regiones asociadas con la determinación y diferenciación sexual en salmón atlántico. La señal detectada en el GWAS apoya que el gen *sdY* se localiza en el cromosoma Ssa02, aunque se sugieren otras localizaciones no descritas previamente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caviler, T.D. 1992. T. Am. Fish. Soc. 144: 423-430.
- Davidson, W.S. 2010. Gen. Biol. 11:403
- Eisbrenner, W.D. 2014. Heredity 113:86-92
- Lubieniecki, K.P. 2015a. G3 5:2513-2522
- Lubieniecki, K.P. 2015b. Phys. Gen. 47:581-587
- Martínez, P. 2014. Front. Genet. 5:340
- Schalburg, K.R. 2013 Comp. Biochem. Physiol. B 164:236-246.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado por el proyecto RZ2012-00011-CO2-01, en el marco del VI Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica. Agradecer la colaboración de la Xunta de Galicia (en particular a Pablo Caballero Javierre),

la Universidad de Oviedo (Eva García Vázquez) y el Gobierno de Navarra por la cesión de las muestras, y a Almudena Fernández (INIA) por la discusión del análisis estadístico.

**Tabla 1.** Cromosomas que contienen genes dentro o cerca (< 5 Mb) de regiones QTL (asociadas significativamente al sexo en el GWAS). Entre paréntesis se identifica el número de SNPs incluido en cada región.

Cromosoma	Genes
<i>Ssa02</i>	<i>cyp11b</i> (4), <i>ctnnb1</i> (4), <i>tex10</i> (4), <i>Tekt2</i> (7), <i>Tdrp</i> (4), <i>Rspo1</i> (4), <i>dnd</i> (11), <i>sdY</i> (11), <i>Znf271</i> (2)
<i>Ssa04</i>	<i>slbp2</i> (2)
<i>Ssa05</i>	<i>cyp11b</i> (2)
<i>Ssa06</i>	<i>col1a1</i> (2), <i>Ppp1r9b</i> (2), <i>gopc</i> (6), <i>cited2</i> (6), <i>sdY</i> (6), <i>gata4</i> (2), <i>era</i> (2)
<i>Ssa12</i>	<i>Tex264</i> (2), <i>fancd2</i> (2)
<i>Ssa 13</i>	<i>ctnnb1</i> (5)
<i>Ssa 15</i>	<i>ncoa1</i> (6), <i>pgm3</i> (4), <i>erβ</i> (4)
<i>Ssa 18</i>	<i>Fmn2</i> (2)
<i>Ssa19</i>	<i>sdY</i> (9)
<i>Ssa 20</i>	<i>sf1</i> (4)
<i>Ssa21</i>	<i>sdY</i> (9)
<i>Ssa 27</i>	<i>spag1a</i> (2)
<i>Ssa 28</i>	<i>fshr</i> (2)
<i>Ssa 29</i>	<i>Ptchd3</i> (2)

#### IDENTIFICATION OF GENOMIC REGIONS REGULATING SEX DETERMINATION IN ATLANTIC SALMON

**ABSTRACT:** Early sex determination and differentiation are fundamental in wild and aquaculture populations. Although salmonids are male heterogametic, morphologically distinguishable sex chromosomes are not generally found. In this study we used high-density SNP data from populations of Spanish Atlantic salmon in a genome wide association analysis (GWAS) to identify genomic regions involved in sex determination and differentiation. Gender registers and genotypes from a 220K SNP chip were available for 204 samples. A total of 185 significant associations were detected in the GWAS and considered to be included in putative QTL regions. In total, 51 QTL regions were identified. Functional annotation revealed that 26 genes contained in these regions were directly associated to sex determination or gonad differentiation. Most of them mapped to chromosomes *Ssa02* and *Ssa06*. Candidate genes to be responsible of sex differentiation are proposed, including the *sdY* gene that is the master male-specific sex-determining gene in most salmonids, the *ctnb1* gene that participates in the determination and differentiation of the ovary, and the *sf1* gene that expresses both in testis and ovary, regulating the transcription of aromatase gene. To our knowledge, this is the first study investigating the genetic basis of sex determination in Atlantic salmon from genomic data.

**Keywords:** Atlantic salmon, sex-determination, *sdY*, SNP-array

## ASOCIACIÓN DE UN POLIMORFISMO DEL GEN *FADS2* CON EL CONTENIDO Y LA COMPOSICIÓN DE LA GRASA INTRAMUSCULAR EN CERDOS DUROC

Gol<sup>1</sup>, S., Pena<sup>1</sup>, R. N., Tor<sup>1</sup>, M. y Estany<sup>1</sup>, J.

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, Avenida Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida.

sgol@ca.udl.cat

### INTRODUCCIÓN

El gen de la desaturasa 2 (*FADS2*), también conocido como delta-6-desaturasa, codifica a la enzima responsable de catalizar el paso limitante de la formación de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) de cadena larga (Baylin et al., 2007). Concretamente, es el enzima clave para la ruta de desaturación/elongación que convierte el ácido linoleico (C18:2) en ácido araquidónico (C20:4). Alternativamente, C18:2 puede elongarse a ácido eicosadienoico (C20:2). En la especie porcina, *FADS2* se localiza en el cromosoma 2 en la región 2:9119389-9152215 (*assembly* Sscrofa10.2). En un trabajo previo se mostró la existencia de polimorfismos en la zona del promotor del gen *FADS2* que podrían asociarse con el engrasamiento de la canal (Pena et al., 2014). Recientes estudios de asociación genómica en cerdos Duroc (Ros-Freixedes et al., 2016) y Erhualian (Zhang et al., 2016) han encontrado evidencias de asociación entre marcadores situados en esta región donde se localiza *FADS2* y el contenido de grasa intramuscular y los PUFA de cadena larga. El objetivo del presente trabajo ha sido explorar con mayor detalle la asociación de un polimorfismo en el promotor del gen *FADS2* con el contenido y composición de la grasa en una línea de cerdos Duroc.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Material animal.** Se han utilizado 475 machos castrados Duroc procedentes de 6 lotes de engorde. Los cerdos fueron criados en condiciones comerciales con alimentación a voluntad. A todos ellos se les controló el peso y el espesor de la grasa dorsal a los 180 días de edad. Los cerdos se sacrificaron a los 210 días de edad, momento en el que se les pesó la canal y se les midió el espesor de la grasa dorsal. Después de 24 h a 2°C, se les extrajo una muestra del músculo gluteus medius (GM) del jamón izquierdo y otra del músculo longissimus dorsi (LD) entre la 3ª y 4ª últimas costillas. En ambos músculos se determinó por duplicado el contenido y la composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular (GIM) mediante determinación cuantitativa por cromatografía de gases (Bosch et al., 2009). En cada músculo se calcularon los índices C20:4/C18:2; C20:2/C18:2 y C20:4/C20:2 como indicadores de la actividad de la enzima *FADS2*.

**Genotipado.** El ADN de estos animales fue extraído a partir de muestras de músculo mediante un protocolo estándar. Se secuenció el promotor proximal de *FADS2* y se identificaron 6 polimorfismos, el tercero de los cuales, una sustitución G>A fue elegido para los análisis y se genotipó mediante un protocolo de PCR-RFLP con la enzima *AvaI*. El polimorfismo del exón 14 del gen *LEPR*, cuyo alelo T está asociado aun mayor engrasamiento (Óvilo et al., 2005), se genotipó mediante un protocolo de High Resolution Melting en un termociclador a tiempo real CFX-100 (Bio-Rad).

**Análisis de asociación.** Las diferencias entre genotipos del gen *FADS2* para los caracteres relacionados con la composición de la grasa se analizaron utilizando un modelo animal que incluyó, como factores fijos, el lote (6 niveles), el genotipo *LEPR* (3 niveles), el genotipo *FADS2* (3 niveles) y la covariable GIM. Para GIM, la covariable empleada fue la edad al sacrificio. El modelo se resolvió usando el programa JMP PRO 12 (SAS Institute Inc.) y las diferencias entre genotipos se contrastaron con un test de TukeyHSD ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia del alelo A de *FADS2* fue de 0,31. El polimorfismo del exón 14 de *LEPR* segrega en esta población Duroc a frecuencias intermedias (Ros-Freixedes et al., 2016) por lo que este genotipo también se incluyó en el modelo. Los efectos del polimorfismo de *FADS2* se presentan en la Tabla 1. Los análisis llevados a cabo en el presente trabajo no muestran evidencia de asociación entre el SNP de *FADS2* y los caracteres de peso y grasa dorsal a 180 días y en canal. Tampoco se detectaron efectos en la composición de la grasa subcutánea (datos no mostrados). Sin embargo, sí se encontraron asociaciones con los caracteres de contenido y composición de GIM. En ambos músculos analizados (GM y LD), el alelo G se relacionó favorablemente con un mayor contenido de GIM. Los ácidos grasos y las ratios analizadas en este trabajo se relacionan con el contenido en ácidos grasos omega 6, cuyo consumo excesivo es perjudicial para la salud. Así, para C20:4, el ácido graso resultante de la ruta metabólica en la que interviene *FADS2*, el alelo G presentó un efecto favorable reduciendo su contenido. Concretamente, los animales GG presentaron un 13,8% y un 11,5% menos de C20:4 en comparación con los animales AA en LD y GM, respectivamente. En consecuencia, en ambos músculos los índices C20:4/C18:2 y C20:4/C20:2 fueron inferiores en los cerdos GG. La ratio C20:2/C18:2 se vio afectada en sentido contrario en el músculo GM. Si se considera que el alelo G es el deficitario en *FADS2*, los cerdos con menos niveles de *FADS2* presentaron una mayor ratio C20:2/C18:2.

A pesar de que distintos estudios en humano y ratón correlacionan mutaciones en *FADS2* con el síndrome metabólico y la obesidad (Stoffel et al., 2008; Truong et al., 2009), los análisis llevados en el presente trabajo no corroboran estos resultados. El polimorfismo analizado no afectó el crecimiento ni el engorde de los cerdos. Nuestros resultados son consistentes con los encontrados por Renaville et al. (2012) en diversos cruces comerciales utilizados en Italia para la producción de jamón curado. En dicho trabajo, un polimorfismo en el exón 3 de *FADS2* se asoció con el contenido de IMF y de C20:4 en el músculo LD. El efecto detectado en nuestro trabajo para la ratio C20:2/C18:2 concuerda con el cambio en la ruta del metabolismo de C18:2 observado en ratones deficientes en *FADS2* (Stoffel et al., 2014). En humanos, los niveles citoplasmáticos de C20:4 muestran asociación con mutaciones en el promotor del gen *FADS2* debido a cambios en la expresión de este gen (Schaeffer et al., 2006).

Actualmente estamos analizando si la mutación del promotor porcino conlleva cambios en el estado de metilación de esta región y si se ve afectada la expresión de este gen tanto en músculo como en grasa dorsal. En su conjunto, los resultados del presente estudio sugieren que *FADS2* podría ser un marcador útil en Duroc para la mejora del contenido de GIM sin perjudicar el peso magro de la canal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Baylin, A. et al. 2007. *Am. J. Clin. R.* 85: 554-560. • Bosch, L. et al. 2009. *Meat Sci.* 82:432-437. • Óvilo, C. et al. 2005. *Gen. Res.* 85:57-67 • Pena, R. et al. 2014. XVII Reunión Mejora Gen. 45. • Renaville, B. et al. 2012. *Meat Sci.* 93: 495-500. • Ros-Freixedes, R. et al. 2016. *Plos One.* 3: e0152496. • Schaeffer, L. et al. 2006. *Hum. Mol. Gen.* 15:745–1756 • Stoffel, W. et al. 2008. *Embo J.* 27: 2281-2292. • Stoffel, W. et al. 2014. *Sci. Rep.* 15: 110-120. • Truong, H. et al. 2009. *Am. J. Clin. Nutr.* 89:220-225 • Zhang, W. et al. 2016. *Sci. Rep.* 6.

**Agradecimientos:** S. Gol es beneficiaria de una beca FPU (BES-2014-FPU13/04975). Proyecto financiado por el MINECO (AGL2015-65846-R).

**Tabla 1.** Medias mínimo-cuadráticas ( $\pm$  error típico) del contenido (en % del total de ácidos grasos) y la composición de la grasa intramuscular (GIM, en % de materia seca) en los músculos *gluteus medius* (GM) y *longissimus dorsi* (LM) según el genotipo del promotor *FADS2*.

Carácter	GENOTIPO sustitución G>A promotor <i>FADS2</i>			p-valor
	AA	AG	GG	
	n= 54	n= 191	n= 230	
P180d, kg	111,13 $\pm$ 1,43	112,12 $\pm$ 0,78	112,10 $\pm$ 0,73	n,s,
GD180d, mm	19,02 $\pm$ 0,49	19,25 $\pm$ 0,27	19,73 $\pm$ 0,25	n,s,
PC, kg	98,65 $\pm$ 1,31	99,12 $\pm$ 0,73	99,21 $\pm$ 0,67	n,s,
GDC, mm	22,60 $\pm$ 0,53	22,65 $\pm$ 0,29	23,36 $\pm$ 0,27	n,s,
<b>Músculo GM</b>				
GIM, % ms	17,32 $\pm$ 0,73	17,84 $\pm$ 0,40	19,00 $\pm$ 0,40	<0,05
C18:2, %	10,42 $\pm$ 0,18	10,95 $\pm$ 0,10	10,88 $\pm$ 0,10	n,s,
C20:2, %	0,45 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,48 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,49 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	<0,001
C20:4, %	1,23 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	1,19 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	1,06 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	<0,001
C20:4/C18:2 (x10)	1,17 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	1,08 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,98 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	<0,001
C20:2/C18:2 (x100)	4,38 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	4,50 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>	4,60 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	<0,01
C20:4/C20:2	2,84 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	2,53 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	2,21 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	<0,001
<b>Músculo LD</b>				
GIM, %ms	13,10 $\pm$ 0,66	12,47 $\pm$ 0,32	13,50 $\pm$ 0,32	<0,05
C18:2, %	8,77 $\pm$ 0,24	8,87 $\pm$ 0,12	8,58 $\pm$ 0,10	n,s,
C20:2, %	0,38 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,01	n,s,
C20:4, %	1,48 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,45 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	1,31 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	<0,01
C20:4/C18:2 (x10)	1,65 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,59 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	1,49 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	<0,01
C20:2/C18:2 (x100)	4,34 $\pm$ 0,11	4,18 $\pm$ 0,06	4,20 $\pm$ 0,05	n,s,
C20:4/C20:2	4,03 $\pm$ 0,18 <sup>ab</sup>	3,92 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	3,62 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	<0,05

<sup>a-c</sup> Dentro de cada línea, superíndices distintos indican diferencias significativas entre genotipos (p<0.05).

### ASSOCIATION OF A POLYMORPHISM OF THE *FADS2* GENE WITH THE INTRAMUSCULAR FAT CONTENT AND COMPOSITION IN DUROC PIGS

**ABSTRACT:** A recent genome-wide association study in Duroc revealed evidences of a locus affecting fat content at chromosome 2, which co-localizes with *FADS2*. This gene encodes for a delta-6-desaturase involved in the synthesis of long polyunsaturated fatty acids. In this study a G>A SNP in the promoter of the *FADS2* gene was evaluated regarding its effect over growth and fat composition in pigs. A total of 475 Duroc barrows from 6 rearing lots were genotyped. No evidence of association was found for body weight and backfat thickness at different ages but the mutation proved to be consistently associated with intramuscular fat (IMF) and C20:4 content, both in the *gluteus medius* and *longissimus dorsi* muscles. In particular, pigs carrying the G allele showed higher IMF. Thus, this mutation in the *FADS2* promoter could be a potentially useful marker for meat quality traits in Duroc.

**Keywords:** *FADS2*, Duroc, intramuscular fat, omega-6 fatty acids

## ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DEL GEN *IGF2* PORCINO Y SU EFECTO SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN DIFERENTES FONDOS GENÉTICOS.

Criado-Mesas<sup>1,2</sup>, L., Revilla<sup>1,2</sup>, M., Paludo<sup>1,2</sup>, E., Crespo-Piazuelo<sup>1,2</sup>, D., Castelló<sup>1,2</sup>, A., Fernández<sup>3</sup>, A.I., Ballester<sup>4</sup>, M. y Folch<sup>1,2</sup>, J.M.

<sup>1</sup>Plant and Animal Genomics, Centre de Recerca en Agrigenòmica (CRAG), Consorci CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus UAB, Bellaterra, España. <sup>2</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra, España. <sup>3</sup>Departamento de Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Madrid, España. <sup>4</sup>IRTA, Genética i Millora Animal, Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, Spain.  
lourdes.criado@cragenomica.es

### INTRODUCCIÓN

El gen *insulin-like growth factor 2 (IGF2)* promueve el crecimiento y juega un papel importante en la regulación de la proliferación, diferenciación y apoptosis de las células en diferentes tejidos, y se encuentra involucrado en procesos como la miogénesis y la tumorigénesis (Aslan et al., 2012).

En porcino, el polimorfismo g.3072G>A, localizado en el intrón 3 del gen *IGF2*, ha sido descrito en diferentes razas como la mutación causal de un QTL del cromosoma 2 porcino (SSC2) que incrementa la masa muscular y disminuye el espesor de la grasa dorsal, sin afectar la calidad de la carne (Jeon et al., 1999; Nezer et al., 1999; Van Laere et al., 2003; Estellé et al., 2005). El modo de herencia que mejor explica estos fenotipos es el de *imprinting* materno, es decir, expresión del alelo paterno (Van Laere et al., 2003). Se sabe que la expresión del gen *IGF2* está asociada al porcentaje de grasa intramuscular (Aslan et al., 2012), pero no se ha estudiado cómo afecta la mutación a la composición de ácidos grasos en grasa dorsal y músculo. Además, se han encontrado diferencias en la expresión de este gen en el músculo porcino en función del genotipo del SNPg.3072G>A, pero no en grasa dorsal ni en hígado (Gardan et al., 2008; Van Laere et al., 2003), lo que sugiere una regulación de la expresión del gen *IGF2* porcino específica de tejido.

Con el objetivo de profundizar en el conocimiento de la regulación de la expresión del gen *IGF2* porcino y su efecto sobre caracteres de interés productivo, el presente trabajo analiza la expresión del gen y los efectos sobre la composición de ácidos grasos en músculo y grasa dorsal de animales con diferentes fondos genéticos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Material animal y genotipado:** El material animal utilizado proviene de tres retrocruces experimentales diferentes: BC1\_LD (F1 (machos Ibéricos Guadyerbas X hembras Landrace) X hembras Landrace), BC1\_DU (F1 (machos Ibéricos Torbiscal X hembras Duroc) X hembras Duroc) y BC1\_PI (F1 (machos Ibéricos Torbiscal X hembras Pietrain) X hembras Pietrain).

Para los estudios de expresión en músculo (*Longissimus dorsi*) se han utilizado 114 animales del BC1\_LD (Puig-Oliveras et al., 2016), 126 del BC1\_DU y 124 del BC1\_PI; mientras que para el análisis de expresión en grasa dorsal se han utilizado 49 cerdos del BC1\_LD, 44 del BC1\_DU y 51 del BC1\_PI. Las muestras de músculo y grasa fueron recogidas con nitrógeno líquido y almacenadas a -80°C hasta su utilización.

Los animales del BC1\_LD y BC1\_PI fueron genotipados con el *PorcineSNP60K BeadChip (Illumina)* y los animales del BC1\_DU con el *GeneChip Porcine Genome Array (Affymetrix)*. Un total de 34.316 SNPs fueron utilizados en los estudios de asociación, después de la selección de los SNPs comunes a los dos chips, el filtrado de los que presentaban una frecuencia del alelo minoritario (MAF) inferior al 5% y de los que tenían genotipos faltantes en más del 5% de los animales. En esta selección de SNPs se incluyó el polimorfismo del intrón 3 g.3072G>A que fue genotipado mediante pirosecuenciación (Van Laere et al., 2003). También se determinó la composición de ácidos grasos en grasa subcutánea e intramuscular mediante cromatografía de gases.

**Expresión génica:** Se extrajo el ARN total de las muestras de músculo y de grasa dorsal con el kit *RiboPure™ (Ambion)*. El ARN total se cuantificó en un espectrofotómetro *NanoDrop ND-1000 (ThermoScientific)* y se convirtió a ADNc utilizando el kit *High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems)*. Los niveles de expresión génica de *IGF2*



y de dos genes de referencia, *ACTB* y *TBP*, fueron medidos en músculo con el chip *Dynamic Array 48.48 (Fluidigm)* en una plataforma *BioMark (Fluidigm)*. En cambio, los niveles de expresión de estos genes en grasa dorsal fueron medidos en un *QuantStudio™ 12K flex Real-Time PCRSystem (ThermoFisher Scientific)*. Ambos datos de expresión se normalizaron utilizando los genes de referencia y se analizaron con el programa *DAG Expression* (Ballester et al., 2013) y el software de *ThermoFisher Scientific*, respectivamente. La normalidad de los datos se comprobó mediante el test *Shapiro-Wilk* de R (<http://R-project.org>).

**GWAS:** Los estudios de asociación genómicos entre los valores de expresión del gen *IGF2* y los genotipos de los SNPs (*eGWAS*) se realizaron mediante las funciones *polygenic* y *mmscore* del paquete *GenABEL* de R (Karssen et al., 2016), siguiendo el modelo lineal mixto:

$$y = Xb + Sa + Zu + e,$$

dónde:  $y$  es el vector de fenotipos;  $b$  es el vector de efectos fijos que incluye el sexo (2 niveles), el retrocruce (3 niveles) y el lote (17 niveles);  $a$  es el efecto aditivo de sustitución alélica del SNP,  $u$  es el vector de efectos genéticos aditivos que se distribuye como  $N(0, G\sigma_a^2)$  dónde  $G$  es la matriz de parentesco calculada a partir de los SNPs con la función *ibs* de *GenABEL* y  $\sigma_a^2$  es la varianza genética aditiva;  $X$  y  $Z$  son matrices de incidencia y  $S$  es un vector de incidencia;  $e$  es el vector de residuos.

Para la asociación (*GWAS*) con la composición de ácidos grasos se ha utilizado el mismo modelo añadiendo el peso de la canal como covariable.

**Análisis del imprinting:** Se ha deducido el alelo paterno de 337 animales a partir de los genotipos de los progenitores. Para el estudio de un modelo de *imprinting* del gen *IGF2* sobre la expresión del gen en ambos tejidos se utilizó un modelo lineal (*lm*) en R, ajustando para sexo y lote como efectos fijos y comparando un modelo con *imprinting* con un modelo aditivo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En un *GWAS* para la composición de ácidos grasos en músculo (*Longissimus dorsi*) y grasa dorsal en 433 y 443 animales, respectivamente, de tres retrocruces experimentales y los genotipos de 34.316 SNPs distribuidos por todos los cromosomas no se observó ninguna asociación significativa ( $FDR < 0.05$ ) entre el genotipo g.3072G>A del gen *IGF2* y la composición de ácidos grasos en músculo. Sin embargo, g.3072G>A fue el SNP del SSC2 que mostró la asociación más significativa para la composición en grasa dorsal de los ácidos grasos heptadecanoico (C17:0; p-valor=8,93x10<sup>-7</sup>; a=0,03), oléico (C18:1(n-9); p-valor=2,20x10<sup>-7</sup>; a=0,74), linoleico (C18:2(n-6); p-valor=1,65x10<sup>-9</sup>; a=1,11),  $\alpha$ -linoleico (C18:3(n-3); p-valor=1,56x10<sup>-7</sup>; a=0,05) y araquidónico (C20:4(n-6), p-valor=2,42x10<sup>-7</sup>; a=0,02), así como para la ratio MUFA/PUFA (p-valor=4,27x10<sup>-10</sup>; a=0,24).

La expresión de *IGF2* en ambos tejidos fue diferente según el sexo, siendo en músculo mayor para hembras, y en grasa para machos. Por otra parte, los resultados de expresión del gen para cada retrocruce mostraron diferencias significativas entre ellos, siendo mayor para el BC1\_DU en los dos tejidos estudiados.

En un análisis *eGWAS* con los mismos SNPs y los valores de expresión del gen *IGF2* en el músculo de 364 animales de tres retrocruces experimentales, se observó una región del SSC2 (0-18 Mb) asociada con la expresión del gen (Figura 1). El gen *IGF2* se localiza en esta región y el SNP g.3072G>A del intrón 3 fue el que presentó una mayor significación (p-valor=1,30x10<sup>-23</sup>; a=0,98). Estos resultados concuerdan con un *eGWAS* realizado anteriormente por nuestro grupo en la población BC1\_LD (Puig-Oliveras et al., 2016).

Se analizó bajo un modelo de *imprinting* el efecto del polimorfismo del gen *IGF2* sobre la expresión del mismo gen en músculo de 337 animales y en grasa dorsal de 143 animales. Tanto para músculo como para grasa dorsal se observó que los animales con genotipo AA del gen *IGF2* presentan una mayor expresión del propio gen, en comparación con el genotipo GG (p-valor<2x10<sup>-16</sup> en músculo y p-valor=3,34x10<sup>-9</sup> en grasa dorsal). Además, los animales que habían heredado el alelo paterno A tenían una mayor expresión del gen *IGF2* en comparación con los animales que habían heredado el alelo paterno G (p-valor<2x10<sup>-16</sup> en músculo y p-valor=6,37x10<sup>-10</sup> en grasa dorsal).

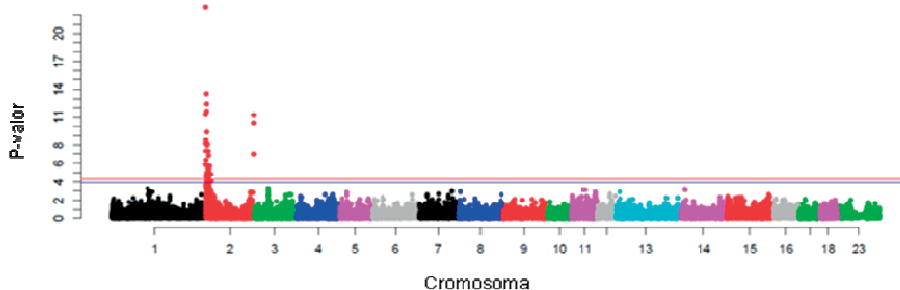
La variación del ARNm de *IGF2* en músculo y grasa dorsal, la fuerte asociación del genotipo g.3072G>A del gen *IGF2* sobre la composición de ácidos grasos en la grasa dorsal y el

efecto del *imprinting* sobre la expresión del gen en ambos tejidos sugiere que el polimorfismo del gen *IGF2* juega un papel importante en la determinación de la composición de ácidos grasos en grasa dorsal y en la regulación de la expresión del gen.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aslan, O. 2012. Mol. Bio. Rep. 39:4101–4110
- Ballester, M. 2013. PLoS One 8: e80385
- Estellé, J. 2005. J. Anim. Sci. 83:2723–2728
- Gardan, D. 2008. Dom. Anim. Endoc. 34: 45-53
- Jeon, J.T. 1999. Nat. Genet. 21:157-8
- Karseen, L. 2016. F100Research. 5:194.
- Nezer, C. 1999. Nat. Genet. 21: 155-6
- Puig-Oliveras A. 2016. Sci. Rep. 6:31803
- Van Laere, A. 2003. Nature. 425:832-6

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MINECO AGL2014-56369-C2. El material animal fue generado en el marco del proyecto INIA CPE03-010-C3 con la colaboración de investigadores del INIA, IRTA y UAB. L. Criado está financiada con una beca FPI del MINECO. M. Revilla y D. Crespo están financiados con una beca FI-DGR de la Generalitat de Catalunya. M. Ballester está financiada con un contrato Ramón y Cajal del MINECO. E. Paludo está financiada por una beca del *Programa de Ciencia sin Fronteras* del CNPQ (Brasil), Modalidad *Doctorado Sandwich extranjero* – SWE.



**Figura 1.** eGWAS de expresión de *IGF2* en músculo. Línea azul  $P$ -valor < 0,05; línea roja  $P$ -valor < 0,01. Posición de los SNPs basada en el *Sscrofa10.2*. El cromosoma 23 corresponde al cromosoma sexual X.

### ANALYSIS OF PORCINE *IGF2* GENE EXPRESSION AND ITS EFFECT ON FATTY ACID COMPOSITION IN DIFFERENT GENETIC BACKGROUNDS

**ABSTRACT:** The objective of this work was to study the regulation process of pig *IGF2* gene expression and its effect on fatty acid composition in muscle and backfat in different genetic backgrounds. In a GWAS with 34,316 SNPs and fatty acid composition in muscle and backfat, the *IGF2* g.3072G>A polymorphism was the most significant SNP on SSC2 for backfat heptadecanoic (C17:0; p-value=8.93x10<sup>-7</sup>), oleic (C18:1(n-9); p-value=2.20x10<sup>-7</sup>), linoleic (C18:2(n-6); p-value=1.65x10<sup>-9</sup>),  $\alpha$ -linoleic (C18:3(n-3); p-value=1.56x10<sup>-7</sup>), and arachidonic fatty acids (C20:4(n-6); p-value=2.42x10<sup>-7</sup>) and the MUFA/PUFA ratio (p-value=4.27x10<sup>-10</sup>). However, no significant associations were found between the *IGF2* SNP and muscle fatty acid composition. A SSC2 (0-18Mb) region was associated with the muscle *IGF2* mRNA expression in an eGWAS performed with 337 animals. The *IGF2* gene was located in this genomic interval and the g.3072G>A was the most significant SNP. Both, in muscle and backfat, animals with AA genotype showed a higher *IGF2* expression than GG animals. Furthermore, in an imprinting analysis, pigs inheriting the A allele from their father had a higher gene expression in muscle and backfat. Our results suggest that *IGF2* g.3072G>A polymorphism plays an important role in the determination of fatty acid composition in adipose tissue and in the regulation of *IGF2* gene expression.

**Keywords:** *IGF2*, backfat, eGWAS, imprinting

## VALIDACIÓN DE REGIONES QTLs Y GENES CANDIDATOS EN TRES RETROCRUCES EXPERIMENTALES CON FONDO GENÉTICO IBÉRICO

Martínez-Montes<sup>1</sup>, A.M., Muñoz<sup>1,2</sup>, M., Fernández<sup>1</sup>, A., Noguera<sup>3</sup>, J.L., Folch<sup>4</sup>, J.M. y Fernández<sup>1,5</sup>, A.I.

<sup>1</sup>INIA, Departamento de Mejora Genética Animal, 28040 Madrid. <sup>2</sup>Centro de I+D en Cerdo Ibérico, 06300, Zafrá (Badajoz). <sup>3</sup>IRTA, Genètica i Millora Animal, 25198, Lleida. <sup>4</sup>CRAG, Plant and Animal Genomics, 08193, Bellaterra (Barcelona). <sup>5</sup>Hospital Universitario Gregorio Marañón, Servicio Cardiología, 28009, Madrid.  
mariamm@inia.es

### INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios previos han identificado QTLs afectando a diferentes caracteres productivos en diversas razas porcinas tales como Landrace, en la que se identificaron QTLs que afectaban a caracteres de crecimiento (Jung et al., 2014), en Pietrain, en la cual se observaron QTLs para ganancia media diaria, canal o porcentaje de grasa intramuscular (Stratz et al., 2014) o en Duroc, en la cual se identificaron QTLs para peso y longitud de canal y longitud de lomo (Uemoto et al., 2008). Sin embargo, pocos QTLs han sido validados en diferentes fondos genéticos, como por ejemplo para caracteres de deposición grasa en Pietrain, Duroc y Large White (Fowler et al., 2013) o para caracteres de composición corporal en Duroc, Iberian, Large Black, Hampshire, Pietrain y Schwäbisch-Hällisch (Rothammer, 2014). Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de QTLs identificados, hasta la fecha son pocas las mutaciones detectadas subyacentes a estos QTLs, en parte debido a la inconsistencia de dichos QTLs en diferentes fondos genéticos.

El objetivo del presente trabajo consistió en la detección de regiones QTLs usando diferentes fondos genéticos. Para ello, se realizaron análisis de asociación de genomas completos (GWAS) para caracteres relacionados con crecimiento, deposición grasa y calidad de carne usando los datos de genotipado de individuos pertenecientes a tres diferentes retrocruces; Ibérico x Landrace (IBxLD), Ibérico x Duroc (IBxDU) e Ibérico x Pietrain (IBxPI) en tres análisis independientes y en un análisis conjunto con los datos de los tres cruces. Asimismo, se identificaron potenciales genes candidatos localizados en las regiones QTLs detectadas

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y datos fenotípicos.** En el presente estudio se utilizaron datos de tres diferentes retrocruces: F1 (Ibérico x Landrace) x Landrace (IBxLD), F1 (Ibérico x Duroc) x Duroc (IBxDU) y F1 (Ibérico x Pietrain) x Pietrain (IBxPI), con registros de peso del animal a 150 días (BW150), espesor de grasa dorsal a 75 kg (BFT75), peso de piezas nobles: jamones (HW), paletas (SW) y lomos (LW) y porcentaje de grasa intramuscular (IMF). Estas medidas fenotípicas fueron tomadas en 102 animales del retrocruce IBxLD, 135 animales pertenecientes al retrocruce IBxDU y 142 del retrocruce IBxPI.

**Datos genotípicos.** Los animales fueron genotipados utilizando dos diferentes plataformas comerciales de genotipado masivo. Los individuos de los retrocruces IBxLD y IBxPI fueron genotipados con la plataforma PorcineSNP60 BeadChip (Illumina, Inc.) y los datos fueron filtrados usando el software GenomeStudio. Los individuos pertenecientes al retrocruce IBxDU fueron genotipados con la plataforma Axiom® Porcine Genotyping Array (Affymetrix, Inc.) y el filtrado de los genotipos fue llevado a cabo con el software Axiom™ Analysis Suite 2.0. Asimismo, para el análisis individual de cada retrocruce se realizó un filtrado adicional usando el paquete GenABEL en R (Karssen et al., 2016) y se seleccionaron aquellos polimorfismos con una frecuencia alélica mínima (MAF) mayor a 0,05. Para poder realizar una comparación de resultados entre plataformas, se seleccionaron aquellos SNPs comunes a ambas utilizando el programa SNPchimp v.3 (Nicolazzi et al., 2015).

**GWAS.** Se realizó un estudio de asociación a nivel de genoma (GWAs) con el siguiente

modelo:  $y_{ijk} = S_i + B_j + bx_k + \sum \lambda_{ik} a_l + u_k + e_{ijk}$ , donde  $y_{ijk}$  es el registro

fenotípico correspondiente al individuo  $k$ th,  $S_i$  y  $B_j$  son los efectos fijos sexo y lote de sacrificio y  $b$  es el coeficiente de regresión del peso final antes de sacrificio,  $a_l$  es el efecto

aditivo del SNP,  $\lambda_{lk}$ , el indicador relacionado con el número de copias del alelo  $l$  (0, 1 or 2),  $u_k$  es el efecto infinitesimal del individuo  $k$  y  $e_{ijk}$  el residuo. Para realizar los análisis se utilizó el paquete GenABEL de R. El umbral de significación fue estimado usando QQ-plot. Las regiones QTLs fueron determinadas por tener dos o más SNPs significativos con una distancia máxima de 3Mb. Además, regiones identificadas a una distancia máxima de 15Mb fueron consideradas como la misma. El contenido génico de estos QTLs se determinó utilizando la herramienta Biomart y la funcionalidad de los mismos fue analizada utilizando las bases de datos VarElect (Stelzer et al., 2016) y STRING (Szklarczyk et al., 2015).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después del filtrado y de la selección de SNPs comunes entre ambas plataformas y poblaciones se utilizaron: 38.684 SNPs en el análisis del retrocruce IBxDU, 39.279 SNPs en el análisis IBxLD y 38.891 SNPs en el análisis del retrocruce IBxPI. EN el análisis conjunto de los tres retrocruces se emplearon 40.929 SNPs. Un total de 147 regiones asociadas a los caracteres de interés fueron identificadas en el análisis conjunto, 139 regiones en el retrocruce IBxLD, 110 en el IBxDU y 53 regiones en el IBxPI.

La comparación entre los resultados de cuatro análisis GWAS permitió identificar regiones comunes en todos los análisis, regiones sólo identificadas en el análisis conjunto y regiones identificadas específicamente en cada uno de los retrocruces. Se identificaron un total de 16 regiones comunes en los cromosomas 1, 2, 3, 6, 9, 13, 15 y 16, para todos los caracteres excepto BFT75. Además, 29 regiones fueron detectadas específicamente para el retrocruce IBxLD para todos los caracteres analizados; 12 en el retrocruce IBxDU asociadas con BW150, BFT75, HW y SW, 6 regiones en el retrocruce IBxPI asociadas con BW150, LW y IMF. Por último, 10 regiones fueron identificadas en el análisis conjunto, localizadas en los cromosomas 1, 4, 13, 15 y 18 y asociadas con BW150, HW, SW y IMF, no identificadas en los análisis individuales, lo que indica que el GWAS incluyendo los datos y genotipos de todos los retrocruces incrementa la potencia del análisis.

Utilizando las herramientas STRING database y VarElect tool de GeneCards se identificaron genes candidatos con funciones relacionadas con los caracteres de interés (Tabla 1). Cabe añadir, que como criterio para la selección, se utilizaron resultados de un estudio paralelo realizado en este mismo material de genes diferencialmente expresados en animales de alto y bajo crecimiento (Muñoz et al., 2017 (en producción)). Se identificaron 21 genes candidato en las regiones comunes a todos los análisis, 4 en las regiones del análisis conjunto, 48 en las regiones el retrocruce IBxLD, 14 en el IBxDU y 18 en el IBxPI. Los genes identificados en el retrocruce IBxLD tienen funciones relacionadas principalmente con el metabolismo de ácidos grasos, desarrollo muscular y desarrollo de adipocitos, los identificados en el retrocruce IBxDU están principalmente relacionados con el desarrollo muscular y respuesta a insulina y los detectados en el retrocruce IBxPi, están principalmente relacionados con la síntesis de ácidos grasos y respuesta a carbohidratos. Dado el fondo genético común de los tres retrocruces es ibérico, es esperable que los efectos comunes detectados estén relacionados con las características propias de la raza Ibérica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fowler, K. E. et al. 2013. BMC Genomics 14(1): 784.
- Jung, E. et al 2014 Animal Genetics 45(3): 442-444.
- Stratz, P. et al. 2014 Animal Genetics 45(3): 350-356.
- Uemoto, Y. et al. 2008. Journal of Animal Science 86(11): 2833-2839.
- Rothhammer et al. 2014. Genet, Sel, Evolution. 46(1), 68
- Karssen, L. C. et al. 2016. F1000Research 5.
- Nicolazzi et al. 2014. BMC Genomics 15(1): 123.
- Stelzer, G., et al. 2016. BMC Genomics 17(2): 444.
- Szklarczyk, D. et al. 2014. Nucleic Acids Research: gku1003.

**Agradecimientos:** Este trabajo está financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) proyecto: AGL2014-56369-C2. El material animal fue generado en el marco del proyecto INIA CPE03-010-C3 con la colaboración de investigadores del INIA, IRTA y UAB

**Tabla 1.** Caracteres en los que se han detectado regiones significativas en cada análisis y genes candidatos localizados en las mismas

Análisis	Carácter	Genes candidatos
IBxLD	BW150	<i>KL</i>
	BFT75	<i>WNT1, IGFBP6, SP1, KRAS, IAPP, LRP6, TNFRSF1A, ADIPOR2, VDR, KRT8, LYZ, MFAP5, FGF23, WNK1, ANO6, DICER1, VRK1, SUCLA2</i>
	HW	<i>SFTPD, SH2D4B</i>
	SW	<i>HTRA1, AMACR, PRLR, AGXT2, EGFLAM</i>
	LW	<i>MUSK, PTGS1, ENG, CRAT, ASS1, ABL1, ADAMTS13, ACTB, GTF2IRD1, PHKG1, MYLPF, ATP2A1, PCOLCE, EIF2AK2, HADHB, HADHA, POMC, ACP1, PEX2, JPH1, EDN1, DSP</i>
IBxDU	BW150	<i>SCN1B</i>
	BFT75	<i>SMAD2, SMAD7, MYO5B, SMAD4, FAT1</i>
	HW	<i>FGF3, FGF4, FGF19, IL2</i>
	SW	<i>HK2, ACTG2, DYSF, LRAT</i>
IBxPI	BW150	<i>C1QL3</i>
	LW	<i>NPTX1, GALR2</i>
	IMF	<i>ELOVL7, ANO3, LYN, SNAI2, PRKDC, SELE, SELL, SELP, KARS, FA2H, TAT, HP, IBSP, ITGB1, CXCR4</i>
Comunes	BW150	<i>NKX2-5, CCNT2, DAB2, EGFLAM</i>
	HW	<i>MYOD1, KCNJ11, CAST, ERAP1, PAM, IL4R, PGM1, ANGPTL3, MLH1, SCN5A, SCN10A, DCLK3, GSK3B, UPK1B, CENPH, DUSP1</i>
	SW	<i>GHRHR</i>
Conjunto	HW	<i>CNR1</i>
	IMF	<i>CAV1, PPP1R3A, ING3</i>

BW150: peso del animal a 150 días; BFT75: espesor de grasa dorsal a 75 kg, HW: peso de jamones, SW: peso de paleta; LW peso de lomos; IMF: porcentaje de grasa intramuscular

#### QTL AND CANDIDATE GENE DETECTION USING GWAS IN THREE EXPERIMENTAL IBERIAN BACKCROSSES

Although numerous QTLs have been identified in different porcine breeds, there are not so many studies which validate the same QTL regions in several breeds. The objective of the current study was to detect QTLs on six traits related with growth, fatness and meat quality using genotyping data of individuals from three different backcrosses: Iberian x Duroc (IBxDU), Iberian x Landrace (IBxLD) and Iberian x Pietrain (IBxPI). Animals of IBxLD and IBxPI were genotyped with PorcineSNP60 BeadChip and those from IBxDU backcross with Axiom® Porcine Genotyping Array. Common SNPs were selected and individual GWAS for each backcross and one GWAS using the genotyping data of the three backcrosses (combined analysis) were carried out. 16 common regions and 21 candidate genes were identified in the four analyses while 10 additional regions and 4 genes were detected only in the combined analysis. In addition, 29 regions and 48 genes were specifically detected for IBxLD backcross, 12 regions and 14 genes for IBxDU backcross and 6 regions and 18 genes for IBxPI. Combined analysis increases the power of GWAS and lead to detect additional regions and SNPs.

**Keywords:** GWAS, backcrosses, candidate genes.

## VALIDACIÓN DE QTLs ASOCIADOS A GRASA INTRAMUSCULAR EN LA RAZA AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA

Meneses, C.<sup>1,2</sup>, Carabaño, M. J.<sup>1</sup>, Quintero-Arboleda, X.<sup>1</sup>, González, C.<sup>1</sup>, Rueda, J.<sup>3</sup> y Díaz, C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Mejora Genética Animal. INIA. <sup>2</sup>Asociación de Ganaderos de Raza Avileña-Negra Ibérica. <sup>3</sup>Departamento de Genética. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid. cdiaz@inia.es

### INTRODUCCIÓN

La componente genética de los caracteres asociados a la calidad de la carne es relevante (Marshall, 1999) y por ello la selección genética puede ser una vía de la mejora de este carácter. Sin embargo, la obtención de fenotipos de calidad de carne es cara y se realiza en una fase tardía de la vida de los animales, lo que disminuye la eficiencia de selección. Por estas razones, los caracteres de calidad de carne pueden beneficiarse de forma clara de las ventajas de la selección genómica. Por otro lado sabemos que las características que más valoran los consumidores de "Carne de Avila" son el sabor y la ternera (Martín-Collado et al., 2012) y uno de los elementos clave en el sabor, y posiblemente, en la ternera es el contenido de grasa intramuscular (GIM) (Hocquette et al, 2010). Por otro lado en las últimas décadas se ha realizado una búsqueda intensa de QTLs asociados a caracteres de calidad de carne mediante el uso de marcadores de tipo microsatélites con mapeos de mayor o menor densidad, dando como resultados QTLs de mayor o menor tamaño dependiendo entre otros, de la densidad de mapeo, a partir de los cuales se identificaban genes candidatos posicionales profundizando en la funcionalidad de dichos genes en relación al carácter. Los resultados de dicha búsqueda pueden encontrarse en bases de datos públicas como AnimalGenome ([www.animalgenome.org](http://www.animalgenome.org)). En la actualidad, la búsqueda de QTLs se basan en análisis de asociación con chips de marcadores SNPs de distinto tamaño, para los cuales no existe un consenso claro de cómo ir desde la señal a la propuesta de genes candidatos. Por un lado, existen estudios en los cuales se identifican el/los genes más próximo a un lado y otro del marcador o se establecen ventanas de búsqueda de un tamaño arbitrario, normalmente 1 Mb.

El objetivo de este trabajo es validar QTLs para GIM encontrados en distintas poblaciones de vacuno de carne en la raza Avileña-Negra Ibérica a partir de los marcadores SNPs contenidos en dichas regiones. Para ello se utilizarán medidas de GIM, determinadas en los músculos *Psoas major* (PM) y *Flexor digitorum* (FD) en terneros de raza ANI.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se partió de 397 animales machos de raza ANI cebados bajo condiciones comerciales, para los que se obtuvo la medida de el contenido GIM estimada con un equipo Infratec 1265 Meat Analyser, para los dos músculos de estudio. Los 397 animales se genotiparon con el chip Beadchip BovineSNP50 de Illumina. La información de los QTLs previamente descritos se obtuvo de la plataforma Animal Genome, de la cual se extrajeron un total de 83 QTLs para el carácter GIM con un tamaño medio de 1,86 Megabases (Mb) y desviación estándar de 6,69 Mb, estando comprendidos en las regiones QTLs un total de 2482 SNPs del chip.

Para el análisis de asociación se usó el software QXpak 5.05 (Pérez-Enciso y Misztal, 2004 y 2011). El modelo utilizado para describir la asociación entre las medidas fenotípicas y el genotipo de cada SNP fue el siguiente:

$$y_{ijklm} = \text{CebAño}_i + \text{DíasCeb}_j + \text{EdadSac}_k + \text{EpSac}_l + \text{SNP}_m + a_n + e_{ijklm}$$

donde CebAño= Cebadero-Año, DíasCeb=Duración del periodo de cebo, EdadSac=Edad al sacrificio, EpSac=Época de sacrificio, SNP=genotipo SNP, a=efecto poligénico, e=residuo. El efecto poligénico se introdujo a través de la matriz de parentesco genómico obtenida con

el software Plink v1.07 (Purcell et al., 2007) a partir de todos los marcadores del chip, una vez estos fueron filtrados.

Tras los análisis, para la selección de los SNPs asociados a GIM se estableció un umbral de 0,1 para la tasa de falso positivos (FDR) definida como  $FDR=(n*p)/k$ , donde n es el número total de SNPs incluidos en el análisis, p es el umbral del p-valor y k es el número de SNPs seleccionados dado el umbral establecido, de forma que se seleccionaron aquellos k SNPs que cumplieran con la condición de  $FDR < 0,1$ . Se construyeron ventanas de desequilibrio de ligamiento (LD) alrededor de cada uno de los n SNPs, estableciéndose un valor de  $LD=0,20$  para acotar dichas ventanas de búsqueda y se calculó cuanto representaban dichas ventanas en relación al tamaño del QTL original. Para el caso donde el QTL estuviera descrito por un SNP se determinó la ventana de búsqueda atendiendo al patrón de LD existente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estudios de asociación resultaron en distinto número de SNPs asociados significativamente con los caracteres estudiados. Para el músculo FD se seleccionaron 147 SNPs con p-valor umbral de  $5,9*10^{-3}$ , y un FDR de 0,099 y para el PM 18 SNPs con p-valor umbral de  $7,3*10^{-3}$  y un FDR de 0,10, distribuidos en 10 cromosomas según se refleja en la Tabla 1. Sobre estos SNPs se construyeron las ventanas de desequilibrio de ligamiento, 148 SNPs hicieron ventanas de LD, 133 para FD y 15 para PM, para los 17 SNPs restantes se establecieron ventanas de 1Mb.

Finalmente, 158 SNPs se localizaron en un total de 8 QTLs de los 83 inicialmente relacionados con los caracteres GIM como aparece en la Tabla 2, estando 4 de ellos contenidos en los dos QTLs asociados a GIM en FD del cromosoma 19. Cuatro de los SNPs de los QTLs descritos en GIM se validaron por la asociación de SNPs significativos para los dos músculos, FD y PM. La variación media del tamaño de los QTLs validados fue muy heterogénea, como aparece en la Tabla 2, así para los QTLs de los cromosomas 1,5 y 19 se redujo en un rango del 9,6 al 94,5% de su tamaño, mientras que para los otros restantes se incrementó entre un 15,0 y un 201,1%.

Paralelamente nueve SNP se validaron por su asociación con el carácter en el FD, como se refleja en la Tabla 3, ya que aparecieron descritos previamente en Animal Genome de forma de SNP asociado, estando uno de ellos descrito también en un QTL asociado a GIM en FD del cromosoma 5.

Así con esta validación y acotación, se han redefinido 8 QTLs asociados al contenido en GIM para los músculos FD y PM de la raza Avileña-Negra Ibérica y validado 9 SNPs.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hocquette, J.F., Gondret, F., Baeza, E., Medale, F., Jurie, C. & Pethick, E.W. 2010. *Animal* 4(2): 303-319.
- Marshall, D.M. 1999. *The genetics of cattle*, CAB International, Wallingford, UK, 605-636.
- Martín-Collado, D., González, M. & C. Díaz. 2012. *RCCV* 6(1): 45-49.
- Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2004. *Bioinformatics* 20: 2792-2798.
- Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2011. *BMC Bioinformatics* 12:202.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I.W., Daly, M.J. & Sham, P.C. 2007. *American Journal of Human Genetics* 81:559-575.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen su contribución en la toma de muestras a AECRANI y al Consejo Regulador de la IGP "Carne de Ávila".

**Tabla 1.** Relación de número de SNPs al carácter grasa intramuscular (GIM) para cada uno de los dos músculos *Flexor digitorum* (FD) y *Psoas major* (PM).

Nº SNPs	Músculo	Cromosoma									
		1	3	4	5	14	16	18	19	22	26
	FD	33	1	1	50	2	2	1	37	14	6
	PM	3			12				1	1	1

**Tabla 2.** Relación de QTLs previamente descritos para grasa intramuscular (GIM), que incluían SNPs significativamente asociados al carácter grasa intramuscular (GIM), en los músculos *Flexor digitorum* (FD) y *Psoas major* (PM).

Cromosoma	NºSNP	Músculo	Nº de QTL	Tamaño medio QTL (Mb)	Tamaño medio de la ventana de LD (Mb)	Cambio tamaño QTL (%) <sup>1</sup>
1	33	FD	1	26,4	15,6	-40,7
	3	PM				
5	27	FD	2	42,9	49,4	15,0
	3	PM				
	23	FD		28,5	25,8	-9,6
	9	PM				
19	12	FD	2	7,5	17,4	43,6
	29			18,2		
	1	PM		18,2		
22	14	FD	1	15,2	16,2	6,3
	1	PM				
26	6	FD	1	5,2	15,5	201,1
	1	PM				

FD: *Flexor digitorum*, PM: *Psoas major*, Nº: Nº de QTL, Mb: Mega bases, LD: Desequilibrio de ligamiento, <sup>1</sup> % de cambio de tamaño del QTL medido como el incremento del tamaño de la ventana (Tamaño Ventana-Tamaño QTL)/Tamaño QTL .

**Tabla 3.** Relación de SNPs validados por su asociación para el carácter grasa intramuscular (GIM) en el músculo *Flexor digitorum* (FD).

Cromosoma	3	4	5	14	16	18
NºSNP	1	2	1	2	1	1
SNP validados	1	2	1	2	2	1

## VALIDATION OF QTLs ASSOCIATED TO INTRAMUSCULAR FAT IN AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA BREED

**ABSTRACT:** This study aimed was validated QTLs associated with intramuscular fat (IMF) in two muscles, *Psoas major* (PM) and *Flexor digitorum* (FD), in the local breed cattle Avileña-Negra Ibérica. (ANI). The QTLs were previously described in others breeds, and they were download from Animal Genome site. The IMF measures came from 397 ANI calves, which were also genotyped with the Illumina Bovine SNP50 chip. A total of 2482 SNPs were contained in the 84 IMF QTLs regions, and a genome wide association (GWAS) was carried out with the QXpak v.5.05 software. After the GWAS, relevant SNPs were selected if the false discovery rate (FDR) was less than or equal to 0.10, and after that were built a linkage disequilibrium windows of theses SNPs. Overall, 8 QTLs described in IMF for ANI breed and 9 SNPs validated.

**Keywords:** Intramuscular fat, SNP, QTL, Genome Selection.



## REGIONES GENÓMICAS ASOCIADAS CON CARACTERES REPRODUCTIVOS EN CONEJO

Sosa-Madrid<sup>1</sup>, B.S., Santacreu<sup>1</sup>, M.A., Ibáñez-Escriche<sup>2</sup>, N. y Blasco<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, P.O. Box 22012. Valencia, España.

<sup>2</sup>The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Midlothian EH25 9RG, Reino Unido.

msantacr@dca.upv.es

### INTRODUCCIÓN

El tamaño de camada es considerado uno de los caracteres más importante en producción cunícola. Sin embargo, la selección genética directa del tamaño de camada e indirecta a través de sus componentes (i. e. tasa ovulación y capacidad uterina) ha obtenido una baja respuesta a la selección (Khalil y Al-Saef, 2008). Desde el 2015, la disponibilidad de genotipados de alta densidad en conejo ha permitido la posibilidad de realizar estudios de asociación del genoma completo (GWAS). La identificación de las regiones del genoma que están directamente asociados con la variabilidad en los fenotipos puede ayudar a comprender mejor el control genético de los caracteres productivos. Por otra parte, los experimentos de selección divergente pueden ser un material excepcional para este tipo de estudios. El objetivo de este estudio fue identificar regiones genómicas asociadas al tamaño de camada y sus componentes, a partir de los datos de un experimento de selección divergente por capacidad uterina en conejo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Material animal:** Los animales utilizados en este estudio proceden de tres líneas de conejo: línea alta de capacidad uterina (HUC), línea baja de capacidad uterina (LUC) y línea V seleccionada por tamaño de camada al destete. La población base de las líneas divergentes de capacidad uterina provienen de la generación 12 de la línea V. La capacidad uterina fue estimada como el número de nacidos totales en hembras unilateralmente ovariectomizadas. Después de diez generaciones de selección por capacidad uterina, la selección fue relajada. Para este experimento, las hembras HUC y LUC provienen de las generaciones 11 y 12. Las hembras de la línea V provienen de los descendientes de dos poblaciones de la generación 13 y 15, reconstituida a partir de embriones vitrificados (Santacreu et al., 2005). Los datos fenotípicos fueron recolectados en la segunda gestación de conejas intactas y contemporáneas. Los caracteres evaluados fueron: número de nacidos totales (NT), vivos (NV) y muertos (NM), la tasa de ovulación (TO), el número de embriones implantados (EI) y las supervivencias embrionaria (SE), fetal (SF) y prenatal (SP). A los doce días de la gestación se estimó TO por recuento de cuerpos lúteos y EI por laparoscopia en ambos cuernos uterinos. Al nacimiento se registró el tamaño de camada como número de nacidos totales (NT) y además se recolectó NV y NM. Además, se calculó SE como el cociente EI/TO, SF como NT/EI y SP como NT/TO. El número total de animales con datos de fenotipo y genotipo fue 183 hembras.

**Datos genómicos:** Los animales fueron genotipados utilizando un chip 200k Affymetrix Axiom OrcunSNP Array (Affymetrix, Inc. Santa Clara, CA, USA). El control de calidad fue realizado utilizando el programa ZANARDI (Marras et al., 2016). Las muestras con frecuencia de genotipos faltantes > 3% y errores en el test de segregación mendeliana fueron excluidas del estudio. El control de calidad de los SNPs consistió en incluir aquellos con una menor frecuencia alélica (MAF)  $\geq 3\%$ , tasa de genotipado  $\geq 95\%$ , test de Hardy-Weinberg con p-valor  $\geq 1,0E^{-7}$  y con posición conocida en el mapa genómico del conejo. Después del control de calidad, un total de 117.806 SNP (59%) fueron utilizadas en el análisis.

**Análisis estadístico:** El análisis de asociación del genoma completo fue realizado utilizando el siguiente modelo estadístico:

$$y = Xb + \sum_{j=1}^k z_j \alpha_j \delta_j + e$$

donde  $y$  es el vector de valores fenotípicos,  $X$  es la matriz de incidencia de efectos sistemáticos,  $b$  es un vector de efectos sistemáticos (año-estación, estado de lactación y

línea),  $z_j$  es un vector que indica el genotipo en el locus  $j$  ( $j = 1, \dots, k$ ),  $\alpha_j$  es el efecto de sustitución aleatorio para el locus  $j$ ,  $\delta_j$  es una variable aleatoria de 0/1 indicando la ausencia (con probabilidad  $\pi$ ) o presencia (con probabilidad  $1 - \pi$ ) del locus en el modelo. La proporción de SNPs con efecto diferente de cero en cada iteración es determinado utilizando un parámetro  $\pi$ . Los efectos  $\alpha_j$  de los SNPs incluidos en el modelo tienen una distribución normal  $N(0, \sigma_{\alpha_j}^2)$ , y  $e$  es un vector de efectos residuales con una distribución normal  $N(0, \sigma_e^2)$ . Esta modelización de los “priors” se denomina Bayes B. Los parámetros del modelo fueron estimados con el software GenSel v.4. El valor de  $\pi$  (0.9995) fue fijado en función del número de datos y de SNPs (Ros-Freixedes et al., 2016). La asociación entre las regiones genómicas y el carácter fue evaluada a través de la distribución marginal posterior del porcentaje de la varianza genómica explicada por cada región de 1 Mb (definida como una ventana) respecto a la varianza genómica total explicada por todos los marcadores. En el análisis se consideraron como ventanas asociadas al carácter aquellas que explicaban  $\geq 1\%$  de la varianza genómica total y las ventanas contiguas que explicaban al menos el 0.5% de la varianza genómica total. La identificación de los genes en estas regiones cromosómicas fue realizado con “UCSC Genome Browser” (Rosenbloom et al., 2015). Posteriormente, se realizó un análisis de las anotaciones funcionales de estos genes con las base de datos “Gen Ontology” (GO) (Ashburner et al., 2000) y DAVID v.6.8 (<http://David.abcc.ncifcrf.gov/>) (Jiao et al., 2012).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las regiones genómicas asociadas a los caracteres reproductivos NT, NV, EI y TO se muestran en la Tabla 1. No se encontraron regiones asociadas para NM, SE, SF y SP. Las anotaciones en cuanto a la información funcional sobre los genes están incompletas en las bases de datos de conejo. Por tanto, para estudiar la función de los genes y su participación en las diferentes rutas metabólicas se utilizaron las anotaciones de los genes ortólogos en humano, rata y ratón. Los criterios para seleccionar términos GO o funciones relevantes fueron un p-valor  $< 0,01$  y estar presente en al menos dos de las especies consultadas. Los resultados de DAVID v.6.8, respecto a las funciones relevantes, fueron la respuesta celular al estímulo de prostaglandinas, la regulación de la calidad biológica, la homeostasis celular en procesos de oxidación-reducción, la regulación de la mineralización de los huesos y procesos reproductivos. Los genes más representativos involucrados en funciones reproductivas fueron *PTGDR*, *BMP4*, *STYX*, *ANKH* y *CDKN3*. El gen *PTGDR* tiene importancia para la señalización de la diferenciación de las células de Sertoli y germinales en el desarrollo embrionario de los testículos y la espermatogénesis en adultos (Blesson and Sahlin, 2014). Los genes de la familia factor-beta de crecimiento y transformación, como el gen *BMP4*, están ampliamente relacionados con el crecimiento y desarrollo folicular en mamíferos (Al-Samerria et al., 2015), el desarrollo del trofoblasto, la fijación e implantación del embrión y la formación de la placenta en humanos (Li y Parast, 2014). El gen *STYX* influyen en la degeneración de espermatogonias en los túbulos seminíferos (Matzuk y Lamb, 2002). Además en ratón, los genes *BMP4*, *ANKH* y *CDKN3* parecen estar involucrados en procesos de desarrollo embrionario (Gurley et al., 2006; Goggolidou et al., 2013).

En nuestro estudio, las ventanas encontradas en el cromosoma 17, donde se encuentran los genes *PTGDR*, *BMP4*, *STYX* y *CDKN3*, explicaron un 16% de la varianza genómica del tamaño de camada. Además, estas regiones se solaparon para NT, NV y EI lo que concuerda con las correlaciones genéticas encontradas entre estos caracteres en conejo (García y Baselga, 2002). Los resultados revelan áreas importantes para el tamaño de camada y un posible efecto pleiotrópico de algunos genes del cromosoma 17 por el solapamiento para tres caracteres. Las regiones genómicas y los genes identificados por este estudio muestran un avance en el conocimiento del tamaño de camada en conejo y ofrecen un nuevo punto de partida para futuras investigaciones sobre genómica relacionada tamaño de camada en poblaciones comerciales de conejo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Samerria, S., I. Al-Ali, J. R. McFarlane, et al. 2015. *Reprod.* 149:403-411.
- Ashburner, M., C. A. Ball, J. A. Blake, et al. 2000. *Nat. Genet.* 25:25-29.
- Blesson, C. S. & Sahlin, L. 2014. *Recept. Clin. Investig.* 2:1-12.
- García, M. L. & Baselga, M. 2002. *Lives. Prod. Sci.*

74:45-53. • Goggolidou, P., S. Soneji, N. Powles-Glover, et al. 2013. *Mamm. Genom.* 24:459-472. • Gurley, K. A., H. Chen, C. Guenther, et al. 2006. *J. Bone and Miner. Res.* 21:1238-47. • Jiao, X., B. T. Sherman, D. W. Huang, et al. 2012. *Bioinf.* 28:1805-1806. • Khalil, M. H. & Al-Saef, A. M. 2008. *Proc. 9th World Rabbit Congr.:*1-22. • Li, Y. & Parast, M. M. 2014. *Int. J. Dev. Biol.* 58:239-246. • Marras, G., A. Rossoni, H. Schwarzenbacher, et al. 2016. *Anim. Genet.* 48:121-121 • Matzuk, M. M., & Lamb, D. J. 2002. *Nat. Cell Biol.* 4:S33-S40. • Ros-Freixedes, R., S. Gol, R. N. Pena, et al. 2016. *PLoS One* 11:e0152496. • Rosenbloom, K. R., J. Armstrong, G. P. Barber, et al. 2015. *Nucleic Acids Res.* 43:D670-D681. • Santacreu, M. A., M. L. Mocé, A. Climent & Blasco, A.. 2005. *J. Anim. Sci.* 83:2303-2307

**Agradecimientos:** El trabajo ha sido financiado por la Secretaría de Estado I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España (AGL2014-55921-C2-1-P) y B. Samuel Sosa-Madrid por la Secretaría Nacional de Ciencia, Innovación y Tecnología (SENACYT) de la República de Panamá.

**Tabla 1.** Regiones genómicas asociadas a número de nacidos totales (NT), número de nacidos vivos (NV), número de embriones implantados (EI) y tasa de ovulación (TO) en conejo.

<sup>1</sup> Cr	Caracteres ( <sup>2</sup> % Var)	Longitud ( <sup>3</sup> Mb)	Inicio/Final de posición en <sup>4</sup> bp
17	NT (14,92), NV (7,02), EI (11,68)	1,28	72.002.622-73.280.319
17	NT (1,40), NV (1,11)	1,98	70.012.491-71.994.214
11	EI (9,99)	4,00	36.000.805-39.997.550
9	TO (1,13)	0,97	47.006.518-47.977.424
9	TO (1,03)	0,96	42.008.720-42.970.607

<sup>1</sup>: cromosoma, <sup>2</sup>: porcentaje de varianza genómica; <sup>3</sup>: megabase; <sup>4</sup>: pares de bases.

## GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH REPRODUCTIVE TRAITS IN RABBITS

**ABSTRACT:** The aim of this study was to identify genomic regions associated with reproduction traits: total number born (NT), number born alive (NV), number born dead (NM), ovulation rate (TO), implanted embryo (EI) and survivals: embryo (SE), fetal (SF) and prenatal (SP). GWAS analysis showed the same genomic regions associated with NT and NV. Genomic regions on chromosome 9 and 11 were found associated regions for TO and EI, respectively. The regions of chromosome 17 explained 16% of the genomic variance of NT, being themselves the most relevant genomic region. Their biological functions of genes on these regions are related to the cellular response to prostaglandin stimulus, biologic and reproductive processes. Main genes were BMP4, PTGDR, STYX, ANKH and CDKN3. Our findings provide a new starting point for further genomic studies, in order to unravel the genetic basis of litter size and its components in rabbits. These could also provide useful information for future research on other selection strategies in rabbit commercial populations.

**Keywords:** GWAS, divergent selection, rabbits, reproductive traits.

## DESARROLLO DE UNA HERRAMIENTA BASADA EN MATLAB PARA EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA ABEJA MELÍFERA

Ángel-Beamonte<sup>1</sup>, E., Martín-Ramos<sup>1</sup>, P., Santolaria<sup>1</sup>, P., Sales<sup>1</sup>, E., Abizanda<sup>1</sup>, J. y Yániz<sup>1</sup>, J.L.

<sup>1</sup>Grupo de investigación TECNOGAM, Instituto IUCA, Escuela Politécnica Superior de Huesca, Universidad de Zaragoza, Ctra. Cuarte S/N 22071 Huesca. jyaniz@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

Cualquier estudio de la diversidad genética debe tener herramientas que permitan una identificación fiable de las posibles variantes genéticas. La genética molecular permite una caracterización precisa de la diversidad genética, aunque su utilización requiere instalaciones altamente especializadas, y consume mucho tiempo y recursos. Se ha determinado recientemente que la morfometría geométrica de las venas alares proporciona una discriminación similar de las subespecies de abejas melíferas al análisis de microsatélites (Oleksa y Tofilski, 2014). Por lo tanto, la morfometría geométrica de la venación del ala es particularmente adecuada para rastrear las relaciones filogenéticas entre las subespecies y variantes genéticas de abejas (Meixner et al., 2013). Su determinación es económica y simple y se puede hacer con poco equipo. La principal limitación de esta técnica es la necesidad de identificar con precisión las intersecciones venosas de las alas para obtener sus coordenadas.

En la morfometría geométrica de la venación de las alas, el tpsDig es uno de los programas más frecuentemente utilizados. Este programa requiere el trazado manual de todas las intersecciones de las venas mediante un clic del ratón. La principal ventaja de este software es su flexibilidad, aunque requiere mucha interacción humana que aumenta los errores y tiene problemas de reproducibilidad. Conociendo estas limitaciones, el objetivo de este estudio fue desarrollar un nuevo software basado en MATLAB para el reconocimiento automático de las intersecciones venosas del ala en *Apis mellifera* y evaluar su precisión y capacidad para discriminar diferentes variedades genéticas de abejas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron al menos ocho abejas por colonia del área de cría. El ala anterior derecha de cada individuo se cortó cerca de su base y se montó cuidadosamente entre un portaobjetos y un cubreobjetos. Las imágenes digitales de las alas se obtuvieron mediante un microscopio (DM4500B, Leica, Wetzlar, Alemania) con un objetivo PLAN APOchromatic 1.25 × y se fotografiaron con una cámara digital Canon EOS 600D (Canon Inc., Tokio, Japón). Para cada imagen, las coordenadas de 19 puntos de referencia ubicados en las intersecciones venosas se determinaron automáticamente con el nuevo software. La posición y numeración de los hitos fue la misma que en Smith et al. (1997).

En el primer experimento se determinó la fiabilidad y el error de medición. Para ello se fotografiaron cien alas y se evaluó la precisión en el reconocimiento de las intersecciones venosas. También se determinó el error de medición (es decir, la variabilidad de la determinación de coordenadas para un ala dada) del nuevo software en comparación con el tpsDig. Para ello se realizó el análisis repetido de la misma imagen de ala (3 alas, 30 repeticiones / ala). La variabilidad de cada coordenada se calculó utilizando coeficientes de variación (CVs). Los CV intra-ala se expresaron como la media de los valores individuales.

En el segundo experimento se estudió la morfometría geométrica de diferentes subespecies de abejas usando el nuevo software. Para ello se muestrearon un total de 90 colonias de 18 apiarios de *A. mellifera*, desglosadas de la siguiente manera: subespecie *A. m. iberiensis* (10), *A. m. ligustica* (2), *A. m. carnica* (2) e híbrido Buckfast (4). En total, se analizaron 720 abejas de 90 colonias. Las coordenadas de referencia obtenidas del nuevo software se procesaron posteriormente en el programa libre MorphoJ (Klingenberg, 2011b). La alineación se realizó usando superposición de Procrustes. Después de calcular el promedio de todas las abejas de cada colonia, se realizó un análisis canónico de varianza (CVA), utilizando subespecie/cepa como variable del grupo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El nuevo software permitió el análisis del 100% de las alas. La precisión de la detección automática de las intersecciones fue del 100% en el 87% de los casos, mientras que la detección falló en un solo punto en el 9% de las muestras, en dos puntos en el 3%, y en más de dos puntos en el 1% de las muestras.

La determinación de las intersecciones usando el nuevo software fue altamente repetible, con coeficientes de variación más bajos que los de tpsDig: los CVs intra-alas variaron de 0,06 a 0,12% para el nuevo software y de 0,23 a 0,28% para el tpsDig.

Según los resultados del CVA, el primer, segundo y tercer ejes explicaron 68,19%, 19,59% y 12,22% de la variación total, respectivamente. El diagrama de dispersión de las colonias demostró una alta discriminación entre subespecies. Las pruebas de validación cruzada basadas en funciones discriminantes clasificaron correctamente el 100% de las colonias.

Algunos autores habían realizado intentos para construir sistemas automáticos de identificación de las intersecciones venosas del ala de abeja basados en análisis de imágenes (Tofilski, 2004; Meixner et al., 2013). Tofilski (2004) desarrolló el software Open DrawWing para determinar automáticamente las coordenadas de dieciocho puntos de referencia del ala. Utilizando el equipamiento descrito en esta comunicación, sin embargo, DrawWing falló más del 90% de las veces. Esta tasa de fracaso se podría atribuir al hecho de que DrawWing requiera un equipamiento de captura de imágenes específico o a la necesidad de disponer de conocimientos técnicos para utilizar correctamente el software. Ambas posibilidades pueden explicar por qué, aunque los creadores han utilizado con precisión DrawWing (Tofilski, 2004; Oleksa y Tofilski, 2015), rara vez ha sido utilizado por otros grupos, que han seguido utilizando el tpsDig para localizar manualmente las intersecciones venosas del ala (Francoy et al., 2008; Francoy et al., 2009; Miguel et al., 2011; Rasic et al., 2015b).

El nuevo software aquí presentado constituye una herramienta versátil, precisa y exacta para el reconocimiento automático de las uniones de las alas de *Apis mellifera*, permitiendo una rápida identificación de la diversidad genética de las abejas utilizando la morfometría geométrica. En términos de tolerancia, permitió la detección automática de todos los puntos de referencia en el 87% de los casos cuando se utilizó un microscopio convencional. Por otra parte, cuando la detección falló, ocurrió generalmente en una sola intersección, y el punto de referencia automático estaba cerca de la intersección real de la vena, así que una pequeña modificación permitió una corrección rápida del mismo. En lo que respecta a la repetibilidad, fue muy alta, con CV dentro del ala entre 0,06 y 0,12%. En relación con la aplicabilidad de las coordenadas extraídas, se obtuvieron altos resultados de discriminación entre subespecies cuando se usaron conjuntamente con MorphoJ.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Francoy, T.M. 2008. *Apidologie* 39, 488-U410.
- Francoy, T.M. 2009. *Genet Mol Res* 8, 709-717.
- Klingenberg, C.P., 2011. *Molecular Ecology Resources* 11, 353-357.
- Meixner, M.D. 2013. *J. Apic. Res.* 52, 1-28.
- Miguel, I. 2011. *Apidologie* 42, 150-161.
- Oleksa, A. *Apidologie* 46, 49-60.
- Rasic, S. 2015. *Archives of Biological Sciences* 67, 929-934.
- Smith, D. 1997. *J. Evol. Biol.* 10, 551-574.
- Tofilski, A., 2004. *Journal of insect science* 4, 17.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a los apicultores participantes en el estudio por su ayuda al proporcionar muestras de abejas y al ADS nº 1 de Huesca por su colaboración. Este trabajo fue financiado por el programa "XXXI Concurso de Ayudas de Investigación 2015" del Instituto de Estudios Altoaragoneses, por el programa "Proyectos de investigación, desarrollo e innovación para jóvenes investigadores, convocatoria 2016" de Ibercaja Obra Social y por la DGA-FSE (proyecto A40).

## DEVELOPMENT OF A MATLAB-BASED TOOL FOR THE STUDY OF GENETIC DIVERSITY OF *APIS MELLÍFERA*

**ABSTRACT:** This study was designed to develop a novel MATLAB-based tool, aimed at facilitating the geometric morphometric analysis of forewing venation through an automatic recognition of wing vein junctions. Firstly, the ability of the new software to analyze wing images obtained by different optical equipment was evaluated. Even when a low-end USB-microscope was used for image collection, it reached 100% precision in the automatic detection of the landmarks for 74% of the samples, and most of failures corresponded to a single point. The measurement error of the new software was studied through repeated analysis of the same wing image, evincing that landmark determination was highly repeatable, even higher than that of widely used tpsDig software. In addition, a field test with 720 specimens from three subspecies (*A. m. iberiensis*, *A. m. ligustica*, and *A. m. carnica*) and from Buckfast hybrid, collected from 90 different colonies, was conducted. In conjunction with MorphoJ, the coordinates of the vein junctions extracted by the program led to an accurate classification of the specimens, confirmed by canonical variate analysis methods. The new software can thus be deemed as a versatile, precise and accurate tool for the automatic recognition of wing vein junctions of *Apis mellifera*, facilitating the identification of bee genetic diversity using geometric morphometry.

**Keywords:** *Apis mellifera*, wing geometric morphometry, landmarks, MATLAB, subspecies discrimination.

## IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS EN REGIONES GENÓMICAS CARACTERIZADAS COMO HUELLAS DE SELECCIÓN EN EL GANADO OVINO

Esteban-Blanco<sup>1</sup>, C., Gutiérrez-Gil, B., Suárez-Vega, A., López-Iglesias, L.J. y Arranz, J.J.

<sup>1</sup>Dpto. de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León.  
cristina.esteban.blanco@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

En el ganado ovino, la selección para los fenotipos como el color de la capa, la conformación, etc., se inició hace aproximadamente 5.000 años. Esta selección dio lugar a cambios más rápidos que los causados por la selección natural y ha dejado huellas detectables en del genoma de las razas ovinas modernas. La selección artificial para un determinado carácter de interés no sólo aumenta la frecuencia de la mutación causal del efecto, sino que además produce una alteración de las frecuencias de los alelos de otros loci neutros para el carácter objeto de selección, pero en desequilibrio de ligamiento con la mutación causal, dando lugar a característicos patrones de las frecuencias alélicas en la región afectada por la selección conocidos como huellas de selección. En los últimos años, se han llevado a cabo numerosos estudios de cribado del genoma basados en el análisis de chips de SNPs con el objetivo de detectar huellas de selección en las distintas especies de animales. El reciente desarrollo de las nuevas tecnologías de secuenciación permite analizar en profundidad las regiones previamente detectadas como huellas de selección con objeto de identificar las posibles variantes de ADN que pudieran ser responsables del fenotipo seleccionado. Un trabajo previo de nuestro grupo ha identificado varias regiones como candidatas a ser huellas de selección en el ganado ovino tras el análisis de los genotipos generados con el Chip ovino de media densidad (Chip-50K) dentro del proyecto *SheepHapMap* para dos grupos de razas de ovejas. El primer grupo incluyó tres razas merinas, altamente especializadas en la producción de lana fina (*Australian Industry Merino*, *Australian Merino* y *Australian Poll Merino*), y el segundo grupo incluyó tres razas de lana basta (*Churra*, *Altamurana* y *Chios*). En base a la disponibilidad de datos de secuenciación del genoma completo de una de las razas incluidas en cada uno de los dos grupos, Churra y Merina, nos hemos planteado como objetivo del presente trabajo el análisis de alta resolución de la variabilidad genética de las huellas de selección detectadas en relación al grupo “Merino” con el fin de identificar las mutaciones que, en dichas regiones, presentan frecuencias alélicas más extremas entre la raza Churra y Merina, y que pudieran ser evaluadas como candidatas a explicar el efecto detectado en esas regiones.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Huellas de selección a estudiar: La detección de las huellas de selección se ha descrito anteriormente (Gutiérrez-Gil et al., 2016) y se basó en el solapamiento de las regiones identificadas como huellas de selección al aplicar a los genotipos agrupados en los dos grupos considerados, “Merino” y “No-Merino”, dos tipos de análisis: (i) un análisis de diferenciación genética basado en el parámetro  $F_{ST}$  definido por Weir y Cockerham (1984) obtenido al contrastar los genotipos de los dos grupos considerados y (ii) un análisis de identificación de regiones de heterocigosidad reducida basada en la estimación de la heterocigosidad observada (ObsHtz) en cada uno de los grupos en estudio. Para los análisis de localización de las regiones se ha utilizado la versión Oar\_v3.1 del genoma ovino como referencia ([http://www.ensembl.org/Ovis\\_aries/Info/Index](http://www.ensembl.org/Ovis_aries/Info/Index)). Considerando los valores más extremos de  $F_{ST}$  resultantes del contraste de los dos grupos y los más extremos de ObsHtz reducida en cada uno de los grupos, en base a los criterios aplicados por Gutiérrez-Gil et al. (2014), se identificaron cinco regiones candidatas asociadas al grupo “Merino” (CR-Merino) y seis regiones candidatas asociadas al grupo “No-Merino” (CR-NoMerino). Dado que una de las regiones era común a los dos grupos, el presente estudio se centró en el estudio de la variabilidad genética de las cuatro regiones exclusivamente asociadas al grupo “Merino” localizadas en los siguientes intervalos genómicos: OAR6: 36,75-37,83 Mb, OAR11: 26,32-29,20 Mb, OAR16: 38,88-40,32 Mb y OAR25: 7,36-7,69 Mb.

Análisis bioinformático: Se utilizaron datos de secuenciación del genoma completo generados por el *International Sheep Genomics Consortium* disponibles en el repositorio *Sequence Read Archive* (SRA) para dos individuos Churra (CHU1\_SRR501848, CHU2\_SRR501909) y tres Merino (MERA1\_SRR501887, MER454\_SRR501852,

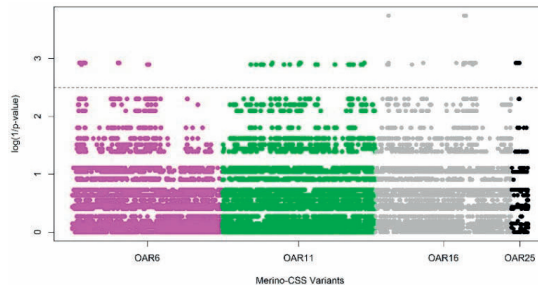
MERC1\_SRR501868), además se analizaron las secuencias del genoma completo de dos ovejas Churras (0890N0001, 0890N0004) secuenciadas por nuestro grupo de investigación. Para las muestras obtenidas del repositorio SRA, se utilizó el software SRA-Toolkit (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra/?view=software>) para convertir los datos al formato FASTQ. Todas las muestras se sometieron a continuación al siguiente protocolo para identificar variantes alélicas: (i) evaluación del control de calidad de las lecturas con FastQC (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>), (ii) alineación de las muestras con el genoma de referencia OAR\_v3.1 con Burrows-Wheeler (BWA) (Li & Durbin, 2009), (iii) manipulación de datos, análisis estadísticos y generación de ficheros indexados con SAMtools (Li et al., 2009) y Picard (<http://broadinstitute.github.io/picard/>) (iv) identificación de variantes siguiendo el flujo de trabajo recomendado por el software GATK (Genome Analysis Toolkit; McKenna et al., 2010) que incluye realineamiento, recalibración y la búsqueda de variantes con la función *HaplotypeCaller*. Filtrado de variantes con snpSIFT (Cingolani et al., 2012) utilizando las siguientes opciones: DP> 10 & QUAL> 30 & MQ> 40 & QD> 5 & FS <60. Identificación y anotación de variantes puntuales (SNPs) con frecuencias alélicas extremas: Se realizó un estudio de la variabilidad divergente en las regiones candidatas seleccionando aquellos SNPs que muestran frecuencias alélicas más extremas entre las muestras de secuenciación genómica de Churra y Merina. Para ello, con el software VCFTTools (Danecek et al., 2011), se seleccionaron las variantes identificadas en las regiones objeto de estudio. Posteriormente con el programa PLINK (Purcell et al., 2007) se realizó un control de calidad (QC) de los genotipos brutos (*--mind 0.1 --geno 0.1*) y se realizó un análisis de asociación Churra *versus* Merino. En base a los resultados de ese análisis se estableció un umbral para identificar las variantes con frecuencias alélicas más extremas entre las de anotación a las dos razas contrastadas. Para todas las variantes identificadas como divergentes se realizó un análisis de anotación utilizando la herramienta *Ensembl Variante Effect Predictor* (VEP) (McLaren et al., 2010). Considerando las variantes intragénicas se obtuvo la lista de genes que albergan los SNPs divergentes entre las dos razas, realizándose posteriormente un análisis de enriquecimiento funcional con la herramienta *WebGestalt* (Wang et al., 2013). Se consideraron estadísticamente significativos los términos con un valor  $P\text{-value}_{adj} < 0,01$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después del primer filtro para seleccionar las variantes dentro de las cuatro regiones candidatas, se identificaron un total de 70.626 variantes (SNPs e indels), de las cuales 62.015 pasaron los parámetros de control de calidad aplicados con snpSIFT. Finalmente se consideraron un total de 53.829 marcadores de SNP bi-alélicos para los análisis posteriores. Tras el QC, y en base a los valores  $P\text{-value}$  nominales obtenidos a partir de la prueba del chi-cuadrado del análisis de asociación realizado, se identificaron un total de 260 SNPs que exhibían las frecuencias de alelos más extremas entre Churra y Merino ( $P\text{-value} < 0,00316$ ) (Figura 1). El análisis de anotación funcional mostró que 167 de los SNPs divergentes se localizaron en regiones intergénicas, mientras que 93 de ellos son intragénicos y están incluidos en la secuencia de 14 genes anotados (*ADAMTS12*, *DHRS7C*, *GSG1L2*, *MYH1*, *MYH10*, *MYH13*, *NDEL1*, *NTN1*, *PPM1K*, *RXFP3*, *STX8*, *TMEM107*, *TTC23L*, *USP43*), un gen no caracterizado (*ENSOARG00000011486*), un pequeño ARN nucleolar (snoRNA) (*SNORD118*) y un lincRNA. El análisis con VEP mostró que los 93 marcadores intragénicos determinaban un total de 105 variantes funcionales, que se clasificaron como una variante sinónima (en el gen *MYH1*), 77 variantes intrónicas, 15 variantes *upstream*, 8 *downstream* y 3 variantes de regiones de splicing y una variante en la región 3'UTR. El análisis de enriquecimiento funcional realizado para la lista de 14 genes con variantes intragénicas identificó ocho términos significativos, principalmente relacionados con la fisiología muscular y del citoesqueleto ("hydrolase activity", "calmodulin binding", "actin binding", "motor activity" y "cytoskeletal protein binding"). En relación a la posible relación de los genes destacados por nuestro análisis con caracteres de interés económico hay que resaltar que en cerdos se ha visto que el gen *USP43*, por su participación en la degradación de las miofibrillas durante la conversión de músculo a carne, podría relacionarse con caracteres de calidad de carne (Huynh, 2013). En vacuno, el gen *PPM1K* se ha asociado con caracteres de crecimiento y caracteres de conformación grasa de la canal (Lu et al., 2007). Según nuestra revisión bibliográfica, ninguno de los genes considerados parece estar relacionado con características del color y/o de la lana. Los resultados de nuestro trabajo muestran que, en



las cuatro regiones de huellas de selección de ganado Merino, los genes que contienen las variantes con frecuencias alélicas más extremas, comparándolas con la raza Churra, están relacionados con el crecimiento y caracteres de calidad de la carne. Esto concuerda con las conocidas diferencias en conformación y características de la carne de estas dos razas contrastadas. Futuros estudios debieran evaluar las posibles asociaciones de estos genes con caracteres de interés económico en ganado ovino.



**Figura 1.** Identificación de variantes divergentes en cuatro regiones definidas previamente como huellas de selección en razas de Merino Australiano mediante el análisis de datos de secuenciación genómica de las razas Merino y Churra.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cingolani, P. et al. 2012. *Front. Genet.* 3:35
- Danecek, P. et al. 2011. *Bioinformatics* 27: 2156-2158.
- Gutierrez-Gil, B. et al. 2016. Proc. of the 67<sup>th</sup> EAAP meeting. Belfast.
- Gutierrez-Gil, B. et al. 2014. *PLoS One*.9:e94623.
- Huynh, T.P.L. 2013. Doctoral Thesis. Universität Bonn.
- Kijas, J. et al. 2012. *PLoS Biol.*10: e1001258.
- Li, H. & Durbin, R. 2009. *Bioinformatics* 25: 1754-1760.
- Li, H. et al. 2009. *Bioinformatics* 25:2078-2079.
- Lu, G. et al. 2007. *Genes Dev.* 21: 784-796.
- Mckenna, A. et al. 2010. *Genome Res.* 20: 1297-1303.
- McLaren, W. et al. 2010. *Bioinformatics* 26: 2069-2070.
- Purcell, S. et al. 2007. *Hum. Genet.* 81: 559-575.
- Wang, J. et al. 2013. *Nucleic Acids Res.* 41 (W1): W77-W83.
- Weir, B.S. & Cockerham, C.C. 1984. *Evolution (N. Y)* 38: 1358-1370.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto AGL2015-66035-R del Ministerio de Economía y Competitividad España (MINECO). B. Gutiérrez-Gil es investigadora contratada del programa “Ramón y Cajal” del MINECO (RYC-2012-10230).

#### VARIANT IDENTIFICATION IN GENOMIC REGIONS BETWEEN TWO GROUPS OF SHEEP DIVERGENTLY SELECTED FOR PRODUCTION TRAITS

**ABSTRACT:** The aim of this study was to use whole genome sequencing (WGS) to characterize the genetic variation of four candidate regions (CR) previously identified as selection signals (SS) associated with Merino breeds based on the comparison of the 50K-Chip genotypes for a group of three Merino sheep breeds highly specialized for fine wool production (Australian Industry Merino, Australian Merino and Australian Poll Merino) and three coarse wool breeds (Churra, Altamurana and Chios). Here, WGS datasets for Merino and Churra samples were analysed to identify SNP variants showing the most extreme allele frequencies between these two breeds in the four selected regions. From the total of variants identified in these four regions (70,626 SNPs e indels) a total of 53,829 SNPs were selected for later analyses. An association analysis was used to detect 260 SNPs showing the most divergent allele frequencies between the two breeds. Most of the genes harbouring the divergently selected intragenic SNPs within the four studied regions were related to muscle physiology. Future studies should assess the putative associations of the promising candidates identified herein with traits of economic interest in sheep.

**Keywords:** massive sequencing, whole genome sequence, sheep, divergent breeds.

## HUELLAS DE SELECCION EN UN EXPERIMENTO DE SELECCION DIVERGENTE PARA CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO.

Sosa-Madrid<sup>1</sup>, B.S., Ibañez-Escriche<sup>2</sup>, N., Santacreu<sup>1</sup>, M.A., Varona<sup>3</sup>, L. y Blasco<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, 46022 Valencia, España.

<sup>2</sup>The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Midlothian EH25 9RG, Reino Unido.

<sup>3</sup>Grupo de Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza, España.  
bosomad@posgrado.upv.es

### INTRODUCCIÓN

La divergencia entre subpoblaciones se puede medir a partir de estadísticos como el índice de diferenciación genética ( $F_{st}$ ). No obstante, el grado de diferenciación no es homogéneo cuando ocurren procesos de selección natural o artificial. En este sentido, la selección artificial genera un grado de diferenciación más elevado en aquellas regiones del genoma que albergan genes relevantes en la variabilidad de los caracteres incluidos en el criterio de selección. Estas regiones se identifican como huellas de selección y pueden ser utilizadas para detectar genes asociados al carácter criterio de selección, y además, confirmar la relevancia de los genes encontrados en estudios de asociación (GWAS) con información fenotípica (Qanbari y Simianer, 2014). La potencia de detección para encontrar estas huellas aumenta con la utilización de poblaciones seleccionadas divergentemente para un carácter (Johansson et al., 2010). El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto de la selección en el genoma de dos líneas seleccionadas divergentemente por capacidad uterina e identificar regiones cromosómicas asociadas a los caracteres capacidad uterina y tamaño de camada.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales:** En este experimento se utilizaron animales de tres líneas de conejo: 88 de alta capacidad uterina (HUC), 68 de baja capacidad uterina (LUC) y 30 de una línea sintética (V) seleccionada por tamaño de camada al destete. La población base de las líneas divergentes de capacidad uterina provienen de la generación 12 de la línea V. La selección divergente se llevó a cabo durante 10 generaciones (ver Blasco et al., 2005). En este estudio, las hembras de HUC y LUC provienen de dos generaciones posteriores a la finalización del proceso de selección. Los animales de la línea V provienen de los descendientes de dos poblaciones de las generaciones 13 y 15 de esta línea (Santacreu et al., 2005).

**Datos genómicos:** Los animales fueron genotipados utilizando 200k Affymetrix Axiom OrcunSNP Array (Affymetrix, Inc. Santa Clara, CA, USA). El control de calidad fue realizado utilizando el programa ZANARDI (Marras et al., 2016). Los SNPs con una menor frecuencia alélica (MAF) superior al 3%, tasa de genotipado mayor de 95% y con una posición conocida en el genoma de referencia del conejo fueron utilizados en el estudio.

**Análisis estadístico:** Las huellas de selección se determinaron computando índices de diferenciación genética entre las líneas analizadas. El cálculo de los  $F_{st}$  se realizó con el procedimiento de Weir y Cockerham (1984), en el cual se calcula para cada SNP:

$$F_{st} = \frac{\sigma_p^2}{\bar{p}(1 - \bar{p})}$$

donde  $\bar{p}$  es el promedio de la frecuencia alélica para las dos líneas evaluadas y  $\sigma_p^2$  es la varianza de la frecuencia alélica entre las dos líneas. El umbral de relevancia de un SNP se calculó como cinco desviaciones estándar desde la media del  $F_{st}$  de todos los SNPs ( $F_{st-umbral} = 0,35$ ). La media de  $F_{st}$  utilizando todos los datos de las tres comparaciones de las líneas fue  $4,95E^{-2}$  y la desviación estándar fue  $6,04E^{-2}$ . Se consideró como una huella de selección putativa a aquella región genómica que contenía por lo menos 4 SNPs relevantes, una longitud mínima de 1 Mb y una distancia máxima de 2 Mb entre cada SNP relevante. Este criterio se escogió teniendo en cuenta las pocas generaciones de selección divergente entre las líneas, la baja heredabilidad del criterio de selección y la elevada densidad de SNPs (117.806) en el análisis. Así pues, se asumió que un grupo de 4 SNPs relevantes aportaría más evidencia de una huella de la selección debido a la baja probabilidad de que la deriva

génica cause elevadas modificaciones en las frecuencias alélicas de grupos consecutivos de SNPs y de grandes longitudes en el genoma (Johansson et al., 2010; Carneiro et al., 2014b; Grams et al., 2015). La búsqueda y descripción funcional de los genes en las regiones genómicas se realizó con “Biomart Software” a través de “Ensembl Genome Browser 87” (Aken et al., 2016).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de huellas de selección putativas y la descripción de estas regiones genómicas se muestran en la Tabla 1. Las regiones encontradas son diferentes para las tres comparaciones, a excepción de una región solapada entre HUC-LUC y LUC-V (1,54 Mb en el cromosoma 9). En cuanto a la comparación de las líneas divergentes, las regiones genómicas asociadas a huellas de selección mostraron los siguientes genes involucrados en procesos reproductivos: *SPA17*, *BMP4*, *PTGDR* y *STYX*. El gen *SPA17* se encuentra en el cromosoma 1 y sintetiza una parte principal del flagelo de los espermatozoides. Los genes *BMP4*, *PTGDR* y *STYX* se encuentran en el cromosoma 17 y coinciden con los resultados de un GWAS con caracteres reproductivos de estas líneas (Sosa-Madrid, 2016). Los genes encontrados en las regiones que mostraron diferencias en  $F_{st}$  para HUC-V parecen no estar relacionados directamente a procesos reproductivos. En cuanto a la comparación de huellas de selección entre LUC-V, las regiones del autosoma 13 y el cromosoma sexual “X” son las únicas que presentan genes involucrados con procesos reproductivos como la espermatogénesis, la fecundación, el desarrollo embrionario y placentario, el desarrollo ovárico y el sistema endocrino de las hembras. Estos genes son: *TDRKH*, *OAZ3*, *TNRC4*, *ARNT* y *DACH2*.

Los resultados encontrados podrían explicarse en base a que el tamaño de camada ha sido un carácter modificado durante muchos años por selección natural, así como por la domesticación del conejo (Carneiro et al., 2014a). Por lo tanto, aquellos alelos de genes de efecto grande relacionados con el tamaño de camada se habrían fijado y actualmente solo estarían segregando genes de efecto muy pequeño. Además, las líneas divergentes de capacidad uterina provienen de una población seleccionada durante 12 generaciones por el tamaño de camada al destete, un carácter altamente correlacionado a la capacidad uterina. Esto pudo causar cambios en el diferencial de selección por las frecuencias genéticas iniciales extremas a favor del carácter capacidad uterina (Falconer y Mackay, 1996). En efecto, la evaluación de la respuesta a la selección divergente por capacidad uterina utilizando una población control, sugiere una mayor respuesta de selección en la línea LUC (Santacreu et al., 2005), lo que puede estar vinculado con las funciones de los genes encontrados para la comparación de LUC-V. No obstante, la inexistencia de grandes regiones cromosómicas solapadas entre las comparaciones de  $F_{st}$  entre las líneas indicaría que la selección estuvo modificando áreas distintas de acuerdo al criterio de selección. Las regiones genómicas encontradas para HUC-LUC serían huellas de selección por capacidad uterina, mientras que algunas de las regiones para HUC-V y LUC-V podrían corresponder a huellas de la selección por tamaño de camada al destete. Los resultados sugieren que la selección divergente no produjo los mismos efectos en el genoma de los animales de las dos líneas seleccionadas por capacidad uterina.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aken, B. L., S. Ayling, D. Barrell, et al. 2016. Database 2016.
- Blasco, A., J. A. Ortega, Climent, A., & M. A. Santacreu. 2005. J. Anim. Sci. 83:2297-2302.
- Carneiro, M., F. W. Albert, S. Afonso, et al. 2014a. PLoS Genet. 10:e1003519
- Carneiro, M., C. Rubin, F. Di Palma, et al. 2014b. Science 345:1074-1079.
- Falconer, D. S. & Mackay, T. F. C. 1996. 4<sup>th</sup> Ed. Longman. Essex. United Kingdom.
- Grams, V., R. Wellmann, S. Preuß, et al. 2015. GSE 47:77.
- Johansson, A. M., M. E. Pettersson, Siegel, P. B. & Carlborg, Ö.. 2010. PLoS Genet. 6:e1001188.
- Marras, G., A. Rossoni, H. Schwarzenbacher, et al. 2016. Anim. Genet. 48:121-121.
- Qanbari, S. & Simianer, H.. 2014. Lives. Sci. 166:133-143.
- Santacreu, M. A., M. L. Mocé, Climent, A., & Blasco, A. 2005. J. Anim. Sci. 83:2303-2307.
- Sosa-Madrid, B. S. 2016. Tesis de Máster. UPV, Valencia.
- Weir, B. S. & Cockerham, C. C. 1984. Evol. 38:1358.

**Agradecimientos:** El trabajo ha sido financiado por la Secretaría de Estado I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España (AGL2014-55921-C2-1-P) y B. Samuel Sosa-Madrid por la Secretaría Nacional de Ciencia, Innovación y Tecnología (SENACYT) de la República de Panamá.

**Tabla 1.** Número y descripción de las regiones genómicas obtenidos a partir de los índices de diferenciación genética ( $F_{st}$ ) entre las poblaciones estudiadas HUC, LUC y V.

Líneas	Cr <sup>1</sup>	Inicio-Final de Posición en bp <sup>2</sup>	Longitud en Mb	Máximo Valor de $F_{st}$	Número de SNPs relevantes
HUC - LUC	1	92.288.434-95.400.313	3,11	0,41	11
	3	80.024-3.587.780	3,51	0,39	12
	9	99.716.065-102.701.415	2,98	0,40	13
	12	54.772.880-56.810.168	2,04	0,40	6
	17	72.129.761-73.134.567	1,00	0,39	15
HUC - V	2	85.866.289-87.527.262	1,66	0,39	11
	9	72.724.962-74.569.999	1,84	0,36	27
	9	102.310.626-103.389.151	1,08	0,40	51
LUC - V	2	141.187.070-145.531.512	4,34	0,39	38
	9	100.656.849-102.198.102	1,54	0,40	9
	11	27.359.163-32.122.555	1,93	0,50	85
	13	12.979.734-14.806.696	1,83	0,37	6
	13	33.527.441-34.971.856	1,44	0,36	4
	13	38.821.395-43.222.202	4,40	0,43	38
	18	10.316.501-11.394.892	1,08	0,43	6
	X	77.441.343-79.396.716	1,96	0,42	6

<sup>1</sup> cromosoma; <sup>2</sup> pares de bases.

### SIGNATURES OF SELECTION IN AN EXPERIMENT OF DIVERGENCE SELECTION FOR UTERINE CAPACITY IN RABBITS

**ABSTRACT:** The purpose of our research was to find out whether the selection generated the same effects on the genome of two divergent lines selected for uterine capacity and to identify chromosomal regions that contain underlying genes for the genetic variation of uterine capacity and litter size. Wright's fixation index ( $F_{st}$ ) were computed to discover the signatures owing to selection. For this, clusters at least with four relevant SNPs with  $F_{st} \geq 0.35$ , one megabase and maximum distance of 2 Mb between every relevant SNP were considered as putative signatures of selection. In the HUC and LUC line were found the genes: SPA17, BMP4, PTGDR y STYX on autosome 1 and 17. For the  $F_{st}$  of LUC-V were found genes on autosome 13 and the sex chromosome "X", directly involved with reproductive processes. These are TDRKH, OAZ3, TNRC4, ARNT and DACH2. Thus, the findings suggest that the effects of selection on the genome of two lines of divergent selection for uterine capacity were different.

**Keywords:** signature of selection, uterine capacity, fixation index, rabbits.

## ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS RÉGIMENES ALIMENTARIOS (*AD LIBITUM* FRENTE RESTRICCIÓN) SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE CONEJOS DE CARNE

Velasco<sup>1</sup>, M., Piles<sup>1</sup>, M., Viñas<sup>1</sup>, M., Rafel<sup>1</sup>, O., González<sup>1</sup>, O., Guvernau<sup>1</sup>, M. y Sánchez<sup>1</sup>, J.P.

<sup>1</sup>Genética y Mejora Animal, IRTA, Torre Marimón, Caldes de Montbui, 08140 Barcelona, España. <sup>2</sup>GIRO, IRTA, Torre Marimón, Caldes de Montbui, 08140 Barcelona, España. maria.velasco@irta.cat

### INTRODUCCIÓN

La restricción de la cantidad de pienso suministrado a los animales durante el período de engorde se está convirtiendo en un método generalizado de manejo en granjas ya que resulta favorable para la salud del animal al reducir el riesgo de desarrollo de enteropatías (Gidenne et al., 2009). A pesar de que la restricción alimentaria penaliza el crecimiento animal, mejora la eficiencia de la alimentación y reduce el impacto ambiental, los costes de alimentación y el uso de antibióticos. Se ha demostrado que la restricción alimentaria modifica el patrón de fermentación bacteriano gastrointestinal (Gidenne y Feugier, 2009). Por lo tanto, cabe pensar que también podría provocar cambios en la composición y en la actividad microbiana. La microbiota intestinal desempeña un papel clave en el metabolismo, la nutrición, la velocidad de crecimiento y el estado del sistema inmune de los animales. A pesar de que la microbiota intestinal de los conejos es muy homogénea entre individuos (Combes et al., 2011) factores como la edad, la dieta o el régimen alimentario pueden provocar cambios en su composición y tener un impacto en la capacidad de absorción de nutrientes del animal o en su salud (Petersson et al., 2011; Drouilhet et al., 2011). El objetivo de este estudio es caracterizar, mediante la utilización de herramientas de secuenciación masiva (MiSeq), la microbiota cecal y fecal de dos grupos de conejos de carne que siguieron diferentes regímenes de alimentación durante el período de engorde, así como analizar la relación entre su microbiota y su crecimiento durante dicho periodo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Diseño experimental.** Los animales utilizados en este trabajo proceden de un experimento desarrollado entre 2012 y 2015 con el objetivo de estimar la interacción entre el genotipo y el régimen alimentario sobre caracteres de crecimiento, eficiencia alimentaria, características de la canal y salud de los animales. Un total de 6.264 animales pertenecientes a la línea Caldes (Gómez et al., 2002) fueron criados bajo las mismas condiciones ambientales y alimentados con la misma dieta estándar de pellet pero con diferentes regímenes de alimentación: el 50% de los animales fueron alimentados *ad libitum* y el resto fueron alimentados bajo restricción (75% de la ingesta de alimento *ad libitum*). Para este trabajo se seleccionaron aleatoriamente 24 animales; 11 de los cuales fueron alimentados *ad libitum* y 13 bajo restricción. Cuando los animales fueron sacrificados (a la edad de 66 días), se recogieron muestras de heces duras y de ciego que fueron almacenadas a -80 °C hasta el momento de la extracción del DNA total.

**Extracción de DNA y secuenciación.** Se extrajo el DNA total de las muestras cecales y fecales utilizando un kit de extracción comercial con estrategia *bead-beating* (ZR Soil Microbe DNA MiniPrep™-Zymo Research). A partir de cada extracto, se amplificó un fragmento de 411 pares de bases correspondiente a las regiones hipervariables V4 y V5 del gen 16S rRNA utilizando el par de cebadores descrito por Parada et al. (2015). Las librerías para cada una de las 48 muestras se generaron mediante el protocolo del kit Nextera® XT y finalmente fueron secuenciadas en paralelo en una plataforma Illumina MiSeq 2x250.

**Bioinformática y análisis estadístico.** Las lecturas crudas generadas se analizaron con el paquete bioinformático QIIME (Caporaso et al., 2010) generando una tabla final que incluye las abundancias normalizadas de 1.823 OTUs, sin *singletons*, resultantes de la clusterización de 2.195.158 *contigs*. Se generaron curvas de rarefacción para los índices de diversidad Chao1, número de OTUs (*Operational Taxonomic Units*) observados y PD *whole tree* para determinar la variabilidad existente entre los cuatro niveles de la combinación régimen alimentario-origen de la muestra. Se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA) a partir de la matriz de distancias filogenéticas ponderada *Unifrac* (Louzopone y Knight, 2005) para proyectar cada muestra, de acuerdo a su composición microbiana, en un punto determinado de un gráfico tridimensional. Por otro lado, se utilizó un modelo lineal

para estudiar el efecto de la composición microbiana sobre la ganancia media diaria de los animales durante el periodo de engorde. Finalmente, se estudió el efecto de la riqueza microbiana sobre la ganancia media diaria con un modelo lineal en el que los factores explicativos fueron el tratamiento alimentario y la regresión sobre el número de OTUs observados a un número fijo de lecturas.

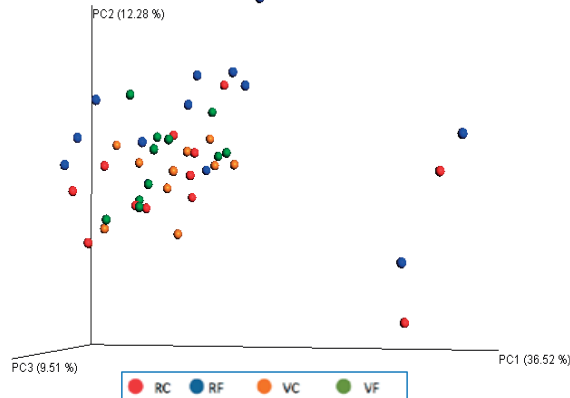
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este estudio ha permitido poner a punto la tecnología de secuenciación MiSeq de Illumina para muestras de contenido cecal y heces de conejo. También se ha desarrollado un protocolo propio de filtrado de calidad y análisis de las muestras con el software QIIME que ha permitido un estudio preliminar del efecto del régimen alimentario y el origen de las muestras sobre la composición microbiana y su influencia sobre el crecimiento de los gazapos. La caracterización taxonómica de las muestras reveló que los filos predominantes fueron *Firmicutes* (76,31%), *Bacteroidetes* (7,61%) y *Tenericutes* (7,52%); este último no había sido descrito previamente en la literatura. Se identificó un único género del reino *Archaea* (*Methanobrevibacter*) con una abundancia relativa inferior al 1%. Para el índice de diversidad alfa, número de OTUs observados, se encontró un promedio de 504,57 OTUs por muestra para los cuatro niveles de la combinación estudiada. Las curvas de rarefacción generadas para los índices de diversidad Chao1, número de OTUs observados y PD *whole tree* no evidenciaron diferencias significativas entre los diferentes niveles de la combinación. El análisis PCoA (Figura 1) no mostró un patrón claro de separación entre las muestras en función del origen, ni del régimen alimentario, ni de la combinación de ambos. Sin embargo, este análisis evidenció cuatro muestras (correspondientes a las muestras cecales y fecales de dos animales) con una composición microbiana claramente diferente del resto. Estas muestras atípicas mostraron diferencias significativas respecto al resto de muestras para 6 filos y 27 familias. Además, 9 OTUs –clasificados dentro de las familias *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae* del filo *Firmicutes*– resultaron exclusivos de estas muestras. Aunque la composición microbiana de dichas muestras no parece propia de animales afectados por enteropatía, uno de ellos fue diagnosticado con problemas entéricos durante el engorde. Dado que en el otro animal no se observaron signos de enfermedad no puede afirmarse que la separación de las cuatro muestras en el PCoA se pueda atribuir a problemas entéricos pero tampoco puede descartarse. Además, en estudios previos (Bäuerl et al., 2014) se ha demostrado que la microbiota de conejos afectados por enteropatía es menos diversa que la de animales sanos. El estudio de asociación entre la composición microbiana y la ganancia media diaria mostró una asociación negativa ( $p_{FDR}=0.015$ ) con el crecimiento para la familia *Mogibacteriaceae* (orden *Clostridiales*) y una asociación positiva ( $p_{FDR}=0.012$ ) para un OTU de familia desconocida del orden *Clostridiales*. El estudio de asociación entre la ganancia media diaria y el número de OTUs observados (Figura 2) mostró una asociación positiva entre la riqueza y el crecimiento para el grupo de animales alimentado bajo restricción ( $p_{FDR}=0.012$ ) en concordancia con los resultados obtenidos en un estudio con muestras de buche e íleon de pollos (Han et al., 2016) en el que determinaron que el número de OTUs observados estaba positivamente correlacionado con el peso corporal.

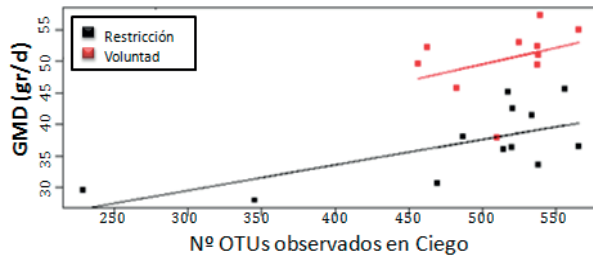
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bäuerl, C. 2014. PloS One 9: e105707.
- Combes, S. 2011. FEMS Microbiol. Ecol. 77: 680-689.
- Drouilhet, L. 2016. J. Anim. Sci. 94: 38-48.
- Gidenne, T. 2009. Animal 3: 509-515.
- Gidenne, T. 2009. Animal 3: 501-508.
- Gómez, E.A. 2002. Rabbit Res. Med. Count. 38: 189-198.
- Han, G.G. 2016. SpringerPlus 5: 911-920.
- Parada, A.E. 2015. Environ. Microbiol. 18: 1403-1414.
- Pettersson, J. 2011. Am. J. Phys. Gast. Liv. Phys. 300: 327-333.

**Agradecimientos:** Financiado por el proyecto Feed-a-gene (H2020), se han usado datos generados en el proyecto RTA2011-00064-00-00. Se agradece la colaboración de Nicolas Boulanger y Armand Sánchez del CRAG y del personal de granja de cunicultura del IRTA-Torre Marimón.



**Figura 1.** PCoA construido a partir de la matriz de distancias UniFrac ponderada. [Restricción-Ciego (RC), Restricción-Heces (RH), Ad libitum-Ciego (VC) y Ad libitum-Heces (VH)].



**Figura 2.** Asociación entre el número de OTUs observados en muestras cecales y la ganancia media diaria (GMD).

### STUDY OF THE EFFECT OF TWO DIFFERENT FEEDING REGIMES (*AD LIBITUM* vs. RESTRICTION) ON MEAT RABBITS' GUT MICROBIOME

**ABSTRACT:** Aiming to study the effect of restricted and *ad libitum* feeding regimes on intestinal microbiome composition in rabbits, a 16S rDNA-based assessment through MiSeq platform was performed. Caecum and faeces samples from eleven 66-days-old animals fed *ad libitum* and thirteen fed under restricted (75%) standard diet were assessed. With a QIIME pipeline, a total of 1,823 OTUs non-singletons were clustered from 2,195,158 final contigs. Taxonomic assignment revealed that intestinal microbiota was dominated by *Firmicutes* (76.3%), followed by *Bacteroidetes* (7.5%) and *Tenericutes* (7.5%). No overall differences between feeding regimes and origin of the samples (faeces or caecum) were detected by a PCoA analysis based on weighted UniFrac distances. This analysis detected four samples clearly separated from the rest which had a different microbial composition and evidenced significant differences for 6 phyla and 27 families. In addition, 9 OTUs –classified within families *Ruminococcaceae* and *Lachnospiraceae* from phylum *Firmicutes*– were exclusive of these atypical samples. A negative association ( $p_{FDR}=0.015$ ) for the family *Mogibacteriaceae* (order *Clostridiales*) and a positive association ( $p_{FDR}=0.012$ ) for one OTU of unknown family belonging to the order *Clostridiales* with average daily gain have been found. Moreover, OTU richness resulted positively ( $p_{FDR}=0.012$ ) associated to average daily gain too.

**Keywords:** Microbiome, feed restriction, rabbit, enteropathy.

## MICROBIOTA GASTROINTESTINAL EN EL PAVO (*MELEAGRIS GALLOPAVO*) AFECTADO POR EL VIRUS DE LA ENTERITIS HEMORRÁGICA

D'Andreano<sup>1,2</sup>, S., Sánchez Bonastre<sup>2</sup>, A., Francino<sup>2</sup>, O., Cuscó Martí<sup>1,2</sup>, A., Lecchi<sup>3</sup>, C., Grilli<sup>3</sup>, G., Giovanardi<sup>4</sup>, D. y Ceciliani<sup>3</sup>, F.

<sup>1</sup>Vetgenomics. Ed Eureka. Parc de Recerca UAB. 08193 Bellaterra, España.

<sup>2</sup>Molecular Genetics Veterinary Service. Veterinary School. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, España.

<sup>3</sup>Department of Veterinary Science. Università di Milano. 20133 Milano, Italia.

<sup>4</sup>Laboratorio Tre Valli. 37132 San Michele Extra, Verona, Italia.

sara.dandreano@vetgenomics.com

### INTRODUCCIÓN

El tracto gastrointestinal está colonizado por población comensal bacteriana, que es esencial para el desarrollo del intestino, la fisiología y la digestión. Además permite interacciones únicas con el sistema inmunitario, influyendo sobre la homeostasis en las células (Oakley et al., 2014). En las especies avícolas, la microbiota gastrointestinal está formada por bacterias, levaduras, hongos, protozoos y virus. Las primeras son las predominantes, y su composición fluctúa durante el crecimiento, dependiendo también de la dieta, la edad y la localización geográfica de los animales.

Los phyla bacterianos más abundantes en las especies aviarias son *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Proteobacteria*, mientras que a nivel de familia, la más abundante es *Lactobacillaceae*. La aplicación de la técnica de secuenciación masiva permite definir mejor la composición microbiana y determinar si hay relación con algunas enfermedades.

La enteritis hemorrágica es una enfermedad viral aguda que afecta a los pavos a partir de 4 semanas de vida. El virus es el adenovirus 3 (TAdV-3) y se transmite vía fecal, oral y cloacal; es la causa de graves pérdidas de producción de carne de pavo en las empresas. Suponiendo que el virus puede influir sobre la población bacteriana del intestino, los objetivos de este estudio son: (1) definir la microbiota sana en los 4 tractos intestinales del pavo, y (2) valorar en yeyuno si la microbiota se ve afectada por el virus de la enteritis hemorrágica.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio ha sido realizado en 12 pavos de 80 días, en el 2015. Los animales provienen de una granja de producción de carne de pavo en Italia (región de Véneto). Los pavos se han dividido en tres grupos según el estado de salud: animales sanos (grupo A), animales enfermos (grupo B), y animales positivos al virus pero que todavía no presentaban síntomas (grupo C). Las muestras se han cogido, después de la eutanasia, pasando un *scrap* (Cell Scrapers, Sterile, Greiner Bio-One) en 2 cm de cada tracto intestinal (duodeno, yeyuno, íleon y ciego). Del grupo B y C, solo se ha cogido la parte del yeyuno, porque es donde más se desarrolla la enfermedad. El ADN bacteriano se extrae con el kit de extracción Powersoil® DNA (MoBio): en total tenemos 4 muestras de duodeno, 4 de íleon, 4 de ciego y 12 muestras de yeyuno (4 por cada grupo). Mediante PCR se amplifican las regiones hipervariables V1-V2 del gen 16S rRNA, y al final se secuencia con *Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM)* utilizando la plataforma *Ion 318 Chip Kit v2 (Life Technologies)*. Las secuencias se analizaron mediante QIIME 1.9.1 (Caporaso et al., 2011), y se posteriormente se llevaron a cabo los análisis estadísticos, ADONIS y ANOSIM, de los resultados.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio se divide en dos partes: en la primera se investiga la microbiota del pavo sano (B.U.T. BIG6), y en la segunda se investiga la enteritis hemorrágica y su relación con la microbiota intestinal.

En el duodeno, yeyuno e íleon, la microbiota está distribuida de manera homogénea (Figura 1): *Firmicutes* es el phylum más abundante. A nivel de familia, las más abundantes son *Lactobacillaceae* y *Clostridiaceae*. En el tracto del ciego los phyla cambian: *Firmicutes* reduce su porcentaje, pero crecen los de *Proteobacteria* y

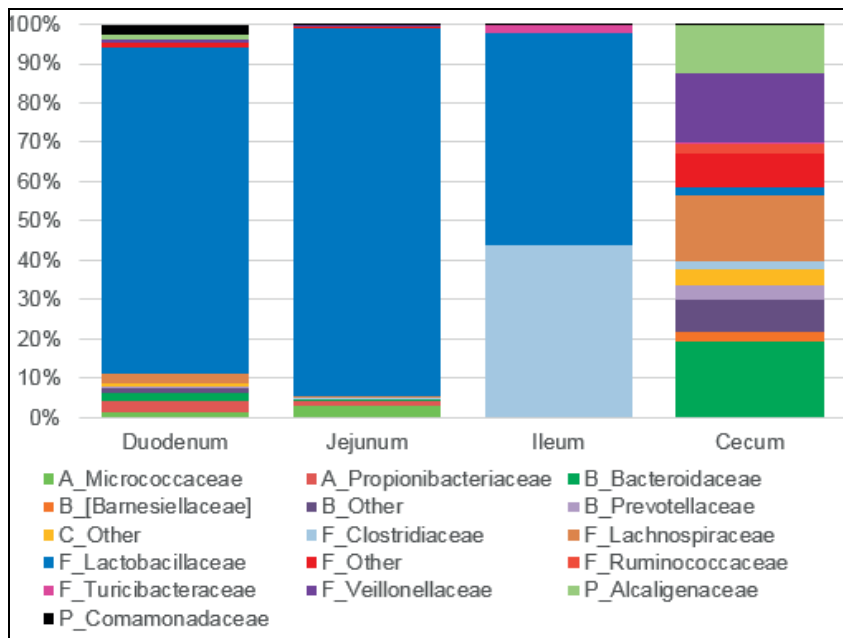


*Bacteroidetes*. No hay diferencias significativas entre animales ni entre duodeno, yeyuno e íleon, lo que puede ser debido a que hayan crecido en la misma bandada, a que la dieta sea la misma y a que tengan la misma edad. Se evidencian diferencias estadísticas significativas comparando el ciego con los otros tractos. Aplicando el test estadístico de ADONIS se obtiene un  $p$ -valor de 0,001. El valor  $R^2$  es de 0,43, indicando que aproximadamente el 43% de la variación está explicada por la división de las muestras por tractos intestinales.

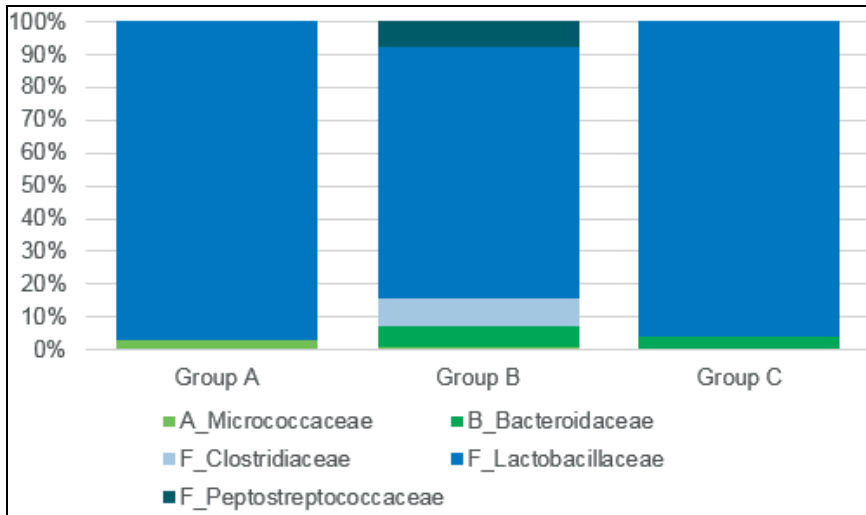
Después de los análisis entre los diferentes tractos intestinales, se comparan las poblaciones bacterianas de los tres grupos de muestras de yeyuno (“A” sanos, “B” enfermos, “C” positivos para el virus pero sin síntomas) (Figura 2). En el grupo B, el porcentaje de *Lactobacillaceae* baja y el de *Clostridiaceae* aumenta. También hay otras familias bacterianas, *Bacteroidaceae* y *Peptostreptococcaceae*, que están relacionadas con las enfermedades en el pavo y se encuentran en porcentaje más alto en los grupos B y C. Una hipótesis sobre la inmunopatogénesis de la enteritis hemorrágica es que después de la exposición oral, el virus empiece a replicarse en los linfocitos B (en la bolsa de Fabricius), o que puedan ir directamente al bazo por sangre periférica, donde puede afectar más a los linfocitos B. Los análisis estadísticos no evidencian diferencias significativas entre los grupos, debido a que puede ser que haya pocas muestras por grupo. Sería interesante hacer nuevos análisis con más muestras para poder investigar mejor esta enfermedad y su relación con la microbiota.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Peña, A.G., Goodrich, K., Gordon, J.I., Huttley, G., Kelley, S.T., Knights, D., Jeremy, E., Ley, R.E., Lozupone, C., Mcdonald, D., Muegge, B.D., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J. & Walters, W. 2011a. NIH Public Access. 7: 335–336.
- Oakley, B.B., Lillehoj, H.S., Kogut, M.H., Kim, W.K., Maurer, J.J., Pedroso, A., Lee, M.D., Collett, S.R., Johnson, T.J. & Cox, N.A. 2014. The chicken gastrointestinal microbiome. *FEMS Microbiol. Lett.* 360: 100–112.



**Figura 1.** La población bacteriana en los cuatro tractos intestinales sanos.



**Figura 2.** La población bacteriana en los tres grupos de muestras de yeyuno (“A” sanos, “B” enfermos, “C” positivos por el virus pero sin síntomas).

#### **GASTROINTESTINAL MICROBIAL POPULATION OF TURKEY (MELEAGRIS GALLOPAVO) AFFECTED BY HAEMORRHAGIC ENTERITIS VIRUS**

**ABSTRACT:** Haemorrhagic enteritis (HE) is an acute viral disease that affects avian species, particularly turkeys, compromising their commercial production and having a negative effect on animal welfare. Turkey adenovirus 3 (TAdV-3), is the main causal agent of the disease; the purpose of this study was (1) to investigate the microbiota of the intestine in healthy turkeys, and also (2) the relationship between natural infections with this virus and the microbiota of the jejunum, where HE mostly develops. (1) The microbial contents of the four tracts of the intestine (duodenum, jejunum, ileum and cecum) were analysed. Then (2) the microbiota of jejunum tract in three groups of turkeys was compared: (group A) healthy animals; (group B) animals with clinical signs of HE; (group C) animals with molecular positivity for the virus but without clinical signs. Massive sequencing of the hypervariable V1-V2 regions of 16 rRNA gene and QIIME 1.9.1 software analysis were performed; operation taxonomic units (OTUs) were classified into four abundant phyla: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Proteobacteria*. As compared with small intestine, cecum microbial community was much more heterogeneous: *Firmicutes*, *Bacteroidetes* and *Proteobacteria*. In the natural infections of HEV, the main bacterial families were *Bacteroidaceae* (*Bacteroidetes*) and *Peptostreptococcaceae* (*Firmicutes*), uniquely detected in group B and C. Also *Clostridiaceae* (*Firmicutes*) was detected, uniquely in group B.

**Keywords:** Gut microbiota, hemorrhagic enteritis, turkey, 16S

## CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA INTESTINAL A LO LARGO DEL TRACTO DIGESTIVO EN CERDOS IBÉRICOS

Crespo-Piazuelo<sup>1,2</sup>, D., Estellé<sup>3</sup>, J., Revilla<sup>1,2</sup>, M., Criado-Mesas<sup>1</sup>, L., Ramayo-Caldas<sup>3</sup>, Y., Óvilo<sup>4</sup>, C., Fernández<sup>4</sup>, A.I., Ballester<sup>5</sup>, M. y Folch<sup>1,2</sup>, J.M.

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Agrigenómica (CRAG), Consorcio CSIC-IRTA-UAB-UB, Bellaterra, España. <sup>2</sup>Dpto. de Ciencia Animal y de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, UAB, Bellaterra, España. <sup>3</sup>Génétique Animale et Biologie Intégrative (GABI), INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, Francia. <sup>4</sup>Dpto. de Mejora Genética Animal, INIA, Madrid, España. <sup>5</sup>Genética i Millora Animal, IRTA, Caldes de Montbui, España. daniel.crespo@cragenomica.es

### INTRODUCCIÓN

El cerdo ibérico es un animal rústico con una conformación productiva menor que la de las razas de producción intensiva, y su mayor contenido de grasa intramuscular y espesor de la grasa dorsal lo hacen ideal para la producción de jamón (Serra et al., 1998).

Recientemente, la composición de la microbiota porcina y su estructuración en enterotipos se ha relacionado con la ganancia media diaria y el peso vivo en animales de 60 días de edad (Ramayo-Caldas et al., 2016). Además, Bäckhed et al. (2004) determinó que el metabolismo lipídico del cerdo se podría modificar mediante la regulación de la expresión génica por parte de la microbiota intestinal.

Para analizar la composición microbiana porcina se han seguido dos metodologías: amplificar y secuenciar las zonas variables del gen del ARN ribosomal 16S (Dowd et al., 2008) o mediante la secuenciación *shotgun* de las comunidades enteras (Xiao et al., 2016).

El objetivo del presente trabajo es describir las diferencias en la composición del microbioma a lo largo del tracto intestinal porcino en animales de raza ibérica, y evaluar su relación potencial con el metabolismo energético.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Material animal:** Trece machos castrados ibéricos de la línea Torbiscal, alimentados *ad libitum* con un pienso comercial de 3.320 kcal de Energía Metabolizable y 15,6% de Proteína Bruta, fueron sacrificados a la edad de 4 meses con 48,7 kg de peso medio. A continuación, se diseccionaron para extraer el contenido intestinal de 5 tramos digestivos: duodeno, yeyuno, íleon, colon proximal y colon distal. Inmediatamente después de su obtención, las muestras fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80 °C.

**Extracción de ADN y secuenciación del amplicón:** Se pesaron ~0,2 g de cada una de las 65 muestras (13 animales x 5 tramos) y se utilizó el kit *PowerFecal*<sup>®</sup> (*MoBio*<sup>®</sup>) siguiendo sus indicaciones. A partir de este ADN, se secuenció la región V3-V4 del gen del ARN ribosomal 16S en un instrumento *MiSeq*<sup>®</sup> (*Illumina*<sup>®</sup>) con el *MiSeq*<sup>®</sup> *Reagent Kit v2* y de acuerdo al protocolo *16S Metagenomic Sequencing Library Preparation* de *Illumina*<sup>®</sup>. Se obtuvieron una media de más de 120.000 secuencias para cada una de las 65 muestras.

**Composición de la microbiota intestinal:** Mediante la plataforma libre *QIIME* (Caporaso et al., 2010) se procesaron las secuencias obtenidas uniendo los fragmentos homólogos en *forward* y *reverse*. Después, siguiendo las recomendaciones de Bokulich et al. (2013) y Rideout et al. (2014), se prepararon las librerías y se agruparon los OTUs (*Operational Taxonomic Units*). Para identificar y eliminar las quimeras, se utilizó *QIIME* con el método *BLAST* (Altschul et al., 1990).

**Diversidad y diferencias en la abundancia de la microbiota intestinal:** El cálculo de la diversidad alfa y beta, así como el gráfico NMDS (*non-metric multidimensional scaling*) fue realizado en R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)) por medio del paquete *vegan* (Oskanen et al., 2016). Los análisis de abundancia diferencial y de presencia-ausencia se realizaron con el paquete *metagenomeSeq* (Paulson et al., 2013) mediante un modelo que incluía al animal como co-factor y usando como corte un  $FDR \leq 0,01$ .

**Predicción de los metagenomas y diferencias funcionales entre tramos:** La predicción de los metagenomas de las 65 muestras y su agrupación en KOs (*KEGG Orthologies*) a partir de la abundancia de sus OTUs se llevó a cabo con *PICRUSt* (Langille et al., 2013). El paquete *DESeq2* (Love et al., 2014) de R estimó la diferencia de abundancias entre los KOs siguiendo el mismo modelo aplicado con *metagenomeSeq*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se hallaron en total 1.669 OTUs en el contenido intestinal de los 5 tramos, de los cuales 643 fueron nuevos respecto a la base de datos de *GreenGenes* 13.8 (DeSantis et al., 2006). Todos los OTUs se agruparon en 179 géneros, siendo los más abundantes *Prevotella* (20,77%) y *Lactobacillus* (15,44%). Mirando su distribución por tramos (Figura 1), en duodeno y yeyuno, los géneros más dominantes fueron *Lactobacillus* y *Clostridium*, y en íleon, *Streptococcus*, seguido por varios géneros de la familia Clostridiaceae. Sin embargo, en el intestino grueso (colon proximal y distal), *Prevotella* era el género mayoritario. Además, el NMDS agrupaba perfectamente todas las muestras dependiendo del origen del contenido intestinal, reforzando la idea de que las composiciones son específicas de cada tramo y evidenciando una clara separación entre el intestino delgado y el grueso (Figura 2a).

Para estimar la riqueza y uniformidad de los OTUs presentes, calculamos la diversidad alfa (dentro de la muestra) y beta (entre las muestras) (Figura 2b y 2c). De acuerdo con lo descrito por Yang et al. (2016), se observa que al ir descendiendo por el tracto intestinal, la diversidad alfa aumenta mientras que la beta disminuye, lo que indicaría una menor riqueza de especies en el intestino delgado que en el intestino grueso, posiblemente debido a una menor cantidad de bacterias en el intestino delgado. En el colon hay mucha más diversidad de especies, pero también se da una mayor uniformidad entre las muestras. Esta uniformidad también se ve reflejada en el NMDS (Figura 2a), por la menor dispersión de los puntos correspondientes al intestino grueso.

La presencia-ausencia y la abundancia diferencial de OTUs confirmaron las marcadas diferencias entre los tramos digestivos. De los 1.669 OTUs encontrados, 325 no estaban presentes en el intestino grueso, mientras que 946 estaban ausentes del intestino delgado. De los restantes 398 OTUs, 86 fueron diferencialmente abundantes ( $p$ -ajustado  $\leq 0,01$ ), siendo 77 más abundantes en intestino delgado (entre otros varios *Lactobacillus* spp. y *Clostridium* spp.), y 9 OTUs más abundantes en colon, 3 de ellos pertenecientes al género *Prevotella*, lo que concuerda con la gráfica por géneros de la Figura 1.

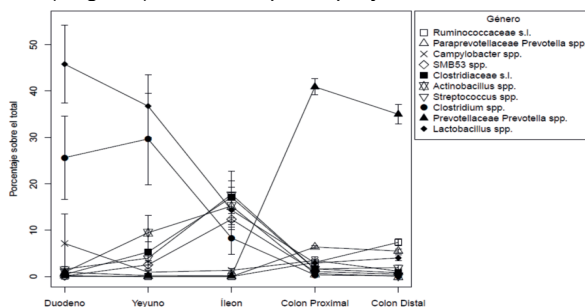
Las predicciones funcionales de los KOs elaboradas por *PICRUSt* se ajustaron a los OTUs de los tramos intestinales que se han descrito en los párrafos anteriores, observándose que en el intestino delgado hay una mayor abundancia de genes que codifican para enzimas microbianas relacionadas con el metabolismo del almidón, la síntesis de carotenos y aminoácidos, y fijación del carbono por medio del sistema fosfotransferasa. Estos resultados son coherentes con la rápida internalización de los carbohidratos simples para favorecer la proliferación y mantenimiento microbiano en este tramo (Zoetendal et al., 2012). En el colon, con menos oxígeno disponible, hay una predominancia de genes ligados al metabolismo energético mediante el ciclo del citrato y una fijación del carbono por el ciclo del dicarboxilato/4-hidroxiacetato característico de las bacterias anaerobias como *Prevotella* spp., la cual puede degradar mejor la fibra vegetal de los cereales presentes en la dieta (Liu et al., 2012), produciendo ácidos grasos de cadena corta para que sean aprovechados por el hospedador (Mach et al., 2015).

En conclusión, los hallazgos de este estudio confirman que las rutas energéticas del microbioma intestinal son distintas a lo largo de su recorrido. Para poder tratar de esclarecer la relación entre la predominancia de *Prevotella* spp., la dieta, los ácidos grasos de cadena corta, y la proporción Bacteroidetes/Firmicutes que provocan obesidad en los humanos (Ley et al., 2006) será interesante ampliar el número de muestras, y asociar la composición microbiana y los enterotipos con datos de metabolismo lipídico.

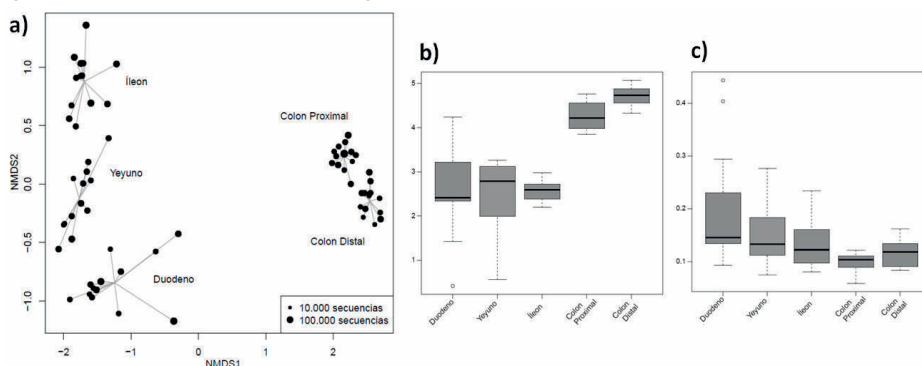
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altschul, S.F. 1990. *J. Mol. Biol.* 215: 403-10.
- Bäckhed, F. 2004. *PNAS.* 101: 15718-23.
- Bokulich, N.A. 2013. *Nat. Methods.* 10: 57-9.
- Caporaso, J.G. 2010. *Nat. Methods.* 7: 335-6.
- DeSantis, T.Z. 2006. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 5069-5072.
- Dowd, S.E. 2008. *Foodborne Pathog. Dis.* 5: 459-472.
- Langille, M. 2013. *Nat. Biotechnol.* 31: 814-21.
- Ley, R. 2006. *Nature.* 444: 1022-3.
- Liu, H. 2012. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 4102-4109.
- Love, M.I. 2014. *Genome Biol.* 15: 550.
- Mach, N. 2015. *Environ. Microbiol. Rep.* 7: 554-569.
- Oksanen, J. 2016. *Vegan.*
- Paulson, J.N. 2013. *Nat. Methods.* 10: 1200-2.
- Ramayo-Caldas, Y. 2016. *ISME J.* 10: 2973-2977.
- Rideout, J. R. 2014. *Peer J.* 2: e545.
- Serra, X. 1998. *Livest. Prod. Sci.* 56: 215-223.
- Xiao, L. 2016. *Nat. Microbiol.* 1: 16161.
- Yang, H. 2016. *Sci. Rep.* 6: 27427.
- Zoetendal, E. G. 2012. *ISME J.* 6: 1415-26.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2014-56369-C2 (Ministerio de Economía y Competitividad). D. Crespo-Piazuelo ha sido financiado con una beca de Formació i Contractació de Personal Investigador Novell (FI-DGR) de la Generalitat de Catalunya (ECO/1788/2014) y por una COST action de la *PiGutNet* ([www.pigutnet.eu](http://www.pigutnet.eu)) para una estancia *Short Train Scientific Mission* en el grupo GABI (INRA, Francia) bajo la tutela de Jordi Estellé. M. Revilla ha sido financiado también con una beca FI-DGR (ECO/1639/2013). L. Criado ha sido financiada con una beca FPI asociada al proyecto AGL2014-56369-C2. Las muestras se obtuvieron en el Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL en Hontalbilla (Segovia) facilitadas por el proyecto MEDGAN-CM S2013/ABI-2913.



**Figura 1.** Evolución del porcentaje sobre el total de cada tramo a lo largo del intestino de los 10 géneros más abundantes. Los segmentos verticales indican el error estándar.



**Figura 2.** a) NMDS sobre las distancias de Bray-Curtis para las muestras de los 5 tramos. Los puntos indican la cantidad de secuencias. b) y c) Diagramas de cajas sobre el cálculo de las diversidades en los 5 tramos intestinales para los 13 animales: b) Diversidad alfa de Shannon. c) Diversidad beta de Whittaker mediante distancias de Bray-Curtis.

## CHARACTERIZATION OF THE GUT MICROBIOME ALONG THE DIGESTIVE TRACT OF IBERIAN PIGS

**ABSTRACT:** The aim of this study was to describe the differences in the microbiome found along the Iberian pig gut. The DNA of five gut sections (duodenum, jejunum, ileum and proximal and distal colon) was extracted and the region V3-V4 of the 16S rRNA gene was sequenced. With *QIIME*, 1669 operational taxonomic units (OTUs) were found in total, distributed in 179 genera. *Lactobacillus* and *Clostridium* spp. were the two most abundant in the small intestine; however *Prevotella* spp. had the predominance in colon. The alpha diversity increases while the beta decreases whilst going down through the gut. The *PICRUSt* metagenome prediction showed that the phosphotransferase system is one of the most relevant pathways in the small intestine and the dicarboxylate/4-hydroxybutyrate in the large intestine due to the abundance of the previous genera.

**Keywords:** iberian pig, gut microbiome, 16S, metagenome prediction



# **Calidad de los productos**





## EFFECTO DEL ETIQUETADO EN LA VALORACIÓN ORGANOLÉPTICA DE CARNE DE LA RAZA DE LIDIA EN ESPAÑA

Andrés-Vázquez M.A., Guerrero, A.\*, Çakmakçi, C., Campo, M.M. y Sañudo, C.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.

\*aguerre@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

La carne procedente de la raza de Lidia, derivada de los diferentes espectáculos taurinos, presenta peculiaridades respecto a la carne de vacuno de producción convencional. Diferencias reflejadas en el proceso de transformación del músculo en carne, debido a la influencia del estrés y la actividad física, siendo carnes DFD. Igualmente, influyen los distintos sistemas de alimentación y cría, y la edad al sacrificio (4-5 años) respecto de otras carnes (como la ternera y/o añojo). Anualmente se sacrifican alrededor de 30.000 animales en los diferentes espectáculos taurinos, produciendo un total de aproximadamente 6 millones de toneladas de carne/año, representando el 1,5% de la carne bovina española. Aunque el principal objetivo de la ganadería brava sea la producción de animales para la lidia, su carne representa un subproducto de relativa importancia ya que es aceptada y consumida por la sociedad española, existiendo un mercado real para este tipo de carnes. Sin embargo, no está clara ni suficientemente estudiada la percepción del consumidor ante el producto, producto que por otra parte puede generar un rechazo en determinados segmentos de la población.

Por todo esto, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar la influencia del etiquetado a la hora de valorar las características organolépticas de la carne de añojo comercial y de animales de la raza de Lidia, mediante análisis de consumidores.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de carne evaluadas procedían del músculo *Longissimus lumborum* de 8 toros raza de Lidia lidiados en Zaragoza con motivo de las Fiestas del Pilar, así como de 10 añojos comerciales de raza Limusina procedentes del matadero de Cheste (Valencia). Todos los filetes fueron envasados al vacío y madurados en refrigeración 10 días, momento en el que fueron congelados hasta la realización del test de consumidores. Se realizó una encuesta y un test de aceptabilidad bajo condiciones controladas a una muestra de 80 consumidores, seleccionados por sexo y edad de acuerdo a las características demográficas de la población española, siendo el 50% de los participantes de cada sexo y formando representando los siguientes intervalos de edad (18-29 años: 21,3%; 30-45 años: 22,5%; 46-59 años: 42,5% y mayores de 60 años: 13,8%).

El estudio se realizó durante 8 sesiones en las que cada consumidor valoró la aceptabilidad general, del sabor y de la ternura de tres muestras de carne cocinadas al grill hasta alcanzar una temperatura interna de 70°C, mediante una escala hedónica estructurada modificada de 9 puntos, que variaba desde 1 (me desagradaba extremadamente) a 9 (me gusta extremadamente), en la que se eliminó el punto medio (Font-i-Furnols *et al.*, 2008).

Como el objetivo era observar cómo influye la etiqueta en la valoración de las características organolépticas de la carne de añojo y lidia, las tres muestras presentes en cada plato procedían del mismo animal y del mismo filete, pero estaban envueltas en tres tipos de etiquetas diferentes (lidia, añojo y en blanco), dispuestas en orden aleatorio (Macfie *et al.*, 1989), por lo que la mitad de los consumidores probaron carne de añojo y la otra mitad carne de Lidia.

Acompañando a la evaluación de las muestras los consumidores rellenaron una encuesta, con preguntas relacionada sobre su conocimiento previo en diversos aspectos relacionados con la carne del toro de Lidia. Las variables sensoriales se analizaron mediante el programa estadístico SPSS 22.0 utilizando un Modelo Lineal General, considerado la etiqueta y el tipo de animal como factores fijos y el consumidor como efecto aleatorio. Asimismo, se analizó la significación de los diversos factores tras diversas segmentaciones de los consumidores en base a las respuestas de la encuesta relacionadas con el consumo de Lidia o el tipo de animal probado en el test. Las diferencias entre medias fueron determinadas mediante el test de Duncan ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los consumidores participantes, el 52,5% no se encuentran a favor de las corridas de toros. El 95% había oído hablar de la carne procedente de la lidia, sin embargo sólo el 52,5% la había probado alguna vez. De aquellas personas que sí conocían la carne de lidia, el plato más conocido/consumido es el “rabo de toro” (43,8%). La carne de la raza de Lidia posee cualidades diferentes a las de cualquier otro vacuno destinado a la producción de carne, debido al estrés y falta de reservas de glucógeno provocado por el desgaste físico y el desangrado previo al sacrificio en la plaza. Por tanto son carnes clasificadas como DFD (oscuras, firmes, secas), cuyas diferencias son claras no sólo en pH y color, así como en otros atributos relacionados con la textura-fuerza al corte (Wulf *et al.*, 2002). Sin embargo, la aceptabilidad sensorial difiere según los estudios consultados (Viljoen *et al.*, 2002; Álvarez *et al.*, 2014), aunque son escasos los estudios en animales lidiados (Berriain *et al.*, 2011).

Como se recoge en la Tabla 1, en ninguno de los tres atributos de aceptabilidad estudiados (sabor, ternura y aceptabilidad global), hubo diferencias significativas, dentro de cada tipo de carne, entre los distintos etiquetados, así como tampoco hubo interacción de este factor (etiqueta) con la variable tipo de carne, demostrándose que la “percepción” Lidia no influyó negativamente en los consumidores.

Sin embargo el tipo de carne sí que fue significativo, tal y como se observa en los valores de aceptabilidad global (Tabla 2). Así, la carne de añojo, independientemente de cómo estuviese etiquetada, obtuvo puntuaciones más altas que la de la raza Lidia, lo que indica las esperables diferencias sensoriales entre ambos tipos de carne.

La Tabla 3 recoge la significación para las tres variables de aceptabilidad sensorial de los factores aislados: etiqueta, tipo de carne, así como si influye en la percepción sensorial el que hubiesen probado alguna vez, anteriormente a la cata, carne de Lidia. Se observa que la etiqueta (reflejando que una carne es de Lidia o añojo) no tuvo efecto significativo en ninguna de las variables estudiadas, así como tampoco el tipo de animal probado o que hubiesen consumido ya anteriormente este tipo de carne.

Se concluye que las variaciones de puntuación de aceptabilidad de la carne según etiquetas diferentes, Lidia o Añojo, para un mismo tipo de carne, no son significativas en la valoración de la calidad. En cambio, cuando comparamos los diferentes tipos de carnes se notan variaciones en la puntuación. Igualmente, se deduce que el consumidor no se ha dejado llevar por sus opiniones personales en cuanto haber probado anteriormente carne de la raza de Lidia, o estar a favor o no de las corridas de toros (resultados no mostrados) sino que se ha centrado en los parámetros organolépticos a valorar como se indicaba en la cata de consumidores.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez, M., Valera, M & Alcalde, M.J. 2014. ITEA 110: 368-373 • Berriain, M.J., Horcada, A.; Lizaso, G.; Insausti, K. & Purroy, A. 2011. *Ver. Cient.* 21: 88-95 • Font-i-Furnols, M., Gispert, M., Guerrero, L., Velarde, A., Tibau, J., Soler, J., Hortós, M., García-Regueiro JA, Pérez J, Suárez P & Oliver M.A. 2008. *Meat Sci.* 80: 1013–1018 • Macfie, H.J., Bratchell. N., Greenhoff, K. & Vallis, L.V. 1989. *J. Send. Stud.* 4: 129-148 • Viljoen, H.F., De Kock, H.L. & Webb, E.C. 2002. *Meat Sci.* 61: 181-185 • Wulf, D.M., Emnett, R.S., Leheska, J.M. & Moeller, S.J. 2002. *J. Ani. Sci.* 80: 1895-1903.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido el resultado de un TFG del Grado en Veterinaria. A los miembros del grupo de investigación, alumnos que ayudaron en la ejecución del análisis, miembros del panel de consumidores y a las empresas cárnicas que aportaron el material analizado.

**Tabla 1.** P valor de los efectos etiqueta, tipo de carne (añojo vs. lidia) y la interacción entre ambos en la aceptabilidad general, de la terneza y del sabor de la carne (n=80 consumidores).

	ETIQUETA	CARNE	ETIQUETA x CARNE
Aceptabilidad general	0,104	<0,001	0,476
Terneza	0,296	<0,001	0,941
Sabor	0,236	0,002	0,506

**Tabla 2.** Valoración por parte de los consumidores de la aceptabilidad general de la carne de añojo y lidia con diferentes etiquetados (n=80).<sup>\*</sup>

CARNE CONSUMIDA	ETIQUETA		
	Añojo	Blanco	Lidia
Añojo	6,55 a	5,88 a	6,60 a
Lidia	5,77 b	5,33 b	5,40 b

<sup>\*</sup> Escala de 9 puntos: (1: me desagradaba extremadamente; 9: me gusta extremadamente).  
a, b: letras distintas indican diferencias significativas dentro de la misma columna

**Tabla 3.** P valor de los efectos (etiqueta, tipo de carne (añojo vs. lidia) y consumo previo de carne de lidia) en la aceptabilidad general, de la terneza y del sabor de la carne (n=80 consumidores).

	ETIQUETA n=80	TIPO DE CARNE (n=80)		HA PROBADO CARNE LIDIA	
		Añojo	Lidia	No (n=37)	Sí (n=42)
Aceptabilidad general	0,380	0,869	0,086	0,747	0,440
Sabor	0,724	0,283	0,498	0,521	0,969
Terneza	0,496	0,654	0,594	0,920	0,362

## EFFECT OF LABELLING IN ORGANOLEPTIC SCORES OF MEAT FROM LIDIA BREED IN SPAIN

**ABSTRACT:** Lidia's meat shows peculiarities concerning beef meat production, which will be reflected in the process of transformation of muscle into meat, and the influence of stress of the bullring due to physical activity, being classified the meat from Lidia fighting bulls as DFD. The aim of the work was to study the effect of labeling on this kind of Lidia meat, and to compare it with commercial samples from yearlings. Eighty consumers participated on a laboratory-based consumer test where flavor, tenderness and overall acceptability of both types of meats were evaluated. The same product (same kind of meat, same animal and same steak) was presented under different labels (Unidentified, Lidia or Yearling). Also, a questionnaire about Lidia breed, meat and previous consumption or knowledge of this product was developed. According to statistical analyses labelling did not produced significant changes ( $P>0.1$ ) on the scores between both types of meat. Consumers were not influenced by its previous familiarity with Lidia meat or personal ideas about this spectacle. However, consumers reported differences on acceptability between both type of meats, being yearling scored with higher values than Lidia's meat for flavor acceptability ( $P<0.01$ ), tenderness acceptability and overall acceptability ( $P<0.001$ ).

**Keywords:** acceptability, consumer, fighting bulls, questionnaires.

## EFFECTO DE LA MADURACIÓN Y EL TIEMPO DE CONSERVACIÓN SOBRE EL OLOR SENSORIAL DE LA CARNE DE POTRO

Ruiz, M.<sup>1</sup>, Sarriés, M.V.<sup>1</sup>, M., Beriain, M.J.<sup>1</sup> y Lorenzo, J.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigación Is-Food. ETSIA. Universidad Pública de Navarra. 31006 Pamplona. \*marta.ruiz@unavarra.es

<sup>2</sup>Centro Tecnológico de la Carne de Galicia, Avenida de Galicia, nº4, Parque Tecnológico de Galicia, San Cibrao das Viñas, 32900 Ourense, Galicia

### INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años, el interés por los estudios de la calidad de la carne de potro ha ido aumentando debido a sus propiedades nutricionales, como son, un perfil favorable de ácidos grasos, bajo contenido graso y alto contenido en hierro hemínico y proteínas (Sarriés et al., 2006; Lorenzo et al., 2014). La maduración es un proceso importante ampliamente estudiado en carne de vacuno, con el fin de encontrar su punto óptimo de ternura (Campo et al., 2000). Sin embargo, se han realizado pocos estudios en ganado equino. Es conocida la elevada susceptibilidad de este tipo de carne a la oxidación y el crecimiento microbiano debido a su elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados y hierro hemínico (Chaijan, 2008). Muchos trabajos muestran que la conservación a vacío proporciona una mayor estabilidad en los parámetros de calidad sensorial retrasando su alteración con el transcurso del tiempo, lo que permite alcanzar una vida útil que oscila entre 4 y 14 días dependiendo de las condiciones de envasado (Lorenzo y Gómez, 2012; Sarriés et al., 2014).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la maduración y el tiempo de conservación sobre el olor sensorial, como parámetro de calidad en el momento de compra.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio, se utilizaron ocho muestras de carne del músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) de la canal izquierda de potros de 16 meses de edad de raza Burguete. El LD se dividió en dos partes iguales que fueron envasadas a vacío, conservadas a 5°C y maduras 7 y 14 días, respectivamente (M7 vs M14). Una vez alcanzado M7 y M14, las piezas de LD se cortaron en filetes y se establecieron dos tiempos de conservación, 0 y 4 días (TC0 vs TC4) para ambos tiempos de maduración. Las muestras TC4 días fueron conservadas a 2±1°C en bandejas de plástico transparente cubiertas con un film de PVC permeable al oxígeno en una cámara tipo expositor (Cold Master s.r.l.). Se determinó el recuento de enterobacterias (ISO 21528-2:2004), aerobios mesófilos totales (ISO 4833:2003) y *Pseudomonas spp.* (ISO 13720-2:2010). El pH se determinó mediante el uso de un pH-metro Crison pH 25, con electrodo de penetración 52-32 (pH: 2-11). La capacidad de retención de agua (CRA) se obtuvo mediante la técnica de presión y exudados (Hamm, 1986). La estabilidad oxidativa de la grasa se evaluó mediante el método de destilación para la determinación cuantitativa del malonaldehído (Tarladgis et al., 1960). Por último, se estudió el atributo "olor sensorial" mediante el empleo de un panel entrenado de 12 catadores sobre una escala continua de 0 a 150 mm (Gómez et al., 2014). El extremo izquierdo "0 mm" indica el olor característico de la carne de potro, el externo derecho "150 mm" indica olores anómalos y el punto medio de la escala "75 mm", el límite en el que el olor de la carne deja de ser característico. El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el paquete informático SPSS 23.0.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se observan los resultados obtenidos de la carne madurada 7 y 14 días (M7 vs M14) y 0 y 4 días de conservación (TC0 vs TC4). La valoración del olor dependió tanto del periodo de maduración como del tiempo de conservación (MxTC; p<0.001). La puntuación del olor sensorial por efecto de la maduración (p<0,001) se vio incrementada notablemente (13 vs. 35 mm). Además, esta diferencia fue descrita por los panelistas como la "ausencia" de olor en M7 y "olor a carne" en M14. En ambos casos la valoración fue inferior al límite (75 mm). También destacaron los resultados de olor a 4 días de TC. Su puntuación en M14 prácticamente duplicó a la de M7 (113 vs. 63) (mm), superando, en el primer caso, el límite en el que el olor de la carne deja de ser característico y se considera anómalo (75 mm). Por otro lado, los recuentos microbianos presentaron diferente comportamiento. El crecimiento de los mesófilos totales a lo largo del tiempo de conservación, dependió del tipo de

maduración llevada a cabo (MxTC;  $p < 0.001$ ). A 0 días de TC, estos microorganismos tuvieron un mayor crecimiento en M14 frente a M7 (6,33 vs. 4,51). Las enterobacterias también aumentaron su crecimiento con la maduración (2,56; M7 vs. 3,56; M14). Aunque el envasado a vacío limita el crecimiento de enterobacterias (Gómez y Lorenzo, 2012), parece que periodos de maduración prolongados favorecen su crecimiento. El recuento de las mismas en el presente trabajo fue superior al presentado por Lorenzo y Gómez (2012) (1,56 log UFC/g) en carne madurada 24 horas. No se observó mayor crecimiento en las *Pseudomonas* spp. ( $p > 0,05$ ) ya que son las responsables de la degradación de carne en condiciones aerobias (Koutsoumanis et al., 2006). El tiempo de conservación sí que hizo aumentar el crecimiento de los 3 tipos de microorganismos, favorecido por unas condiciones aerobias y un incremento en el pH ( $p < 0,001$ ) (5,55 vs. 5,83). Este incremento también fue descrito por Lorenzo y Gómez (2012). La oxidación lipídica, evidenciada por el TBA, mostró diferente evolución durante los 4 días de tiempo de conservación según la maduración llevada a cabo (MxTC;  $p < 0.001$ ). Valores moderadamente más elevados se observaron en M14 frente a M7 (0,32 vs. 0,21 mg MDA/kg carne). Sin embargo, a TC4, esta diferencia entre maduraciones se incrementó poniendo de manifiesto una elevada rancidez, sobretudo, en la carne madurada 14 días (2,79 mg MDA/kg carne), superando el umbral de rancidez marcado por Campo et al. (2000) (2,00 mg MDA/kg carne). Cabe destacar que los valores de oxidación lipídica en ambas maduraciones a TC0 fueron más elevados que los presentados por Gómez y Lorenzo (2012) 24h *post-mortem* (0,12 mg MDA/kg carne). Sin embargo, el pH (5,55) y la capacidad de retención de agua (CRA) (0,13) no se vieron afectados por la maduración ( $p > 0,05$ ), siendo el valor inicial de pH similar al descrito por otros autores (Franco et., 2011).

La figura 1 muestra la representación gráfica de la carne madurada 7 y 14 días sobre los dos primeros componentes principales que recogen el 40% y el 21% de la variabilidad total respectivamente. El componente 1 se relacionó claramente con “degradación” mostrando una relación directa entre el incremento de microorganismos y oxidación con la pérdida de olor característico. Esta distribución permite visualizar de forma clara que la degradación de muestras de carne maduras 14 días fue superior a los valores medios. Lo contrario ocurrió con las muestras maduras 7 días.

Además se realizó un análisis de correlaciones y por un lado se observaron correlaciones positivas entre el TBA y los recuento de mesófilos totales ( $p < 0,01$ ;  $r = 0,46$ ) y enterobacterias ( $p < 0,001$ ;  $r = 0,64$ ). Este hecho podría explicar que el desarrollo en la actividad microbiana de dichos microorganismos favoreció el desencadenamiento de reacciones de oxidación. Por otro lado, también se encontró una correlación positiva del olor con el recuento de enterobacterias ( $p < 0,01$ ;  $r = 0,28$ ). Por lo tanto, existe una relación entre la valoración negativa del olor y el crecimiento de enterobacterias que a su vez motiva la oxidación de la grasa.

Según los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir que periodos de maduración de 14 días o más, favorecen la aparición prematura de olores anómalos en la carne limitando su conservación a menos de 4 días debido al crecimiento microbiano y la degradación de la carne. La conservación de la misma en presencia de oxígeno no es recomendable por el incremento de microorganismos, de oxidación y de olor anómalo. Una maduración de 7 días permite que la carne preserve su olor característico hasta 4 días de conservación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hamm. 1960. Adv Food Res. 10 :356 • Tarlagdis et al. 1960. J. Am. Oil Chem. Soc. 37: 44-52 • Campo et al. 2000. Meat Sci. 55 (4): 371-378 • Sarriés et al. 2006. Meat Sci. 72: 475-485 • Koutsoumanis et al. 2006. Appl Environ Microbiol. 72 :124-134 • Chaijan, 2008. J. Food Tech. 219: 316-320 • Franco et al. 2011. Meat Sci. 88: 292-298 • Gómez y Lorenzo. 2012. Meat Sci. 91:513-520 • Lorenzo y Gómez. 2012. 92: 610-618 • Lorenzo et al. 2014. Meat Sci. 96: 1478-1488 • Gómez et al. 2014. J. Food Sci. 79:S2368-S2376 • Sarriés et al. 2014. Navarra Agraria. 206: 37-42

**Agradecimientos:** Proyecto RTA2012-00090-C03-01 financiado por INIA.

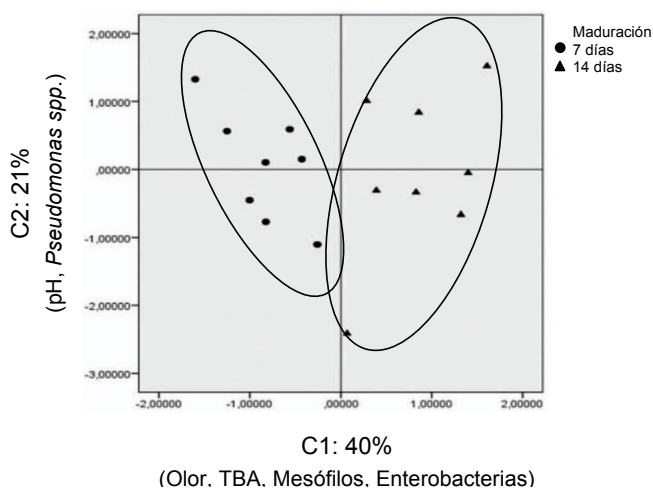
**Tabla 1.** Olor sensorial, recuento de microorganismos y variables físico-químicas durante los periodos de maduración y tiempos de conservación establecidos en carne de potro de raza Burguete.

	M7		M14		EE	M	TC	M x TC
	0 días	4 días	0 días	4 días				
Olor	13	63	35	113	0,45	***	***	**
Mesófilos totales	4,51	6,87	6,33	6,97	0,23	***	***	***
<i>Enterobacteriaceae</i>	2,56	3,57	3,56	4,46	0,29	**	**	n.s.
<i>Pseudomonads spp.</i>	3,14	4,95	3,16	3,85	0,36	n.s.	**	n.s.
TBA	0,21	1,05	0,32	2,79	0,18	***	***	***
pH	5,56	5,92	5,54	5,73	0,06	n.s.	***	n.s.
CRA	0,14	0,12	0,11	0,13	0,01	n.s.	n.s.	n.s.

M: Maduración, M7: 7 días, M14: 14 días; TC Tiempo de Conservación

EE: Error Estándar; Significación: \*\*\* (p<0,001), \* (p<0,05), n.s.: no significativo.

Unidades: Olor: mm; Recuentos: log UFC/g; TBA: mg MDA/ kg carne; CRA: %.



**Figura 1.** Distribución de las muestras de carne de potro de acuerdo al periodo de maduración obtenido a partir de un análisis de componentes principales.

### AGEING EFFECT OVER MICROBIAL GROWTH AND DEGRADATION OF FOAL MEAT

**ABSTRACT:** The effect of ageing and storage time on sensory odour as quality parameter of the *Longissimus thoracis et lumborum* muscle from 16-months old foals was assessed. Eight samples were vacuum packaged and aged for 7 and 14 days at 5 °C. After each ageing time, the samples were cut into steaks and packaged by sealing the film upon the tray during 4 days. After ageing and storage time, meat was tested for sensory odour, microbial counts (total aerobic mesophilic, *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonads spp.*), lipid oxidation, pH and water holding capacity. Microbial growth and lipid oxidation increased with ageing time in spite of being vacuum-packaged and odour evaluation was slightly worse for 14 against 7 days of ageing time. Regarding storage time, all the parameters already mentioned join to pH suffered a high increase assisted by the oxygen presence. The rise was strongly noted in meat aged 14 days, resulting in a total loss of the characteristic odour. It could be conclude that long periods of ageing time and oxygen atmospheres not only do not favour the preservation of foal meat dour, but also lead to high and rapid degradation.

**Keywords:** Foal meat, microbiology, lipid oxidation, sensory odour

## ACEPTABILIDAD DE HAMBURGUESAS DE CORDERO CON EXTRACTOS DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA AGROALIMENTARIA

Guerrero, A.<sup>1</sup>, Olleta, J.L.<sup>1</sup>, Campo, M.M.<sup>1</sup>, Alves L.G.C.<sup>1</sup>, Sánchez, R.<sup>2</sup>, Andrés, A.I.<sup>3</sup> y López-Parra, M.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2, Universidad de Zaragoza-CITA Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Instituto de Investigaciones agrarias Finca La Orden-Valdesequera.

<sup>3</sup> Tecnología de Alimentos. Escuela de Ingenierías Agrarias. Universidad de Extremadura. 06007 Badajoz

\*[aguerre@unizar.es](mailto:aguerre@unizar.es)

### INTRODUCCIÓN

El procesado de productos cárnicos y su conservación implica la necesidad de la inclusión de aditivos conservantes, antioxidantes y antimicrobianos. En los últimos años, la creciente preocupación de los consumidores sobre la seguridad de los aditivos sintéticos (BHT, ascorbato sódico, etc) ha motivado que cada vez más se utilicen aditivos naturales (Karre *et al.*, 2013; Jian & Xiong, 2016). Los derivados de industria agroalimentaria y plantas son una buena fuente de antioxidantes y antimicrobianos naturales (Hygreeva, Pandey & Radhakrishna, 2014) siendo estos una alternativa a los aditivos sintéticos usados tradicionalmente. Varios estudios han demostrado la eficacia de estos subproductos en carne y productos cárnicos (Candogan, 2002; Dejong & Lanari, 2009; García *et al.*, 2009; Sayago-Ayerdi *et al.*, 2009). No obstante, su viabilidad dependerá de la constatación del mantenimiento o mejora de los parámetros de calidad, así como de la aceptabilidad social y sensorial de este tipo de productos cárnicos. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la aceptabilidad por parte de los consumidores de hamburguesas de carne ovina a las que se les incorporaron diversos extractos procedentes de la industria agroalimentaria (tomate, uva o alperujo).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una extracción acuosa a partir de los siguientes subproductos: tomate, uva y alperujo. La carne utilizada para la fabricación de las hamburguesas provenía de 28 corderos raza Merina (18.8 kg de peso vivo; 62 días de edad) cuya carne permaneció envasada en atmósfera protectora 80/20 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> durante tres días, momento en el que se prepararon las hamburguesas. Una vez picada la carne se separó por lotes y se mezcló con los correspondientes extractos hasta alcanzar una concentración de 2000 ppm, siendo éste el único aditivo en la formulación, dando lugar a los tratamientos control (sin extracto), tomate, uva y alperujo. El peso de cada hamburguesa osciló entre los 75-80 g. Tras su preparación fueron congeladas. El estudio de aceptación del producto por parte de los consumidores se realizó en la Facultad de Veterinaria (Zaragoza), en una sala acondicionada para los análisis bajo condiciones controladas. Se realizaron 8 sesiones, contando con un total de 80 participantes (50% hombres y 50% mujeres), cuyos intervalos de edad (25%: entre 18-25 años; 21,3%: entre 26 - 40 años, 25%: entre 41 - 55 años y 28,8%: mayores de 56) fueron representativos de la media poblacional nacional. Las muestras fueron descongeladas, envueltas en papel de aluminio, codificadas con 3 dígitos de acuerdo a la identificación de cada tratamiento y, cocinadas en un grill de doble placa pre-calentado a 200°C. La temperatura de cocinado se controló mediante una sonda de penetración retirándose las hamburguesas del grill al alcanzar los 75°C de temperatura interna. Posteriormente cada hamburguesa fue subdivida en porciones equivalentes y mantenidas a 45°C hasta el momento de la evaluación. Cada consumidor probó una muestra de cada uno de los cuatro tratamientos a evaluar. Para evitar posibles efectos de unas muestras sobre otras, éstas se evaluaron en distinto orden para cada consumidor (Macfie *et al.*, 1989). En cada muestra se evaluó la aceptabilidad de la ternura, del sabor, así como su aceptación general, mediante una escala hedónica estructurada modificada de 9 puntos, que variaba desde 1 (me desagradaba extremadamente) a 9 (me gusta extremadamente), en la que se eliminó el punto medio (Font-i-Furnols *et al.* 2008). Tras la evaluación de las muestras se pidió a los participantes que las ordenaran de acuerdo a su preferencia basada en la aceptación global, así como que rellenaran un pequeño

cuestionario con preguntas relacionadas con sus hábitos de consumo de carne y hamburguesas.

La aceptabilidad de las muestras fue analizada mediante el programa estadístico SPSS v.22.0 mediante un Modelo Lineal General, considerándose el tratamiento (adición de extractos) como efecto fijo y el consumidor efecto aleatorio. Las diferencias entre medias fueron determinadas mediante el test de Duncan ( $P < 0,05$ ). Para calcular la preferencia entre los distintos tratamientos se calculó el índice R de acuerdo con la metodología descrita en Whichchukit y O'Mahony (2015).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados de la encuesta realizada se observa como de los participantes sólo el 12,5% presentan un consumo de carne (en general) semanal o inferior, siendo más frecuente el consumo de carne de 2-4 veces/semana (52,5%) o más de 4 veces por semana (35,0%). En relación al consumo de hamburguesas el 36,3% de los participantes consumen menos de una vez al mes dicho producto, el 18,8% una vez por mes, siendo el consumo más frecuente 2 veces al mes (28,8%), presentando el 16,3% de los participantes un consumo semanal. En relación a las hamburguesas elaboradas con carne de cordero, este no es un producto muy conocido o consumido, aunque el 20% de los participantes afirmaron que ya lo habían consumido alguna vez previamente. Los consumidores presentaron un conocimiento y consumo superior de otros tipos de hamburguesas como las realizadas a partir de carne de vacuno, mixtas (vacuno-cerdo: 76,3%), ave (65%), cerdo (37,5%) existiendo un pequeño porcentaje de los participantes que también ya habían probado hamburguesas de otras especie como potro, carne de caza, conejo y/o pescado.

La adición de extractos en las hamburguesas afectó significativamente a todas las variables de aceptabilidad estudiadas (Tabla 1). El grupo control junto con el que fue adicionado alperujo presentaron valores inferiores de aceptabilidad de la terneza ( $P < 0,01$ ) respecto al de uva, presentando el tomate posiciones intermedias. En relación a la aceptabilidad del sabor, la inclusión de uva mejoró los valores de aceptabilidad ( $P < 0,001$ ) respecto al grupo control. Sin embargo, la adición de alperujo produjo el rechazo en la aceptabilidad del sabor, presentado valores significativamente inferiores al resto, con notas comprendidas entre "me desagrada ligera y moderadamente". El mismo comportamiento observado para el sabor de diferencias y preferencias entre los tratamientos ( $P < 0,001$ ) se reflejó en la aceptabilidad global, presentando prácticamente las mismas puntuaciones en ambos atributos, excepto en el grupo alperujo, que a pesar de aumentar su valoración en 0,36 puntos respecto al sabor, continuó siendo rechazado sensorialmente por los participantes. El tratamiento que presentó mejores puntuaciones y una mayor preferencia respecto a los otros fue el extracto de uva, lo cual se vio reflejado tanto en unas puntuaciones significativamente superiores al grupo control, como a través del índice R, (Tabla 2). Entre el 78% y 88% de los ensayos éste tratamiento es preferido ante cualquier otro. El alperujo presentó bajos valores de preferencia respecto a los otros tratamientos (16% - 36%) y la adición de extracto de tomate se encontró en posiciones intermedias y similares al grupo control, siendo muy similar la preferencia entre ambos grupos, en torno al 63% - 65% respectivamente.

En base a los resultados obtenidos se podría concluir que las hamburguesas de cordero no son un producto muy conocido ni ampliamente consumido todavía, pero que presentan una adecuada aceptabilidad, la cual puede ser incrementada con la adición de extractos como el de uva o tomate a 2000 ppm. Sin embargo, no sería recomendable la adición de alperujo por el rechazo a nivel sensorial que produce. Se recomendarían más estudios en este tipo de productos, novedosos y probablemente con futuro prometedor para determinar cuál son las principales causas que están condicionando dicha aceptación y/o rechazo en los distintos extractos estudiados (componentes antioxidantes, oxidación lipídica, etc).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Candogan K. 2002. Eur. Food. Res. Technol. 215: 305–309 • Dejong, S., & Lanari, M. C. 2009. Food Chem. 116: 892-897 • Font-i-Furnols, M., Gispert, M., Guerrero, L., Velarde, A., Tibau, J., Soler, J., Hortós, M., García-Regueiro JA, Pérez J, Suárez P & Oliver M.A. 2008. Meat Sci. 80: 1013–1018. • García, M. L., Calvo, M. M., & Selgas, M. D. 2009. Meat Sci. 83: 45-49 • Hygreeva, D., Pandey M.C. & Radhakrishna, K.2014. Meat Sci. 98:47-57 • Jian, J. &



Xiong, Y.L. 2016. Meat Sci. 120: 107-117. • Karre, L., Lopez, K., & Getty, K.J.K. 2013. Meat Sci. 94: 220-227. • Macfie, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K. & Vallis, L.V. 1989. J. Sens. Stud. 4: 129-148. • Sayago-Ayerdi, S.G., Brenes, A., & Goñi, I. 2009. LWT 42: 971-976 • Whichchukit, S. & O'Mahony, M. 2015. J. Sci. Food Agric. 95: 2167-2178.

**Agradecimientos:** A los miembros del grupo de investigación que ayudaron en la ejecución del análisis.

**Tabla 1.** Valores de aceptabilidad por parte de los consumidores (n=80) de hamburguesas de ovino elaboradas con extractos acuosos de subproductos de la industria alimentaria.\*

Aceptabilidad	Control	Uva	Alperujo	Tomate	EEM	P valor
Terneza	5,19 b	5,77 a	5,16 b	5,46 ab	0,093	0,002
Sabor	4,95 b	5,59 a	3,59 c	5,14 ab	0,099	0,000
Global	4,96 b	5,58 a	3,95 c	5,16 ab	0,093	0,000

\*Escala de 9 puntos: (1: me desagrada extremadamente; 9: me agrada/gusta extremadamente). EEM: Error Estándar de la Media  
a,b,c: diferentes letras en la misma línea indican diferencias significativas (P<0,05).

**Tabla 2.** Valores de preferencia de los distintos tipos de hamburguesas (aceptabilidad por el índice R-porcentaje de preferencia por parte del consumidor del primer tratamiento presentado en la tabla frente al segundo).

Preferencia	%	Preferencia	%
CONTROL vs. UVA	47,61	UVA vs. CONTROL	78,05
CONTROL vs. ALPERUJO	82,61	UVA vs. ALPERUJO	88,80
CONTROL vs. TOMATE	63,38	UVA vs. TOMATE	78,10
ALPERUJO vs. CONTROL	35,55	TOMATE vs. CONTROL	65,00
ALPERUJO vs. UVA	15,97	TOMATE vs. UVA	47,67
ALPERUJO vs. TOMATE	33,86	TOMATE vs. ALPERUJO	82,67

#### ACCEPTABILITY OF LAMB PATTIES WITH EXTRACTS OF BY PRODUCTS OF THE AGRIBUSINESS

**ABSTRACT:** Acceptability and preference values for lamb patties with 2000 ppm of three different aqueous extracts from grape, tomato and olive by-products were obtained and compared with those for lamb patties without any added extract (Control). 80 consumers were asked to evaluate the samples according to tenderness, flavor and overall acceptability, as well as the global preference. According to the questionnaire, up to 20% of participants had already eaten lamb patties previously and knew about this product. The addition of grape extract improves significantly tenderness, flavor and overall acceptability of hamburgers ( $P<0.01$  and  $P<0.001$ ) in comparison with control and olive samples. Grape treatment also was the treatment preferred by consumers according to R-index. Tomato treatment scores did not differ from control group, regarding acceptability attributes or preference. However, consumers rejected olive samples on the basis of flavor and overall acceptability, this treatment also was the least preferred by consumers. Finally, the addition of grape and tomato extracts could be a positive strategy for this kind of meat products.

**Keywords:** consumer, grape extract, olive extract, tomato extract.

## EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE RESIDUOS DE LA DESTILACIÓN DE ROMERO EN EL CRECIMIENTO, COLOR, CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y CONTENIDO EN ALFA-TOCOFEROL DE CARNE DE CORDERO

Yagoubi, Y.\*<sup>1,2</sup>, Hajji, H.<sup>1</sup>, Smeti, S.<sup>1</sup>, Ripoll, G.<sup>3</sup>, Joy, M.<sup>3</sup>, Mahouachi, M.<sup>4</sup> y Atti, N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA-Tunez, Laboratorio de Producción Animal y Forrajes, 2049 Ariana (Tunez). <sup>2</sup> INAT 43 Avenue Charles Nicolle, Tunis 1082 (Tunez). <sup>3</sup> Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. <sup>4</sup> ESAK, 7119, Le Kef (Tunez) \*yagoubiyathreb@hotmail.fr

### INTRODUCCIÓN

En el área mediterránea, la escasa disponibilidad de forraje y la inestabilidad de los precios de los pienso conlleva a la búsqueda de alimentos alternativos para la alimentación de pequeños rumiantes. El uso de los residuos de la destilación de plantas aromáticas como una alternativa es atractivo pero no hay muchos estudios. Su uso para alimentar animales puede mejorar los el sabor de la carne al incrementar su estabilidad oxidativa, dada su riqueza en componentes bioactivos. Los antioxidantes sintéticos son usados ampliamente para retrasar el deterioro de la carne, pero los consumidores buscan carne más segura y saludable producida de manera natural (Troy y Kerry, 2010). Así, el uso de materias primas ricas en antioxidantes naturales está recibiendo cada vez más atención. Por esto, el objetivo de este estudio se centra en el uso de residuos de la destilación de romero (RR) en la dieta y su efecto en el crecimiento de los corderos, el color, las características sensoriales y el contenido en alfa-tocoferol de la carne de estos corderos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Veintiún machos de raza Barbarine (10 meses de edad y peso vivo: 23,7 ± 4,4 kg) fueron usados en el estudio. Los corderos se estabularon individualmente y fueron distribuidos, teniendo en cuenta el PV, aleatoriamente en una de las dietas en estudio. La dieta basal fue 600 g de concentrado/animal/d. Los tratamientos fueron el grupo control (C), que recibió 600g de heno de avena/animal/d; el grupo RR60, que recibió 600 g/d de pellets que contenían un 60% de RR, 32 % de salvado de trigo y 8 % de torta de soja; y el grupo RR87 que recibió 600 g/d de pellets con 87% de RR y 13 % de salvado de trigo. El experimento duró 77 días en los que las dietas experimentales se ofrecieron dos veces al día, a las 9 h y a las 14 h. Todos los animales tuvieron acceso libre a agua, y se pesaron semanalmente antes de la distribución de los alimentos. Al final de los 77 días de ensayo, los corderos se sacrificaron en el INRA-Tunez. La canal se refrigeró durante 24 horas a 4°C. Posteriormente, se extrajo el músculo *Longissimus thoracis* et lumborum y se muestreó para los análisis. El color de la carne fue medido 24h *post-mortem* con un Minolta chroma Meter CR-400, usando el espacio de color CIELab (CIE, 1978). Se registraron la luminosidad (L\*), índice de rojo (a\*) e índice de amarillo (b\*). El análisis de alfa-tocoferol se realizó siguiendo el método de Chauveau- Duriot et al. (2010). Para el análisis sensorial, se cocinaron las muestras de *Longissimus thoracis* envueltas en papel de aluminio en un horno precalentado a 180 °C durante 40 min. Las muestras se codificaron y se sirvieron al azar para que las probaran 10 panelistas Se les preguntó sobre la ternura (1=extremadamente duro a 9= extremadamente tierna), olor (1=bajo a 9=fuerte), jugosidad (1=extremadamente seca a 9= extremadamente jugosa) y flavor (1=muy malo a 9= muy malo).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos de crecimiento y calidad de la carne se muestran en la Tabla 1. No se encontraron diferencias estadísticas entre dietas en el peso vivo final ( $p > 0,05$ ), lo que está relacionado con el mayor peso vivo inicial del tratamiento C, aunque no hubo diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, los grupos que ingirieron RR tuvieron mayores ganancias medias diarias ( $P = 0,001$ ). Esta mayor ganancia pudo ser debida al mayor contenido en proteína bruta en las dietas RR. Las dietas RR no alteraron el color de la carne. Después de 24 horas de almacenamiento, la luminosidad de todos los grupos estuvo por encima de 44, indicando que la carne es aceptable, ya que el límite de aceptabilidad de la carne respecto de la luminosidad de 34 (Velasco et al., 2004) y por encima de 44 la carne es aceptable para el 95% de los consumidores (Khliji et al., 2010). Los índices de rojo y amarillo fueron similares entre dietas ( $p > 0,05$ ). La calidad sensorial no se vio afectada por las dietas ( $p > 0,05$ ). La carne de todos los grupos fue valorada como medianamente tierna (6,17- 6,28) y jugosa (4,98-5,38) y aceptada por todos los panelistas. No se detectó ningún olor específico. El flavor de carne de oveja puede estar influido por el pH final (Young et al., 1993), aunque en el presente estudio no se observaron diferencias entre tratamientos en el pH. El romero se caracteriza por tener un sabor amargo, dado su riqueza en compuestos fenólicos. Los resultados de este trabajo sugieren que el uso de residuos de la destilación de romero no afecta negativamente a la calidad sensorial de la carne de cordero. Nuestros resultados están de acuerdo con los de Rossi et al. (2013) que suplementaron la dieta de cerdos con extractos de plantas.

**Tabla 1.** Crecimiento del cordero, color, análisis sensorial y contenido en alfa-tocoferol de la carne de cordero.

	C	RR60	RR87	SEM	P valor
Peso inicial, kg	25,2	22,5	23,2	0,96	0,52
Peso final, kg	32,8	36,2	35,9	1,10	0,39
Ganancia media diaria, g/d	98 <sup>b</sup>	177 <sup>a</sup>	164 <sup>a</sup>	6,77	0,001
L*	45,7	44,7	47,5	3,33	0,29
a*	19,9	18,3	17,45	1,90	0,08
b*	8,2	5,8	7,5	2,8	0,25
Olor (1-9)	4,8	4,8	4,9	0,08	0,87
Terneza (1-9)	6,24	6,17	6,28	0,18	0,96
Jugosidad (1-9)	4,98	5,38	5,15	0,17	0,65
Flavor (1-9)	6,05	6,38	6,18	0,15	0,68
Alfa-tocoferol, µg/g	1,59 <sup>b</sup>	7,77 <sup>a</sup>	6,64 <sup>a</sup>	0,35	0,001

El contenido en alfa-tocoferol de la carne fue significativamente mayor ( $P = 0,001$ ) en las dietas con RR. Los contenidos en ambas dietas que contenían RR fueron 4 veces mayor es que en la dieta Control. El alto contenido en alfa-tocoferol en la carne debido al romero ya ha sido anteriormente descrito en la carne de pollo suplementada con hojas de romero (Loetscher et al., 2013). La presencia de un contenido notable de alfa-tocoferol en la carne puede ser resultado del elevado contenido en polifenoles que presenta el RR, lo que contribuye a la deposición del alfa-tocoferol en el músculo. Es conocido que la carne de corderos criados en pastoreo o que su dieta ha sido suplementada con vitamina E es rica en antioxidantes en forma de D-alfa-tocoferol y flavonoides (Hopkins et al., 2013). Sin embargo, la concentración en alfa-tocoferol de la carne de los corderos alimentados con RR de este estudio fue mayor que la de corderos alimentados en pasto, que tenían valores entre 3,2

µg/g (Ponnampalam et al., 2012) y 3,8 µg/g (Hopkins et al., 2013) a pesar de la riqueza de los pastos en antioxidantes naturales como vitamina A y E, flavonoides y carotenoides.

El uso de los residuos de la destilación de romero en la alimentación de los corderos mejoró el crecimiento de los corderos. A nivel de calidad de la carne, no tuvo repercusiones en el color ni en las características sensoriales de la carne. Finalmente su inclusión incrementó el contenido en alfa-tocoferol en músculo, lo que puede tener un efecto positivo sobre la vida útil de la carne, que debe ser evaluado

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chauveau-Duriot, B., Doreau, M., Nozière, P., & Graulet, B., 2010. *Anal. Bioanal. Chem.* 397 : 777-790.
- Hopkins, D.L., Lamb, T.A., Kerr, M.J., van de Ven, R.J. & Ponnampalam, E.N., 2013. *Meat Sci.* 95: 311-316;
- Khlijji, S., Van de Ven, R., Lamb, T.A., Lanza, M., & Hopkins, D.L., 2010. *Meat Sci.* 85: 224-229;
- Loetscher, Y., Kreuzer, M., & Messikommer, R.E., 2013. *Poult. Sci.* 92: 2938-2948;
- Ponnampalam, E.N., Burnett, V.F., Norng, S., Warmer, R. D., & Jacobs, J.L., 2012. *Anim. Prod. Sci.*52: 255-262;
- Rossi, R., Pastorelli, G., Gannata, S., Tavaniello, S., Maiorano, G., Corino, C., 2013. *Meat Sci.*95: 542-548.
- Troy, D.J., & Kerry, J.P., 2010. *Meat Sci.* 86: 214-226;
- Velasco, S., Caneque, V., Lauzurica, S., Perez, C., & Huidobro, F.2004. *Meat Sci*;
- Young, O.A., Reid, D.H., & Scales, G.H., 1993. *New. Zeal. J. Agr. Res.* 36:363-370.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen su colaboración al personal del CITA, ESAK e INRA-Tunex.

#### EFFECTS OF ROSEMARY DISTILLATION RESIDUES INCLUSION ON GROWTH, COLOR, SENSORY PROPERTIES AND ALPHA-TOCOPHEROL CONTENT OF LAMB MEAT

**ABSTRACT:** Twenty one fat-tail male Barbarine lambs ( $23.7 \pm 4.4$  kg, 10 months old) were used to study the effects of substitution of oat-hay by rosemary distillation residues (RR) as pellets with two different RR proportions on growth, meat color, sensory properties and alpha-tocopherol content. Animals were assigned to one of three treatments (control, RR60 and RR87). The control group (C) was offered 600 g of oat hay, RR87 and RR60 received 600g of pellets containing 87 and 60% of RR, respectively. All animals were supplemented by 600 g of commercial concentrate. After 77 days of fattening, lambs were slaughtered to study the meat quality parameters. Final body weight was similar for all groups. However, the average daily gain (ADG) were higher for RR60 and RR87 compared to C. Color variables and the sensory quality were similar among groups. Both RR diets resulted in higher  $\alpha$ -tocopherol content. As conclusion, rosemary residues regimens resulted in higher ADG and increased the vitamin E content. However, the sensory properties and color parameters were unaffected. The greater contents of alfa-tocopherol observed in meat, could have a positive effect of meat self-life, what should be studied.

**Keywords:** rosemary residues, growth, alpha-tocopherol, lamb

## INCLUSIÓN DE GUISANTE EN LA DIETA DE CEBO SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL DE CORDEROS DE RAZAS OJINEGRA DE TERUEL Y RASA ARAGONESA

Oliver, R., Ripoll, G., Casasús, I., Joy, M. y Blanco M.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. mblanco@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

El cebo intensivo de los corderos se basa en un alto consumo de concentrado, lo que permite la producción de animales homogéneos. Este sistema se utiliza particularmente para producir corderos ligeros como los comercializados en la Indicación Geográfica Protegida “Ternasco de Aragón”. Sin embargo, la utilización de grandes cantidades de concentrado conlleva a una gran dependencia del mercado exterior, especialmente en la compra de materias primas para su formulación, como es la soja. Por ello, en estos sistemas se está intentando reducir el uso de soja, incluyendo leguminosas locales, para minimizar la dependencia comercial y reducir el rechazo de parte de la ciudadanía por los efectos negativos en los países donde se cultiva, y por ser un producto modificado genéticamente (Van Krimpen et al., 2013). El efecto de la inclusión de guisantes en el cebo de corderos sobre el crecimiento depende de la raza, la variedad y el porcentaje de inclusión de guisante (Colonna et al., 2014; Karlsson y Martinsson, 2011). Dicha inclusión puede afectar a la deposición de grasa en la canal (Purroy y Surra, 1990; Purroy et al., 1992; Facciolongo et al., 2014). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue el estudio de la inclusión del guisante como sustituto proteico a la soja sobre las características de la canal de corderos de raza Rasa Aragonesa y Ojinegra de Teruel, que difieren en su crecimiento y engrasamiento, cuyas canales se comercializan en la IGP “Ternasco de Aragón”.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Al destete, los corderos de ambas razas se dividieron en 2 lotes, cada lote recibió un pienso durante el cebo (30-40 días). Los piensos variaron en el porcentaje de guisante (0 vs. 30%) pero también en el de soja y en otros ingredientes (Tabla 1) para que los piensos fueran iso-energéticos (11,80 MJ Energía metabolizable/kg MS) e iso-proteicos (17,5%). Los animales contaron con pienso, paja, agua y suplemento de sal y vitaminas a voluntad hasta que alcanzaron los 22-24 kg, momento en el cual se sacrificaron. Semanalmente los corderos se pesaban a primera hora de la mañana.

**Tabla 1. Ingredientes de los piensos de cebo utilizados**

	Control	30%
Cebada 2 carreras	27,26	11,39
Maíz nacional	25,68	9,22
Harina soja 47	22,43	10,00
Trigo blando	20,00	30,00
Guisantes 22/11	0,00	30,00
Salvado 20%	0,00	6,09
Carbonato cálcico	1,53	1,32
Melaza caña	1,50	0,00
Ac. Palma	1,00	1,37

Tras el sacrificio, las canales se desollaron, evisceraron y pesaron para obtener el peso de la canal caliente (PCC). Seguidamente se mantuvieron a 4 °C durante 24 horas en oscuridad. Tras el oreo, se pesaron PCF) y se procedió a medir el color de la grasa subcutánea caudal y del músculo *Rectus abdominis*, sin la fascia que lo recubre, con un espectrofotocolorímetro Minolta CM2600d. La grasa renal se extrajo y se peso

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

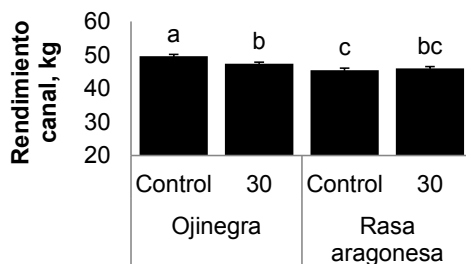
La inclusión de guisante en el pienso no afectó al peso al sacrificio, peso canal o peso de la grasa renal ( $P>0,05$ ) al igual que se encontró cuando se sustituyó parcialmente la torta de soja por un 24% de guisante en corderos de raza Rasa Aragonesa (Purroy y Surra, 1990) y en corderos de raza Barbaresca sacrificados a mayor peso (Lanza et al., 2003).

**Tabla 2. Efecto de la inclusión de guisante (G) y la raza (R) sobre las características de la canal de corderos categoría ternasco.**

	Inclusión Guisante		Raza		RECM <sup>2</sup>	P-valor <sup>1</sup>	
	Control	30	Ojinegra	Rasa		G	R
n	30	30	33	27			
Peso sacrificio, kg	23,2	23,4	23,4	23,1	0,8	0,27	0,19
Peso canal caliente, kg	11,0	10,9	11,4	10,6	0,5	0,51	0,001
Rendimiento canal, %	47,57	46,69	48,51	45,75	2,03	0,10	0,001
Peso grasa renal, g	95,9	100,3	115,6	80,5	28,8	0,56	0,001
pH	5,64	5,65	5,65	5,63	0,08	0,69	0,32
Color Rectus Abdominis							
Luminosidad (L*)	46,28	46,88	45,19	47,96	2,19	0,30	0,001
Índice de rojo (a*)	10,95	11,23	13,13	9,06	1,53	0,48	0,001
Índice de amarillo (b*)	9,06	10,13	9,14	10,04	1,53	0,01	0,03
Saturación (H°)	40,10	42,62	34,67	48,05	5,53	0,08	0,001
Croma (C*)	14,40	15,27	16,07	13,60	1,63	0,04	0,001
Color grasa subcutánea							
Luminosidad (L*)	68,43	69,00	67,53	69,90	2,42	0,36	0,001
Índice de rojo (a*)	3,08	3,02	3,38	2,72	1,21	0,85	0,04
Índice de amarillo (b*)	11,09	12,08	11,36	11,81	1,88	0,049	0,36
Saturación (H°)	74,72	76,16	73,50	77,39	4,76	0,25	0,003
Croma (C*)	11,54	12,50	11,89	12,16	2,01	0,07	0,61
SUM	84,7	120,5	97,8	107,4	39,9	0,001	0,35

<sup>1</sup> la interacción entre los dos factores no fue significativa excepto para el rendimiento canal caliente; <sup>2</sup> raíz del error cuadrático medio

El rendimiento canal se vio afectado por la interacción entre la inclusión de guisante en el pienso y la raza ( $P<0,01$ ). La inclusión de guisante en el pienso redujo el rendimiento canal en la raza Ojinegra de Teruel ( $P<0,01$ ) mientras que no tuvo efecto en la raza Rasa Aragonesa ( $P=0,50$ ) (Figura 1).



**Figura 1. Rendimiento canal caliente según la raza y la inclusión de guisante en el pienso de los corderos.** Las barras verticales indican el error estándar de la media. Medias con diferente letra indican diferencias al  $P<0,05$

Con respecto al color del músculo *Rectus abdominis* y de la grasa subcutánea, la inclusión de guisante afectó a pocos parámetros. En el músculo *Rectus abdominis*

incrementó el índice de amarillo ( $P < 0,01$ ) y el croma ( $P < 0,05$ ), mientras que en la grasa subcutánea afectó al índice de amarillo ( $P < 0,05$ ) y del estimador de carotenoides (SUM) ( $P < 0,001$ ) y tendió a incrementar el croma ( $P < 0,10$ ) (Tabla 2). La causa de estas diferencias podría estar relacionada con una mayor concentración de carotenoides en el pienso con 30% de guisante. La inclusión del 19 y 39% de guisante no afectó al color de la grasa subcutánea en corderos de raza Barbaresca (Lanza et al., 2003). Se desconocen las variedades del guisante incluido en ambos ensayos, que tal vez difirieran en los carotenoides.

La raza afectó a las principales características de la canal (Tabla 2). Los corderos de raza Ojinegra de Teruel presentaron mayor peso canal y por tanto mayor rendimiento canal que los de raza Rasa Aragonesa. Las canales de raza Ojinegra de Teruel presentaron mayor peso de la grasa renal que los de raza Rasa Aragonesa ( $P < 0,001$ ), a pesar de haberse sacrificado ambas razas con un peso vivo similar. Estas diferencias pueden ser debidas a que la raza Ojinegra es más precoz y de menor formato (Arrufat, 1982) que la raza Rasa Aragonesa. La raza afectó a la mayoría de los parámetros de color tanto en el músculo *Rectus abdominis* como en la grasa subcutánea ( $P < 0,001$ ). El músculo de la raza Rasa Aragonesa presenta una mayor luminosidad, índice de amarillo y saturación y menor índice de rojo y croma que el de la raza Ojinegra. La grasa de la raza Rasa Aragonesa presenta mayor luminosidad y Croma y menor índice de rojo que la de raza Ojinegra

Se puede concluir que, en general, la inclusión de guisante no tiene negativos sobre las características de la canal pudiéndose incluir en ambas razas. Las canales de ambas razas presentan diferencias importantes.

#### REFERENCIAS

- Arrufat, A. (1982). VII Jornadas de la SEOC 441-446.
- Colonna M.A., et al. (2014). Prog. Nutr. 16: 39-51.
- Facciolongo, A.M. et al. (2014). Prog. Nutr. 16: 105-115.
- Karlsson L., Martinsson K. (2011). Livest Sci. 138: 125-131.
- Lanza, M. et al. (2003). Small Rumin. Res. 47: 63-68.
- Purroy, A., Surra, J. (1990). Arch. Zootec. 39: 59-66.
- Purroy A., et al. (1992). ITEA 88A: 63-69.
- Van Krimpen M.M., et al. (2013). Report 662, Wageningen UR Livestock Research.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen su colaboración a AGROJI y al personal del CITA. Este proyecto ha sido financiado con el Fondo de inversiones de Teruel, Fondos Feder y el proyecto INIA RTA2014-00038-C02-01. Contrato de M. Blanco financiado por INIA-FSE.

#### INCLUSION OF FIELD PEA IN THE FATTENING DIET ON CARCASS CHARACTERISTICS OF LIGHT LAMBS OF OJINEGRA DE TERUEL Y RASA ARAGONESA BREEDS

**ABSTRACT:** The aim of the study was to compare carcass characteristics due to the inclusion of a 30% of field pea in the fattening concentrate in two breeds of light lambs: Ojinegra de Teruel and Rasa Aragonesa. From weaning to slaughter at 22-24 kg, lambs were fed either a commercial concentrate (control) or a concentrate with a 30% of field pea. The inclusion of field pea had mild effects on most carcass parameters. Carcass yield was affected by the interaction between the inclusion of field pea and the breed ( $P < 0,01$ ), as it reduced carcass yield in Ojinegra de Teruel breed but had no effect in Rasa Aragonesa breed. The inclusion of field pea affected yellowness and chroma of *Rectus abdominis* muscle and yellowness and the estimator of carotenoid measured in subcutaneous fat. Breed had an important effect on carcass characteristics as Ojinegra breed is more precocious than Rasa Aragonesa breed. Consequently, a 30% of field pea can be included in the fattening concentrate of light lambs without deleterious effects.

**Keywords:** *Pisum sativum*, carcass yield, subcutaneous fat colour, concentrates, soya

## **MOLTURA DE AJO EN LA PRODUCTIVIDAD, PARÁMETROS SANGUÍNEOS Y CALIDAD DE LA CANAL DE CORDEROS LIGEROS TIPO TERNASCO**

Resconi, V.C., Sañudo, C., Kirinus, J., Passetti, R., Campo, M.M., María, G.A. y Abecia, J.A. Dep. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Fac. de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177. CP 50013. Zaragoza, España. E-mail: resconi@unizar.es

### **INTRODUCCIÓN**

Mejorar la sanidad de los animales, prevenir enfermedades, incrementar los índices productivos y de bienestar animal y el rendimiento económico de la canal, junto con la calidad del producto, son objetivos del sector ovino. La utilización de alternativas naturales en la alimentación animal es hoy en día, más que un camino para conseguir dichos objetivos, una necesidad, particularmente en sistemas de producción ecológica. El ajo es un producto con una imagen positiva en la mente del consumidor, por su apreciación culinaria y por sus potenciales efectos positivos sobre la salud. Su adición en la dieta de corderos de cebo podría acercarnos a las metas mencionadas. El ajo (*Allium sativum* L.) posee una gran variedad de propiedades beneficiosas, tales como antimicrobianas (Yoshida et al., 1998), antiparasitarias, anti-inflamatorias (Dkhil et al., 2011) y antioxidantes (Gorinstein et al., 2005), que podrían repercutir favorablemente sobre el animal. El ajo en polvo se ha propuesto, además, como alternativa de antibióticos promotores del crecimiento en terneros (Gholipour et al., 2016) y alguno de sus componentes, como estrategia alimentaria para reducir la producción de metano, ya que puede modificar la población ruminal (Ma et al., 2016). Por otro lado, el ofrecer alimentos aromatizados podría además influir en la cantidad ingerida por el animal (Distel et al., 2007). Asimismo, el ajo puede modular el metabolismo de lípidos (Prasad et al., 2009), lo que podría repercutir en obtener canales menos engrasadas.

El objetivo de este trabajo es valorar la posibilidad del reemplazo de piensos medicamentados por este aditivo natural, evaluando el efecto de la moltura de ajo en el cebo de corderos ligeros en variables productivas, parámetros sanguíneos, calidad de la canal y pH de la carne.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 36 corderos de tipo entrefino, machos y hembras, nacidos en las instalaciones del SEA de la Universidad de Zaragoza. Tras el destete, los animales equilibrados por peso vivo y sexo, en cuatro grupos experimentales (nueve animales por grupo), recibieron una dieta de adaptación durante siete días. Los grupos fueron: 1) Control, con pienso comercial; 2) Medicación, pienso comercial y premezcla medicamentosa (Clortetraciclina 10% + decoquinato 36 ppm); 3) Ajo, pienso comercial con 0,6% de complemento con 80% de moltura de ajo morado; y 4) Ajo + medicación, pienso comercial y la misma dosificación de ajo y medicamentos que en los grupos 2 y 3.

Los animales de cada grupo experimental se distribuyeron en cuatro boxes con tres o dos animales cada uno, considerados como unidad experimental. Cada box disponía de 2 m<sup>2</sup> por cabeza, sobre suelo elevado, enrejillado sin paja y acceso al agua, pienso y paja larga de cereal *ad libitum*. La nave experimental disponía de control automático de temperatura, humedad y ventilación. Semanalmente se procedió al pesado de los animales y al control del consumo de pienso. El periodo experimental duró 30 días, transcurridos los cuales, cesó la medicación y los animales estuvieron 10 días antes del sacrificio en un periodo de supresión tal y como señala la legislación vigente, tomando el pienso correspondiente sin medicación. Al principio y al final del periodo experimental se extrajo sangre de la yugular (hemograma y variables de estrés fisiológico). Los animales fueron transportados de forma conjunta al matadero (MercaZaragoza) el día anterior a su sacrificio. Una vez sacrificados, las canales fueron llevadas a las instalaciones de Grupo Pastores Cooperativo, donde permanecieron en refrigeración durante 24 horas. De cada canal se registró su peso y su clasificación por conformación y engrasamiento.

Los datos se analizaron utilizando un modelo lineal general para un diseño factorial (2x2) con el efecto adición de ajo y adición de medicamento como efectos fijos (SPSS, v. 22.0).



**Tabla 1.** Media (desviación estándar) en variables productivas, sanguíneas y de calidad de la canal y pH de la carne, según el grupo experimental

	Control	Medicación	Ajo	Ajo + Med.	P ajo	P med	P AxM
PV inicio experimento (kg)	14,3 (2,8)	14,3 (3,1)	14,3 (3,4)	14,2 (3,2)	ns	ns	ns
PV final experimento (kg)	22,5 (3,2)	23,0 (4,5)	22,4 (4,1)	23,2 (4,8)	ns	ns	ns
GMD <sup>1</sup> (g/d)	276 (50)	288 (64)	273 (57)	299 (69)	ns	ns	ns
IMD <sup>2</sup> (g/d)	726 (92)	742 (113)	744 (118)	803 (138)	ns	ns	ns
Eficiencia de conversión	2,72 (0,57)	2,65 (0,56)	2,81 (0,63)	2,77 (0,55)	ns	ns	ns
Cortisol (nmol/l)	61,1 (36,7)	47,6 (25,2)	53,8 (23,3)	57,5 (24,4)	ns	ns	ns
Glucosa (mg/dl)	101,1 (10,6)	96,9 (9,3)	96,1 (6,0)	97,8 (8,1)	ns	ns	ns
Lactato (mmol/l)	35,8 (8,0)	33,5 (22,6)	33,3 (9,9)	31,5 (12,6)	ns	ns	ns
NEFA <sup>3</sup> (mmol/l)	0,07 (0,06)	0,04 (0,03)	0,04 (0,04)	0,02 (0,01)	ns	*	ns
Creatina quinasa (IU/l)	234,2 (153,6)	240,2 (152,0)	147,3 (34,1)	164,0 (55,5)	ns	ns	ns
Neutrófilos:Linfocitos	0,41 (0,13)	0,34 (0,11)	0,38 (0,11)	0,64 (0,55)	ns	ns	ns
Hematocrito (%)	47,7 (2,8)	42,5 (3,4)	44,7 (3,3)	45,4 (2,8)	ns	*	**
Hematíes (mill./mm <sup>3</sup> )	12,8 (1,0)	11,8 (0,8)	12,0 (0,6)	12,6 (0,9)	ns	ns	*
Hemoglobina (g/dl)	11,7 (0,6)	12,6 (0,9)	12,8 (1,0)	13,5 (0,8)	ns	ns	**
Eosinófilos / mm <sup>3</sup>	179,4 (158,0)	54,4 (13, 8)	59,5 (24,0)	85,9 (51,5)	ns	*	**
Eosinófilos (%)	2,40 (2,88)	0,69 (0,19)	0,77 (0,35)	1,32 (1,12)	ns	ns	*
Linfocitos (%)	67,0 (7,5)	71,2 (5,1)	69,1 (5,1)	60,3 (13,5)	ns	ns	*
PV al sacrificio (kg)	26,5 (3,3)	26,2 (5,0)	25,8 (4,3)	26,2 (5,2)	ns	ns	ns
Peso de la canal fría (kg)	11,8 (1,5)	11,8 (2,6)	11,8 (2,3)	11,7 (2,5)	ns	ns	ns
Rendimiento de canal	44,7 (1,8)	44,7 (2,9)	45,7 (2,9)	44,6 (0,9)	ns	ns	ns
Conformación <sup>4</sup>	2,83 (0,61)	3,17 (0,79)	3,28 (0,79)	2,61 (0,78)	ns	ns	ns
Engrasamiento <sup>5</sup>	3,33 (0,50)	3,06 (0,85)	3,33 (0,90)	3,00 (0,75)	ns	ns	ns
pH 24 h	5,77 (0,11)	5,72 (0,05)	5,77 (0,10)	5,76 (0,07)	ns	ns	ns

<sup>1</sup>ganancia media diaria, <sup>2</sup>ingestión media diaria, <sup>3</sup>ácidos grasos no esterificados. <sup>4</sup>1: pobre a 5: excelente (canales < 13 kg), <sup>5</sup>1: muy escasa a 4: importante (Colomer-Rocher et al., 1988). \*\*  $P < 0,01$ , \*  $P < 0,05$ , ns  $P > 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias significativas entre grupos experimentales en ninguno de los parámetros de crecimiento o consumo estudiados (Tabla 1). Los resultados son técnicamente aceptables considerando el tipo de animal utilizado en el estudio. Golipour et al. (2016) en terneros suplementados con un 0,5% de la MS de ajo, observaron un aumento en la ganancia diaria de peso y en la eficiencia de conversión. Sin embargo, en otros estudios en ovinos, el ajo no afectó a la productividad (Bampidis et al., 2005; Chaves et al., 2008).

De modo global, los resultados obtenidos para las variables de estrés y hemograma se encuentran dentro del rango de valores normales para la especie y edad (Tabla 1). No se detectaron diferencias relevantes en las variables de respuesta de estrés en ninguno de los grupos experimentales. Únicamente se observó una ligera reducción ( $P < 0,05$ ) de la concentración de NEFA, el hematocrito y los eosinófilos en las dietas medicadas. Los resultados coinciden con otros estudios en ovinos realizados por Anassori et al. (2015), quienes observaron que ni el ajo crudo ni el aceite de ajo modificaron los parámetros sanguíneos, aunque la concentración sanguínea de NEFA sí disminuyó con la

suplementación de monensina, lo que se implica una favorable menor movilización de la grasa.

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en ninguno de los parámetros de la canal estudiados, como así tampoco en el pH de la carne (Tabla 1), aunque el mismo es poco elevado para este tipo de animales. Chaves et al. (2008) tampoco observaron efecto de aceites esenciales de ajo, cinamaldehído o bayas de enebro en las características de la canal de corderos en cebo; ni Bampidis et al. (2005) utilizando cabezas o cáscara de ajo. Sin embargo, en broilers, se recomienda la suplementación en dietas de 2,25 ml/kg de extracto de ajo líquido, ya que mejora el peso vivo y la calidad de la canal y disminuye la mortalidad durante el período de cría (Brzóska et al., 2015). Por otro lado, Ao et al. (2011) observaron un descenso en el pH de pechugas de pollo con ciertas dosis de polvo de ajo fermentado, respecto a una dieta control.

En general, en este trabajo, no se ha demostrado una influencia significativa debida a la adición de ajo durante 40 días en la dieta de corderos de cebo, sobre la salud del animal, la productividad o la calidad de la canal. Para poder confirmar la utilidad del ajo en estos sistemas, se podrían evaluar distintas dosis o tiempos de administración, presentaciones del producto, combinaciones con otros aditivos naturales, y utilizar animales con problemas sanitarios o de estrés.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anassori, E. et al. 2015. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 99: 114-122.
- Ao, X. et al. 2011. *Livest. Sci.* 141: 85-89.
- Bampidis, V.A. et al. 2005. *Anim. Feed Sci. Tech.* 121: 273-283.
- Brzóska, F. et al. 2015. *Ann. Anim. Sci.* 15: 961-975.
- Colomer-Rocher, F. et al. 1988. *INIA*, 17: 41 pp.
- Distel, R.A. et al. 2007. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 105: 232-237.
- Dkhil, M.A. et al. 2011. *Vet Parasitol.* 175: 66-72.
- Chaves, A.V. et al. 2008. *Livest. Sci.* 117: 215-224.
- Gholipour, A. et al. (2016). *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 100: 623-628.
- Gorinstein, S. et al. 2005. *J. Agric. Food Chem.* 53: 2726-2732.
- Ma, T. et al. 2016. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 7: 1.
- Prasad, R. et al. 2009. *Int. J. Poult. Sci.* 8: 270-276.
- Yoshida, H. et al. 1998. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 1014-1017.

**Agradecimientos:** SEA de la Universidad de Zaragoza y Grupo Pastores Cooperativo. V.C. Resconi disfruta de un contrato del Programa Juan de la Cierva-Incorporación (Ministerio de Economía y Competitividad).

### GARLIC POWDER IN ANIMAL PERFORMANCE, BLOOD MEASURES AND CARCASS QUALITY FROM LIGHT LAMBS

**ABSTRACT:** Natural alternatives are gaining popularity in animal feeding and are a requirement in organic production. The aim of this experiment was to evaluate the effect of adding garlic powder in the finishing diet of light lambs under intensive production, in blood profiles, carcass quality and pH, and to assess the potential use of this natural additive as replacer of preventive medicines. Therefore, 36 animals were allocated in four groups: 1) Control (commercial concentrate), 2) Medicine (control + chlortetracycline 10% and decoquinat 36 ppm), 3) Garlic (control + 0.6% of garlic powder), and 4) Garlic + Medicine. In general, 40 days of supplementation of feeding with garlic in finishing light lambs did not showed a clear response in health, productivity, blood profiles, carcass characteristics and pH. It is recommended to further study different doses, presentations of the product, time on feed, combinations with other natural additives and to use animals with initial high health or stress problems, before discard the utility of this product.

**Keywords:** finishing diet, garlic, lamb production, animal welfare

## EFFECTO DEL SISTEMA DE ALIMENTACION DE LA OVEJA DURANTE LA LACTACION SOBRE LOS CONTENIDOS DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES EN LOS TEJIDOS DEL CORDERO CATEGORIA TERNASCO

Rufino-Moya P.J., Lobón, S., Blanco, M., Bertolín, J.R. y Joy, M.  
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. mjoy@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) y la esparceta (*Onobrychis viciifolia* Scop.) pueden ser pastadas por ovino como alternativa a la alimentación estabulada con una mezcla completa. Ambas leguminosas tienen un alto valor nutritivo y una gran capacidad productiva, pero difieren en la presencia de taninos condensados, que tiene la esparceta. La alimentación con forrajes frescos incrementa la concentración de vitaminas liposolubles en los tejidos y en la leche frente a la alimentación con concentrado en ovino (Álvarez et al., 2014; Valdivieso et al., 2015). Además, los taninos condensados aumentan la concentración de vitaminas liposolubles en el suero de terneros (Shabtay et al., 2008), lo que podrían afectar a la deposición de dichas vitaminas en los tejidos, sin embargo dicha acción no se ha estudiado en ovino. Los corderos lactantes adquieren principalmente dichas vitaminas liposolubles a través de la leche materna (Radu et al., 2015). Pero, el cebo posterior se realiza con paja y concentrado *ad libitum*, pobres en dichas vitaminas, que reduce su concentración en los tejidos (Prache et al., 2003). El objetivo del ensayo fue estudiar el efecto del sistema de alimentación durante la lactación (Alfalfa vs. Esparceta vs. Mezcla completa) sobre la concentración de vitaminas liposolubles en distintos tejidos de corderos ligeros tras ser destetados y cebados con concentrado y paja.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la Finca Experimental de Soto Lezcano (Zaragoza) de abril a junio de 2014. Se utilizaron 31 parejas de oveja-cordero de raza Rasa Aragonesa distribuidas en 3 tratamientos según peso, condición corporal y edad de las ovejas, así como en el peso de los corderos. Durante la lactancia (45-50 días), 10 parejas oveja-cordero permanecieron en pastoreo de alfalfa, 11 parejas en pastoreo de esparceta y 11 parejas estabuladas. Las ovejas estabuladas fueron alimentadas con una mezcla completa [paja de cebada (50%), cebada (12%), maíz (12%), grano proteico 17% PB (9%), torta de colza (7%), melaza de remolacha (4%) y torta de soja (3%)]. Los corderos recibieron pienso comercial (35% maíz, 24% harina de soja, 20% trigo y 15% cebada) durante la lactación para facilitar la transición al cebo. Tras el destete, todos los corderos fueron estabulados y recibieron el pienso comercial descrito anteriormente y paja *ad libitum*. Los animales tuvieron libre disposición de agua y sales minerales a lo largo del experimento. Cuando los corderos alcanzaron el peso de 22-24 kg, se sacrificaron y las canales se orearon (24 h a 4°C). Se tomaron muestras del músculo *Longissimus dorsi*, hígado, grasa perirrenal y grasa subcutánea caudal. Además se tomaron muestras semanales de los alimentos. Las muestras de alimento, músculo e hígado se liofilizaron y molieron. Todas las muestras se congelaron a -80 °C hasta su análisis. La extracción y determinación de los carotenoides y tocoferoles de los alimentos y tejidos animales se realizó según Rufino-Moya et al. (2017). Se calculó la concentración media de los carotenoides y tocoferoles en los alimentos. La concentración en los tejidos animales se utilizó un modelo lineal generalizado con el sistema de alimentación como efecto fijo. La comparación de medias se corrigió con el test de Tukey.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración en carotenoides y  $\alpha$ -tocoferol fue más alta en los forrajes que en la mezcla completa (Tabla 1). La esparceta presentó mayor contenido en zeaxantina, luteína,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol que la alfalfa. En la mezcla completa se detectaron bajas cantidades de zeaxantina, luteína y en mayor cantidad  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol, siendo este último más alto que los forrajes, debido a los ingredientes usados en su fabricación. El sistema de alimentación de la oveja durante la lactación afectó al retinol y tocoferoles de distinta manera según el tejido animal (Tabla 2). En el músculo, la concentración de retinol fue similar a pesar de la diferente ingestión de  $\beta$ -caroteno ( $P>0,05$ ) (Tabla 2). En cambio, el

sistema de alimentación de la oveja afectó al contenido en  $\alpha$ -tocoferol en el músculo del cordero ( $P<0,001$ ), siendo mayor en el tratamiento Esparceta, seguido por el de Alfalfa y menor en el Mezcla ( $P<0,05$ ). Mientras que la concentración de  $\gamma$ -tocoferol tendió a ser diferente según la alimentación de la oveja ( $P<0,10$ ). Los corderos lactantes alimentados con leche materna o lactoreemplazante enriquecido, cuya diferencia en retinol fue del 28%, mostraban diferente concentración de retinol depositado en el músculo (Osorio et al., 2008). Dado, que en este caso, las diferencias en  $\beta$ -caroteno entre alimentos de la oveja fueron mayores, podría ser que el cebo posterior haya eliminado las diferencias en retinol. Estos mismos autores obtuvieron diferencias en el contenido en  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol del músculo cuando contenido en  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol en la leche difirió en 90% y 98%, respectivamente. En nuestro caso podría ser que las diferencias de  $\gamma$ -tocoferol entre alimentos no fueron suficientes para crear diferencias significativas.

**Tabla 1.** Contenido de carotenoides y tocoferoles en los alimentos (media  $\pm$  error estándar).

	Alfalfa	Esparceta	Mezcla	Concentrado
Neoxantina, $\mu\text{g/g MS}$	36,3 $\pm$ 4,57	30,6 $\pm$ 2,92	n.d.	n.d.
Violaxantina, $\mu\text{g/g MS}$	37,6 $\pm$ 5,43	32,5 $\pm$ 4,26	n.d.	n.d.
Zeaxantina, $\mu\text{g/g MS}$	4,0 $\pm$ 0,42	6,7 $\pm$ 0,65	0,1 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,05
Luteína, $\mu\text{g/g MS}$	121,1 $\pm$ 15,09	137,4 $\pm$ 11,86	0,2 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,04
$\beta$ -caroteno, $\mu\text{g/g MS}$	42,8 $\pm$ 5,43	82,9 $\pm$ 8,04	n.d.	n.d.
$\alpha$ -tocoferol, $\mu\text{g/g MS}$	38,2 $\pm$ 5,19	96,7 $\pm$ 7,93	6,2 $\pm$ 0,37	12,2 $\pm$ 0,88
$\gamma$ -tocoferol, $\mu\text{g/g MS}$	3,1 $\pm$ 0,43	6,3 $\pm$ 0,51	38,7 $\pm$ 2,40	5,1 $\pm$ 0,78

n.d.=no detectado

El sistema de alimentación de la oveja en la lactación afectó al contenido en retinol en el hígado de los corderos ( $P<0,01$ ), siendo mayor en los de Esparceta que en los de Alfalfa y Mezcla ( $P<0,05$ ) en respuesta a los diferentes contenidos  $\beta$ -caroteno de los alimentos (Donoghue et al., 1983).

**Tabla 2.** Concentración de vitaminas liposolubles en los tejidos del cordero según el sistema de alimentación de la oveja en lactación.

	Alfalfa	Esparceta	Mezcla	RECM <sup>1</sup>	P-valor
n	10	10	11		
<b>Músculo</b>					
Retinol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,03	0,03	0,03	0,01	0,38
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	1,04 <sup>b</sup>	1,49 <sup>a</sup>	0,53 <sup>c</sup>	0,32	0,001
$\gamma$ -tocoferol( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,17	0,16	0,19	0,03	0,09
<b>Hígado</b>					
Retinol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	4,50 <sup>b</sup>	10,86 <sup>a</sup>	2,89 <sup>b</sup>	4,92	0,002
Luteína (ng/g MF)	7,41	8,52	3,36	5,74	0,11
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,42	0,42	0,4	0,29	0,98
$\gamma$ -tocoferol( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,17	0,16	0,2	0,09	0,49
<b>Grasa renal</b>					
Retinol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	1,31 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	0,54 <sup>b</sup>	0,46	0,001
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	3,00 <sup>b</sup>	4,99 <sup>a</sup>	1,69 <sup>c</sup>	1,41	0,001
$\gamma$ -tocoferol( $\mu\text{g/g MF}$ )	1,33	1,42	1,46	0,42	0,74
<b>Grasa Subcutánea</b>					
Retinol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,88 <sup>b</sup>	1,11 <sup>a</sup>	0,44 <sup>c</sup>	0,23	0,001
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	3,10 <sup>b</sup>	5,00 <sup>a</sup>	1,50 <sup>c</sup>	1,52	0,001
$\gamma$ -tocoferol( $\mu\text{g/g MF}$ )	1,03	1,03	1,15	0,30	0,67

<sup>1</sup> Raíz error cuadrático medio

Las concentraciones de luteína,  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol en el hígado fueron similares ( $P>0,05$ ), pudiendo haberse diluido las posibles diferencias debido al cebo con pienso bajo en carotenoides y tocoferoles ya que la suplementación con pulpa de cítrico rica en  $\alpha$ -tocoferol afectó a la deposición en hígado en corderos (Luciano et al., 2016).

El sistema de alimentación afectó a la deposición de retinol en ambos depósitos grasos ( $P<0,001$ ). Los corderos de Alfalfa y Esparceta presentaron un contenido en retinol superior a los corderos de Mezcla. Los corderos de Alfalfa y Esparceta presentaron similar concentración de retinol en la grasa renal pero diferente en la subcutánea. Estas diferencias pueden ser debidas a que los carotenoides se depositan más en la grasa perirrenal que en la grasa subcutánea en corderos (Priolo et al., 2002). La alimentación de la madre afectó al contenido en  $\alpha$ -tocoferol en ambos depósitos grasos de manera similar ( $P<0,001$ ), presentando el mayor contenido la grasa de los corderos de Esparceta, intermedio la de los de Alfalfa y el menor la de los de Mezcla. De manera similar, los corderos de pastoreo presentaron mayor retinol y  $\alpha$ -tocoferol en la grasa perirrenal que los alimentados con concentrado (Álvarez et al., 2014). El  $\gamma$ -tocoferol no presentó diferencias en ambos depósitos grasos.

Como conclusión, el sistema de alimentación de la oveja durante la lactación afectó de manera diferente a las concentraciones de retinol y tocoferoles en los distintos tejidos animales. Hay que seguir investigando sobre los compuestos o combinación de compuestos pueden ser usados para discriminar el sistema de alimentación de la madre lactante y asegurar la trazabilidad al consumidor.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez, R., et al. 2014. J. Food. Compos. Anal. 36: 59-65. • Donoghue, S., et al. 1983. Br. J. Nutr. 50: 235-248. • Luciano, G., et al. 2016. Anim. doi:10.1017/S1751731116001683. • Osorio, M.T., et al. 2008. Small Rum. Res. 78: 1-12. • Prache, S., et al. 2003. Anim. Sci. 77: 225-245. • Priolo, A., et al. 2002. Meat Sci. 62: 179-185. • Radu, C., et al. 2015. XVI Jornadas sobre Producción Animal: 167-169. • Rufino-Moya, P.J. et al 2017. XVII Jornadas sobre Producción Animal. • Shabtay, A. et al. 2008. J. Agric. Food Chem. 56: 10063-10070. • Valdivieso, I., et al. 2015. J. Dairy Res. 82: 334-443.

**Agradecimientos:** Financiado por INIA (RTA 2012-00080-00-00). P.J. Rufino-Moya, S. Lobón y M. Blanco con contrato financiado por INIA, DGA e INIA-FSE, respectivamente. Los autores quieren agradecer su trabajo y dedicación al personal del CITA. J.R. Bertolín con contrato financiado por MINECO-empleo joven. Los autores expresan su agradecimiento al personal del CITA.

#### EFFECT OF THE DAM'S FEEDING SYSTEM DURING LACTATION ON FAT-LIPOSOLUBLE VITAMINS ON THE TISSUES OF LIGHT LAMBS

**ABSTRACT:** The effects of the dam's feeding system during suckling on the content of carotenoids, liposoluble vitamins (retinol and tocopherols) in the tissues (muscle, liver and fat) of light lambs were assessed. Three feeding systems during lactation were considered: ewe-lamb pairs grazed alfalfa, ewe-lamb pairs grazed sainfoin and ewe-lamb pairs were stalled and dams were fed a total mixed ration (TMR). After weaning ( $42\pm 2$  days), lambs were fed a fattening concentrate until 22-24 kg, when they were slaughtered. Carotenoids and tocopherol contents were analyzed in feedstuffs and animal tissues by UPLC analyses. Sainfoin and alfalfa had greater carotenoids and  $\alpha$ -tocopherol contents than TMR. The dam's feeding system affected  $\alpha$ -tocopherol content in the muscle, presenting the greatest content Sainfoin, intermediate Alfalfa and the lowest TMR lambs ( $P<0,001$ ). The dam's feeding system affected retinol content in the liver ( $P<0,01$ ), presenting Sainfoin lambs greater content than Alfalfa and TMR lambs. The dam's feeding system affected retinol and  $\alpha$ -tocopherol in both adipose tissues of the lamb ( $P<0,001$ ). Sainfoin and Alfalfa lambs had greater contents than TMR lambs in both adipose tissues. In conclusion, grazing during lactation increased contents of liposoluble vitamins, but differently in the tissues of the lamb. More research is needed to propose them as biomarkers of forage feeding.

**Keywords:** *Onobrychis viciifolia*, *Medicago sativa*, grazing, tocopherol, retinol.

## **EFFECTO DEL TIPO DE ALIMENTACIÓN EN OVEJAS EN LACTACIÓN SOBRE LAS VITAMINAS LIPOSOLUBLES EN LOS TEJIDOS DEL CORDERO LECHAL**

Rufino-Moya, P.J., Lobón, S., Blanco, M., Bertolín, J.R. y Joy, M.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. mjoy@aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

El sistema de producción tradicional de corderos ligeros en España está basado en una alimentación de concentrado y paja *ad libitum*. Cuando la disponibilidad de forraje es alta, las ovejas con sus corderos pueden pastar las praderas sin tener ningún efecto perjudicial sobre los parámetros productivos de la oveja ni del cordero (Joy et al., 2012). La presencia de vitaminas liposolubles en el tejido animal pueden influir de forma positiva sobre el color (Ripoll et al., 2013) y la vida útil de la carne (Kasapidou et al., 2012). Su presencia en los tejidos animales se debe a su ingestión a partir de los alimentos, que en el caso de los corderos lechales es la leche (Radu et al., 2015). Por ello es importante conocer cómo influye el tipo de dieta que recibe la oveja en lactación sobre el contenido y la deposición de dichas vitaminas en los distintos tejidos. El objetivo del estudio fue determinar la influencia del tipo de forraje de la dieta de la oveja (Pradera vs. Heno de pradera) sobre el contenido de las vitaminas liposolubles en el tejido (músculo, hígado y grasa) del cordero lechal.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El experimento se llevó a cabo en la finca experimental “La Garcipollera” perteneciente al CITA durante la primavera de 2014. Se utilizaron 39 ovejas y sus crías procedentes de parto simple y se distribuyeron al azar (Lobón et al., 2015) en dos lotes según el tipo de forraje ofrecido durante la lactación: pastoreo de pradera (FND: 44,6%; FAD: 18,5%; PB: 23,9%) o heno de pradera (FND: 63,3%; FAD: 33,8%; PB: 6,9%) en estabulación. Diariamente las ovejas recibieron 300 g de concentrado. Cuando los corderos alcanzaron el peso sacrificio de 10-12 kg PV (categoría lechal) se sacrificaron y tras el oreo (24 h a 4°C) se tomaron muestras del músculo *Longissimus dorsi*, hígado, grasa perirrenal y grasa subcutánea caudal. También se tomaron muestras de los alimentos a lo largo de todo el ensayo. Las muestras fueron congeladas a -80°C y en el caso de los alimentos, músculo e hígado fueron liofilizadas y molidas.

La extracción de los carotenoides y tocoferoles de los alimentos se realizó en metanol: acetona: éter de petróleo 1:1:1 (v:v:v) con antioxidante (BHT). En las restantes muestras, la extracción se realizó a través de hexano:acetato de etilo 9:1 (v:v) con BHT según lo establecido por Prates et al. (2006). La determinación se realizó mediante UPLC (Acquity H-Class, Waters), empleando una columna Acquity UPLC HSS T3 2,1 mm x 15 mm x 1,8 µm usando el procedimiento cromatográfico descrito por Chauveau-Duriot et al. (2010) en el caso de los alimentos, y una fase móvil de metanol:ACN 85:15 (v:v) con un flujo de 0,3 ml/min para los tejidos animales. Se utilizó un detector de absorbancia UV-VIS para la identificación y cuantificación de los carotenoides ( $\lambda_{\text{abs}} = 450 \text{ nm}$ ) y del retinol (325 nm) y un detector de fluorescencia para los tocoferoles ( $\lambda_{\text{abs}} = 295 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{emis}} = 330 \text{ nm}$ ). Se calculó la concentración media y el error estándar de los carotenoides y tocoferoles en los alimentos. Se utilizó un modelo lineal generalizado para analizar las concentraciones en los tejidos con el tipo de forraje como efecto fijo. Se utilizó el test de Tukey para la separación de medias.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La pradera presentó contenidos en carotenoides y tocoferoles muy superiores al heno de pradera (Tabla 1), como consecuencia de las pérdidas que se producen durante el proceso de henificación (Cardinault et al., 2004). En ambos forrajes, la luteína y  $\beta$ -caroteno fueron los carotenoides mayoritarios, aunque en diferente proporción. Mientras la neoxantina, zeaxantina y violoxantina presentaron concentraciones inferiores al 10%, la luteína supuso un 70% en el heno y un 48% en la pradera fresca del total del contenido en carotenoides. En el caso del  $\beta$ -caroteno, supuso el 12% en el heno y el 36% en la pradera. De manera similar, el  $\alpha$ -tocoferol fue la isoforma mayoritaria en ambos forrajes difiriendo en su importancia sobre el total de tocoferoles, ya que supuso el 56% en el heno y el 88% en la pradera. El

pienso, tal como era de esperar, presentó contenidos muy bajos de carotenoides, mientras que en  $\gamma$ -tocoferol fueron más elevados que en los forrajes.

**Tabla 1.** Contenido de carotenoides y tocoferoles en los alimentos utilizados en el ensayo.

	Heno de pradera	Pradera fresca	Pienso
Neoxantina, $\mu\text{g/g MS}$	8,4 $\pm$ 0,86	66,9 $\pm$ 8,35	n.d
Violoxantina, $\mu\text{g/g MS}$	1,4 $\pm$ 0,17	31,6 $\pm$ 7,81	n.d
Zeaxantina, $\mu\text{g/g MS}$	6,6 $\pm$ 0,68	18,2 $\pm$ 2,43	1,0 $\pm$ 0,21
Luteína, $\mu\text{g/g MS}$	60,8 $\pm$ 5,48	344,3 $\pm$ 25,60	1,2 $\pm$ 0,31
$\beta$ -caroteno, $\mu\text{g/g MS}$	10,0 $\pm$ 1,18	257,78 $\pm$ 25,54	0,4 $\pm$ 0,09
$\alpha$ -tocoferol, $\mu\text{g/g MS}$	4,9 $\pm$ 0,50	73,1 $\pm$ 4,24	6,7 $\pm$ 0,76
$\gamma$ -tocoferol, $\mu\text{g/g MS}$	3,9 $\pm$ 0,46	9,9 $\pm$ 0,76	17,7 $\pm$ 0,77

n.d=no detectado.

El tipo de forraje utilizado en la alimentación de la oveja en lactación afectó a los contenidos en retinol, luteína,  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol en todos los tejidos estudiados. Los corderos del tratamiento de Pradera presentaron contenidos en retinol, luteína,  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol superiores a los del Heno ( $P < 0,01$ ) tanto en músculo como en hígado. La mayor deposición de estos compuestos en el músculo responde a una diferente ingestión de carotenoides y tocoferoles en la dieta tal y como se encontró en corderos lactantes alimentados con leche materna y leche enriquecida en estos compuestos (Osorio et al., 2008).

**Tabla 2.** Concentración de vitaminas liposolubles en los tejidos del cordero lechal según el tipo de forraje.

	Heno	Pradera	RECM <sup>1</sup>	P-valor
n	19	20		
<b>Músculo</b>				
Retinol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,02	0,03	0,004	0,001
Luteína (ng/g MF)	2,10	18,42	8,89	0,001
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,66	1,28	0,36	0,001
$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,04	0,06	0,01	0,005
<b>Hígado</b>				
Retinol ( $\mu\text{g/g}$ )	1,71	5,19	2,66	0,001
Luteína (ng/g MF)	16,50	230,71	151,28	0,001
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,19	0,45	0,15	0,001
$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,01	0,02	0,01	0,001
<b>Grasa renal</b>				
Retinol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	1,03	2,00	0,46	0,001
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	5,26	6,73	1,47	0,004
$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,20	0,18	0,06	0,188
<b>Grasa subcutánea</b>				
Retinol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,45	1,25	0,25	0,001
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	4,22	7,08	1,49	0,001
$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g MF}$ )	0,24	0,27	0,05	0,07

<sup>1</sup> raíz error cuadrático medio

Las diferencias de retinol y  $\alpha$ -tocoferol en el hígado entre tratamientos son una respuesta a la diferente ingestión de vitamina A (Donoghue et al., 1983) y  $\alpha$ -tocoferol (Luciano et al., 2016). Hasta el momento, no se ha detectado  $\gamma$ -tocoferol en el hígado de corderos.

En ambos tejidos adiposos estudiados se detectaron retinol,  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol. Álvarez et al. (2014) también detectaron los dos primeros compuestos en la grasa perirrenal. En el presente estudio no se detectó luteína en ninguno de los tejidos grasos, estando ello en desacuerdo con Prache et al. (2003). Al igual que en los restantes tejidos, la concentración de retinol y  $\alpha$ -tocoferol fue superior en los corderos del tratamiento Pradera ( $P < 0,01$ ). Estudios similares no han sido encontrados en las referencias bibliográficas, por lo que los resultados solo pueden ser comparados con corderos destetados. En corderos en pastoreo se observó una mayor cantidad de retinol y  $\alpha$ -tocoferol (Álvarez et al., 2014) y de luteína (Prache et al., 2003) en la grasa perirrenal que los corderos alimentados con concentrado. En relación al  $\gamma$ -tocoferol tendió a ser superior en los corderos en Pradera que en los de Heno en la grasa caudal subcutánea ( $P = 0,07$ ) y similar en la grasa renal ( $P > 0,05$ ). Esto podría ser debido a la diferente deposición de los carotenoides en ambos depósitos grasos (Priolo et al., 2002)

En conclusión, el tipo de forraje usado para la alimentación de las ovejas afectó a las concentraciones de retinol, luteína y tocoferoles en los distintos tejidos animales estudiados, presentando mayores niveles los tejidos de los corderos cuyas madres pastaban en la pradera que en los estabulados. La presencia de cantidades detectables de estos compuestos en los tejidos animales puede permitir trazar el tipo de alimentación recibida por el animal.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez, R., et al. 2014. *J. Food Compos. Anal.* 36: 59-65. • Cardinault, N., et al. 2006. *Anim Sci.* 82: 49-55. • Chauveau-Duriot, B., et al. 2010. *Anal. Bioanal. Chem.* 397: 777-790. • Donoghue, S., et al. 1983. *Brit. J. Nutr.* 50 : 235-248. • Joy, M., et al. 2012. *Small Rum. Res.* 104: 1-9. • Kasapidou, E., et al. 2012. *Meat Sci.* 90: 908-916. • Lobón, S., et al. 2015. XVI Jornadas sobre Producción Animal: 164-166. • Luciano, G., et al. 2016. *Anim.* 1-7. • Osorio, M.T., et al. 2008. *Small Rum. Res.* 78: 1-12. • Prache, S., et al. 2003. *Anim. Sci.* 77: 225-245. • Prates, J.A.M., et al. 2006. *Food Chem.* 94: 469-477. • Priolo, A., et al. 2002. *Meat Sci.* 62:179-185. • Radu, C., et al. 2015. XVI Jornadas sobre Producción Animal: 167-169. • Ripoll, G., et al. 2013. *Meat Sci.* 93: 906-913.

### Agradecimientos:

Financiado por INIA (RTA 2012-00080-00-00). P.J. Rufino-Moya y S. Lobón con contrato financiado por INIA y DGA, respectivamente. M. Blanco con contrato financiado por INIA y FSE. J.R. Bertolín con contrato financiado por MINECO-empleo joven. Los autores expresan su agradecimiento al personal del CITA.

### EFFECT OF THE DAMS' FEEDING SYSTEM ON FAT-SOLUBLE VITAMINS ON THE TISSUES OF SUCKLING LAMBS

**ABSTRACT:** The aim of this study was to analyze the effects of the dam's feeding system on the deposition of fat-soluble vitamins in the tissues (muscle, liver, subcutaneous and perirrenal fat) of their suckling lambs. Churra Tensina ewe-lamb pairs ( $n=39$ ) were assigned to one of two feeding systems (grazing vs. indoor hay-fed) during lactation. The pasture had greater concentration of carotenoids and tocopherol than hay. The dams' feeding system during lactation affected the contents of lutein, retinol and tocopherols in all tissues studied. The lambs of the Grazing treatment presented greater contents of lutein, retinol,  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol than the lambs of the hay treatment in the muscle and liver. ( $p < 0.01$ ). Grazing lambs also had greater retinol and  $\alpha$ -tocopherol contents in both fat deposits than Hay lambs ( $p < 0.01$ ), but similar  $\gamma$ -tocopherol contents. In conclusion, lutein, retinol and  $\alpha$ -tocopherol contents were affected in all animal tissues by the feeding system, being the suitable tracers of the diet.

**Keywords:** retinol, tocopherol, carotenoid, grazing.



## **EFFECTO DE LA ALIMENTACIÓN MATERNA EN EL PERFIL DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DE CORDEROS LIGEROS.**

Lobón, S., Blanco, M., Sanz, A., Ripoll, G., Bertolín, J.R. y Joy, M.  
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. mjoy@cita-aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

El sistema de producción tradicional de corderos ligeros en España se basa en el cebo intensivo, en cebaderos y con alimentación basada en concentrado y paja *ad libitum*. Las ovejas se estabulan desde el final de gestación hasta que se desteta el cordero. Durante esta etapa, las ovejas reciben heno y concentrado para cubrir sus necesidades. Sin embargo, cuando la disponibilidad de forraje es alta, las ovejas y sus corderos pueden pastar sin tener ningún efecto perjudicial sobre los parámetros productivos ni de la oveja ni del cordero (Álvarez-Rodríguez *et al.*, 2010; Joy *et al.*, 2012). Los estudios de los sistemas de alimentación de las ovejas muestran una gran variabilidad de resultados, lo que está relacionado con el gran número de razas en ovino y la variación en la producción y calidad del forraje. Por otra parte, algunos compuestos secundarios de las plantas pueden mejorar los parámetros productivos debido a sus efectos sobre la digestibilidad, reduciendo pérdidas de energía debido a la reducción de la producción de metano (Waghorn, 2008). La esparceta y la alfalfa son dos leguminosas, que se diferencian principalmente por el mayor contenido de taninos condensados en la esparceta. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del sistema de alimentación en la lactación, estabulado, pastoreo en alfalfa y pastoreo en esparceta, sobre la composición de los AG de la grasa intramuscular del cordero ligero.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Después del parto, las ovejas y sus corderos se distribuyeron en 3 sistemas de alimentación durante la lactación: estabulado, pastoreo de alfalfa y pastoreo de esparceta. Los corderos disponían de la leche materna y pienso. A los 12-13 kg PV, los corderos se destetaron y recibieron pienso de cebo y paja a voluntad. Cuando los corderos alcanzaron el PV de 22-24 kg, se sacrificaron. El músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) de la canal derecha se extrajo a las 24 h *post-mortem* y la porción de músculo entre las vértebras lumbares 4-6 se utilizó para determinar la composición de AG de la grasa intramuscular, también se tomaron muestras de los alimentos para determinar su composición química y AG.

El proceso de metilación y extracción de los ácidos grasos en cada una de las matrices se realizó según el método propuesto por Sukhija *et al* (1988) en el caso de los alimentos y según el método propuesto por Lee *et al* (2012) en el caso de la carne. El análisis de los ésteres metílicos se llevó a cabo usando un cromatógrafo de gases Bruker 436 Scion con detector de ionización de llama equipado con una columna BR-2560 (100 m x 0,25 mm D.I. x 0,20 µm). Los ácidos grasos (AG) se expresan como porcentaje de la cantidad total de AG identificados. Se sumaron los AG saturados (AGS), los monoinsaturados AG (AGMI), poliinsaturados (AGPI), AGPI n-6 y AGPI n-3 y la relación n-6:n-3.

Los datos se analizaron con un modelo lineal generalizado con el sistema de alimentación en lactación como efecto fijo. Se realizó la comparación de medias con el test de Tukey.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La composición química de los alimentos utilizados en el ensayo está reflejada en la Tabla 1. La calidad nutritiva de la mezcla aportada a las ovejas estabuladas fue inferior a la alfalfa y esparceta, que presentaron una calidad similar. La alfalfa y esparceta únicamente difirieron en el contenido en C18:3 n-3 y de taninos condensados totales.

El sistema de alimentación a la madre durante la lactación tuvo un efecto importante, superior al esperado, sobre el perfil de los AG del músculo LTL de los corderos (Tabla 2). Los AG individuales mayoritarios fueron C18:1 n-9, C16:0 y C18:0, independientemente del sistema de alimentación de la madre durante la lactación. El sistema de alimentación de la madre en la lactación no afectó a los contenidos de AG individuales saturados ( $P>0,05$ ), ni a los moniinsaturados ( $P>0,05$ ), exceptuando el C18:1 n-9 ( $P<0,001$ ). La carne de los corderos de Esparceta presentó menor contenido de C18:1 n-9 que la carne de los

Estabulados y de Alfalfa ( $P<0,05$ ).

Los contenidos de AG individuales poliinsaturados fueron los más afectados por el sistema de alimentación en lactación, únicamente el contenido de C18:2c9,t11 fue similar. La carne de los corderos de Esparceta presentó mayores contenidos de C18:3 n-3 ( $P<0,001$ ), C20:4 n-6 ( $P<0,01$ ), C20:5 n-3 ( $P<0,001$ ), C22:5 n-3 ( $P<0,001$ ) y C22:6 n-3 ( $P<0,01$ ) que la de los corderos de Alfalfa y Estabulados. La carne de los corderos de alfalfa presentó mayor contenido de C18:3 n-3 ( $P<0,001$ ) y C20:5 n-3 ( $P<0,05$ ) y tendió a ser mayor el contenido de C22:5 n-3 ( $P<0,10$ ) que la de los Estabulados.

El sistema de alimentación en lactación no afectó al conjunto de los AGS ( $P>0,05$ ) pero sí a los AGMI, AGPI, n-6 y n-3 ( $P<0,001$ ). Los AGMI totales fueron inferiores para la carne de los corderos Esparceta que para los Estabulados ( $P<0,001$ ), mientras que los de alfalfa no difirieron de ninguno de los anteriores. El contenido de AGPI y AGPI n-3 fue superior en la carne de los corderos de esparceta, intermedio en la de los de Alfalfa e inferior en los estabulados. Los corderos de Esparceta presentaban un mayor contenido en AGPI n-3 que la Alfalfa probablemente debido a la presencia de taninos condensados en la esparceta (Girard *et al.*, 2016).

Los resultados obtenidos pusieron en evidencia la existencia de un efecto importante de la alimentación materna sobre el perfil de ácidos grasos de la carne de sus corderos. Este efecto ha sido escasamente descrito en la bibliografía, debido quizá a que se asume que el cebo posterior con pienso eliminaría las posibles diferencias debidas a la alimentación durante la lactación. La carne procedente de los corderos de Esparceta, seguida de la de los corderos de Alfalfa, sería la más recomendable para el consumo humano según el perfil de AG.

**Tabla 1.** Composición química y perfil de ácidos grasos de los alimentos

Item	Oveja			Cordero
	Mezcla completa <sup>1</sup>	Alfalfa	Esparceta	Pienso
Composición química, g/kg DM				
Materia seca	836,9	219,3	187,3	886,1
Proteína bruta	109	189,7	161,3	195,4
Fibra neutro detergente	427	454,9	451,9	177,7
Fibra ácido detergente	200	310,2	352	43,6
Lignina ácido detergente	25,3	66,8	82,7	6
Cenizas	47,9	90,4	78,4	54,3
Taninos condensados, eq. cianidina	0,8	1,5	21,9	0,6
Ácidos grasos, % <sup>2</sup>				
C14:0	2,8	0,9	0,5	0,5
C16:0	31,2	24,7	23,4	25,2
C16:1 n-7	0,5	0,4	0,3	0,1
C17:0	0,3	0,5	0,4	0,1
C18:0	7,5	6,6	6,6	2,9
C18:1 n-9	23,1	3,5	3,5	29,8
C18:2 n-6	26,6	18,5	16,3	37,6
C18:3 n-3	2,8	35,6	40,8	2,4

<sup>1</sup> aportada a las ovejas estabuladas; <sup>2</sup> AG identificados

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Rodríguez. *et al.* (2010). Small Rum Res. 94:109-116.
- Girard *et al.* (2016). J. Sci. Food Agric. 96:1923-1933
- Joy. *et al.* (2012). Meat Sci. 90:775-782;
- Lee *et al.* (2012). Meat Science 92:863-866.
- Sukhija *et al.* (1988). J. Agric: Food Chem. 36:1202-1206.
- Vasta *et al.*, 2009. J. Anim. Sci., 87:2374-2684.
- Waghorn, (2008). Anim. Feed Sci. Technol. 147:116-139

**Agradecimientos:** Financiado por INIA (RTA2012-00080-C00-00 y RZP2013-00001-00-00). S. Lobón disfruta de un contrato predoctoral financiado por el Gobierno de Aragón. M. Blanco disfruta de un contrato financiado por INIA y FSE. Los autores expresan su agradecimiento al personal del CITA.

**Tabla 2.** Efecto del sistema de alimentación durante la lactación en la composición de los ácidos grasos del músculo LTL en corderos sacrificados tras el cebo hasta los 22-24 kg.

Ácidos grasos <sup>1</sup> , %	Estabulado <sup>2</sup>	Alfalfa	Esparceta	Raíz ESM <sup>3</sup>	P-valor
n	10	11	10		
C10:0	0,24	0,24	0,29	0,07	0,25
C12:0	0,44	0,46	0,57	0,18	0,21
C14:0	4,20	4,33	4,79	1,12	0,47
C15:0	0,51	0,57	0,59	0,09	0,13
C16:0	24,40	24,29	23,60	1,26	0,32
C16:1	1,93	1,88	1,81	0,25	0,55
C17:0	1,42	1,49	1,46	0,22	0,75
C17:1	0,81	0,72	0,63	0,23	0,23
C18:0	14,34	14,54	14,41	1,09	0,91
C18:1 trans*	4,22	3,93	4,41	0,92	0,50
C18:1 n-9	36,71a	35,08a	32,78b	2,03	0,001
C18:1 cis**	0,36	0,47	0,38	0,23	0,45
C18:2 n-6	6,65	7,12	7,54	0,85	0,08
C18:3 n-3	0,49c	1,09b	1,64a	0,29	0,001
C18:2 c9,t11	0,45	0,59	0,65	0,22	0,15
C20:4 n-6	1,82b	1,71b	2,20a	0,34	0,007
C20:5 n-3	0,19c	0,41b	0,85a	0,19	0,001
C22:5 n-3	0,41b	0,59b	0,91a	0,19	0,001
C22:6 n-3	0,18b	0,24b	0,36a	0,11	0,003
AGS <sup>4</sup>	45,54	45,93	45,71	1,87	0,89
AGMI <sup>5</sup>	44,02a	42,09ab	40,00b	2,03	0,001
AGPI <sup>6</sup>	10,19c	11,76b	14,14a	1,33	0,001
AGPI n-6	8,47b	8,83ab	9,74a	1,08	0,04
AGPI n-3	1,27c	2,33b	3,76a	0,65	0,001
AGPI:AGS	0,22b	0,26b	0,31a	0,03	0,001
n-6:n-3	7,03a	4,20b	2,68c	1,37	0,001

<sup>1</sup>Ovejas alimentadas con una mezcla completa seca; <sup>2</sup>Error cuadrático medio; <sup>3</sup> total de ésteres metílicos de ácidos grasos identificados <sup>4</sup>Saturados; <sup>5</sup> Monoinsaturados; <sup>6</sup> poliinsaturados; \* suma de varios C18:1trans (trans 9, trans 10, trans 11, trans 12); \*\* suma de varios C18:1cis (cis 11, cis 12, cis 13...) Para una fila, medias con diferente letra indica diferencias al p<0,05

## RESIDUAL EFFECT OF DAMS' FEEDING IN LACTATION ON THE FATTY ACID PROFILE OF INTRAMUSCULAR FAT IN LIGHT LAMBS

**ABSTRACT:** The effect of the dam's feeding system during lactation (indoor, grazing alfalfa and grazing sainfoin) was assessed on intramuscular fatty acid (FA) profile of lambs slaughtered at 22-24 kg after being finished on concentrates. Lambs suckled until 14-16 kg and thereafter confined and fed concentrate. The dam's feeding system during lactation affected the FA profile more than expected. The profile of fatty acid of intramuscular fat of Sainfoin and Alfalfa lambs was more appropriate since a human health point of view.

**Keywords:** Sainfoin, Alfalfa, Indoor, Meat.

## **INFLUENCIA DEL CRUCE INDUSTRIAL EN LA CALIDAD DE LA CANAL Y DE LA CARNE DE CORDEROS DE LA RAZA SEGUREÑA.**

Blasco, M.<sup>1</sup>, Sañudo, C<sup>1</sup>, Balado, J.<sup>2</sup> y Campo, M.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dept. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario IA2, Universidad de Zaragoza-CITA. 50013-Zaragoza. Email: jblascos@unizar.es

<sup>2</sup> Granja Diputación Provincial de Castellón. Ares del Maestre. 12165-Castellón

### **INTRODUCCIÓN**

El cruce industrial, entendido como el acoplamiento de machos de razas cárnicas con hembras de razas locales, fue una técnica muy utilizada en España entre los años 70 y 90 del siglo XX. Su principal objetivo es mejorar los índices productivos y la calidad de la canal de las razas locales (Kremer et al., 2004) y en consecuencia aumentar el rendimiento de las explotaciones ganaderas, pudiendo ser una posible solución al descenso continuado del censo ovino que afecta a nuestro país. Por otro lado, en el mercado se observa una tendencia hacia canales más magras y un creciente interés social hacia grasas más saludables nutricionalmente. Se han realizado trabajos de cruzamiento en España (Sierra, 1981) y más recientemente en otros países: Brasil (Souza et al., 2013) o Turquía (Ekiz et al., 2012). El cruce con la raza Texel, que presenta canales magras (Sañudo, 2011), podría ser muy útil en zonas donde la grasa sea claramente penalizada.

Por todo ello en este trabajo se han estudiado determinados parámetros de calidad de canal y carne en animales puros de raza local Segureña y cruzados con machos de raza Texel.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se han utilizado dos grupos de hembras homogéneas seleccionadas al azar de raza Segureña en pureza, del rebaño de la Diputación Provincial de Castellón (España). Uno de ellos se cubrió con cinco machos Texel y el otro con cinco machos de raza Segureña. Tras el parto, los corderos se alimentaron con la madre y, tras el destete, a los 45 días de edad, con pienso comercial (cordestar cebo ligero - NANTA®) y paja de cereal ad libitum. Del total de animales nacidos se seleccionaron 10 machos de cada genotipo de edad similar y peso de canal caliente alrededor de 11 kg. Sobre ellos se calculó la composición tisular de la espalda mediante disección tras el despiece normalizado (Vergara, 2005) (Tabla 1). A partir del músculo *Longissimus thoracis* a nivel de T5-T8, se determinó la composición bromatológica de la carne (Normas ISO) (Tabla 2) y el perfil de ácidos grasos (Bligh y Dyer, 1959) (Tabla 3) mediante cromatografía gaseosa.

Las variables se han analizado con el paquete estadístico SPSS (22.0) a través de un modelo lineal general con el efecto genotipo como único efecto fijo.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 se muestran los datos de la composición tisular de la espalda, observándose un efecto significativo ( $P < 0,001$ ) del genotipo, tanto en el porcentaje de músculo como de grasa estando ambos inversamente relacionadas. Los animales de padre Texel han tenido un mayor porcentaje de músculo (4,5 puntos porcentuales mayor) y una menor cantidad de grasa total que los de Segureña, algo esperable en una raza más cárnica y que conlleva un menor engrasamiento, resultados que coinciden con cruces de Texel con razas como Corriedale (Vargas et al., 2015) o Pantaneiro (Kremer et al., 2004). Estas diferencias en la grasa total se han debido al mayor desarrollo de la grasa preescapular y, sobre todo, subcutánea de los animales segureños, con 3,2 puntos porcentuales más que los animales cruzados, lo cual, dependiendo del circuito comercial en el que se comercialice, es un dato a tener en cuenta en el caso de que un engrasamiento visual excesivo sea penalizado.

Respecto a la composición bromatológica de la carne (Tabla 2), solamente se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de proteína ( $P \leq 0,05$ ), teniendo el cruce industrial 0,4 puntos porcentuales más. También se encontró una tendencia ( $P = 0,066$ ) en el contenido de grasa intramuscular, siendo el porcentaje 0,7 puntos porcentuales más en la raza Segureña en pureza, en contraposición a la menor cantidad de proteína y para un similar contenido en agua.

En la tabla 3 se muestra el perfil de ácidos grasos así como sus relaciones. No se han encontrado diferencias significativas de interés en la composición de ácidos grasos saturados (SFA). Por el contrario, sí se observaron diferencias en los ácidos grasos

monoinsaturados (MUFA) ( $P < 0,001$ ) y poliinsaturados (PUFA) ( $P = 0,01$ ). Aproximadamente los 4 puntos porcentuales de MUFA que tienen de más los corderos de raza Segureña pura son los que tienen de más en PUFA los corderos provenientes del cruce industrial, lo cual implica que los niveles de insaturación se mantengan constantes. Las diferencias podrían estar relacionadas, por un lado, con que los animales provenientes del cruce industrial hayan consumido más alimento concentrado, en el que predomina el ácido linoleico, ácido graso poliinsaturado y perteneciente a la serie  $n-6$ , lo cual explicaría también una mayor cantidad de esta serie en el cruce industrial o, por otro lado, a su menor engrasamiento, lo cual implica un menor porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados almacenados como neutrólpidos, aumentando la importancia relativa de los PUFA incorporados a las membranas celulares. En los animales provenientes del cruce industrial, la relación PUFA/SFA era mayor (0,44) respecto a los de la raza Segureña pura (0,33), y además cumplía el equilibrio sugerido en la dieta por Hunty (1995) para evitar el riesgo de enfermedades cardíacas, estipulada por encima del 0,4. Además, la carne de corderos ligeros tipo ternasco, como la objeto del estudio, se podría considerar de las más saludables dentro de los ovinos (Campo et al., 2009).

Como conclusión, el cruce industrial puede ser una herramienta útil en la producción de carne ovina de raza Segureña y, en consecuencia, una vía para incrementar la rentabilidad de las explotaciones, al obtenerse, canales con una morfología más carnífera, con mayor cantidad de músculo y un menor porcentaje de grasa, y carne con algo más de contenido en proteína y mayor contenido en ácidos grasos poliinsaturados.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bligh y Dyer. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 911-914.
- Campo et al. 2009. Características de la carne de cordero con especial atención al Ternasco de Aragón. Agencia Aragonesa de Seguridad Alimentaria.
- Ekiz et al. (2012). Effect of production system on carcass measurements and meat quality of Kivircik lambs. *Meat Science*, 90: 465–471.
- Hunty, A. 1995. The COMA report on nutritional aspects of cardiovascular disease: the scientific evidence. *British Food Journal*, 97: 30-32.
- Kremer et al. 2004. Effects of sire breed, year sex and weight on carcass characteristics of lambs. *Small Ruminant Research*, 53: 117-124.
- Sañudo, C. 2011. Atlas Mundial de Etnología Zootécnica. Ed. Servet. Zaragoza. España. 818.
- Sierra, I. 1981. Résultats du croisement industriel des béliers Fleischschaf and Suffolk avec des brebis Rasa Aragonesa. *Options Méditerranéennes*, 81: 83-92.
- Souza et al. 2013. Growth performance, feed efficiency and carcass characteristics of lambs produced from Dorper sheep crossed with Santa Inês or Brazilian Somali sheep. *Small Ruminant Research*, 114: 51–55.
- Vargas et al. 2015. Carcass measurements, non carcass components and cut production of local Brazilian Pantaneiro sheep and crossbreeds of Texel and Santa Inês with Pantaneiro. *Small Ruminant Research*. DOI:10.1016/j.smallrumres.2014.12.007.
- Vergara et al. 2005. Composición regional y tisular de la canal ovina. En Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto en los rumiantes. Cañeque, V. y Sañudo, C., coordinadores. Monografías INIA, 3: 170-178. Ed. INIA. Madrid. España.

**Agradecimientos:** A la Diputación Provincial de Castellón por la financiación del proyecto.

**Tabla 1.** Composición tisular (%) de la espalda (media  $\pm$  desviación estándar).

	Genotipo		P*
	Segureño n=10	x Texel n=10	
Músculo	62,7 $\pm$ 1,7	67,1 $\pm$ 1,7	<0,001
Grasa preescapular	2,4 $\pm$ 0,3	1,5 $\pm$ 0,3	<0,001
Grasa subcutánea	8,0 $\pm$ 1,3	4,8 $\pm$ 1,2	<0,001
Grasa intermuscular	5,9 $\pm$ 1,1	5,1 $\pm$ 0,9	0,076
Grasa total	16,3 $\pm$ 1,9	11,4 $\pm$ 1,5	<0,001
Hueso	19,9 $\pm$ 0,8	20,6 $\pm$ 0,8	0,078
Otros	1,0 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,3	0,282

**Tabla 2.** Composición bromatológica de la carne (%).

	Genotipo		P*
	Segureño n=10	x Texel n=10	
Humedad	76,2 $\pm$ 0,8	76,5 $\pm$ 0,8	0,402
Proteína	19,4 $\pm$ 0,5	19,8 $\pm$ 0,6	0,020
Grasa	3,4 $\pm$ 1,0	2,7 $\pm$ 1,0	0,066
Cenizas	1,1 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1	0,555

**Tabla 3.** Sumatorios de ácidos grasos (% de ácidos grasos totales) e índices nutricionales.

	Genotipo		P*
	Segureño n=10	x Texel n=10	
SFA	41,3 $\pm$ 1,6	40,9 $\pm$ 2,9	0,699
MUFA	42,5 $\pm$ 1,5	38,3 $\pm$ 2,7	<0,001
PUFA	13,3 $\pm$ 2,3	17,7 $\pm$ 4,1	0,010
n-3	0,8 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,3	0,009
n-6	11,8 $\pm$ 2,1	16,0 $\pm$ 3,9	0,007
PUFA/SFA	0,3 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,026

P\*: Significación.

### EFFECT OF CROSSBREED ON CARCASS QUALITY AND MEAT QUALITY IN SEGUREÑA LAMBS

**ABSTRACT:** Carcass quality (tissue composition) and meat quality traits (chemical composition) in lambs from either pure Segureña breed or crossbred with Texel were studied. Improvements in the crossbred animals were observed in carcass quality: a higher muscle composition in contrast with a lower fat percentage. In chemical composition, higher protein and polyunsaturated fatty acids were observed in samples of crossbred with Texel breed. The results indicate that the crossbreeding between these two breeds could be a useful tool to develop and use in certain farms and production conditions.

**Keywords:** Light lamb, crossbreed, Texel, quality.

## EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE UN EXTRACTO DE SEMILLAS DE BORRAJA EN EL COLOR Y LA OXIDACIÓN DE CARNE DE CORDERO FRESCA Y DESCONGELADA ENVASADA EN MAP

Bellés, M.<sup>1</sup>, Alonso, V.<sup>1</sup>, Roncalés, P.<sup>1</sup>, y Beltrán, J.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza, España. mbelles@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

La disminución del consumo y la estacionalidad de las ventas son dos de los problemas a los que se enfrentan los productores de carne de cordero. La comercialización de carne descongelada envasada en MAP podría ser una estrategia interesante para superar ambas dificultades; no obstante, se han descrito modificaciones importantes en la calidad del producto debido al proceso de congelación/descongelación. El color de la carne es uno de los parámetros que se vio significativamente afectado, siendo por otro lado uno de los parámetros de calidad más importantes, ya que determina la elección del consumidor (O'Grady et al., 2000). Al igual que en la carne fresca, la oxidación lipídica se identificó como uno de factores que podrían limitar la vida útil de las chuletas de cordero conservadas bajo estas condiciones. La incorporación de un compuesto antioxidante en el envase o en la superficie de las chuletas podría reducir los procesos oxidativos y la decoloración de la carne. Las semillas de borraja contienen compuestos con elevado poder antioxidante como los ácidos rosmarínico, siríngico y sinápico (Wettasinghe et al., 2001) que podrían resultar de gran utilidad para reducir las alteraciones de la carne que se producen durante su congelación y descongelación. De acuerdo con lo explicado, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del rociado con un extracto acuoso de semillas borraja sobre el color y la oxidación lipídica de chuletas frescas y descongeladas de pierna de cordero.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se emplearon 24 canales de cordero de raza Rasa Aragonesa con un peso comprendido entre 10-12,5 kg. Tras el sacrificio, las canales se refrigeraron durante 24 horas (4°C) y se procedió a su despiece en las instalaciones de Casa Ganaderos, tomando como muestra ambas piernas de cada canal. Posteriormente, las piernas se transportaron refrigeradas a la Planta Piloto de la Facultad de Veterinaria, donde se dividieron en 4 lotes. Las piernas derechas se utilizaron para los tratamientos control (sin antioxidantes) mientras que las piernas izquierdas se asignaron al tratamiento con borraja. Doce piernas de cada tratamiento se envasaron a vacío y se mantuvieron a -20°C durante 6 meses mientras que las piernas restantes se filetearon (8 chuletas), se envasaron individualmente en atmósfera modificada (70% O<sub>2</sub> – 30% CO<sub>2</sub>) y se conservaron en condiciones comerciales de venta directa (4°C, 12h de luz artificial). Previamente al sellado de las bandejas las muestras asignadas al tratamiento con borraja fueron rociadas con el extracto acuoso mediante un aplicador comercial a razón de 1 ml por 100 cm<sup>2</sup>. Las piernas mantenidas a -20°C, una vez fileteadas, se sometieron a este mismo proceso tras el mantenimiento en congelación. Las chuletas se descongelaron durante el periodo de refrigeración. Los análisis se realizaron tras 0, 3, 6 y 9 días de refrigeración, siempre sobre el músculo *Semimembranosus*, utilizando dos envases de cada pierna para cada día de análisis.

Para la preparación del extracto acuoso las semillas de borraja se picaron y la corteza se separó del endospermo mediante un tamiz. Posteriormente se desgrasó la harina mediante la utilización de hexano y a continuación, se dejó evaporar el hexano durante 24h a temperatura ambiente. Diez gramos de la harina resultante se disolvieron en 100 ml de agua destilada y se sumergió la mezcla en un baño de agua a 65°C durante 45 minutos en agitación continua. Finalizado este paso, se filtró la solución con papel de filtro (Machery-Nagel number 43, Düren, Germany) y se esterilizó con filtros de celulosa para jeringa (0,2 µm). El contenido total de polifenoles se calculó siguiendo la metodología descrita por Matthäus (2002). Para la determinación instrumental del color se tomaron 10 medidas sobre la superficie del filete utilizando un espectrofotómetro de reflectancia (Minolta CM-2002; Osaka, Japón). El porcentaje de metamioglobina se calculó de acuerdo con Krzywicki (1979). El color de la médula se evaluó mediante un panel entrenado compuesto por 9 panelistas. Se utilizó para ello una escala de seis puntos (1 = rojo brillante, 2 = rojo mate, 3 = gris rojizo, 4 = moderadamente gris, 5 = gris negruzco, 6 = negro). Las sustancias reactivas

al ácido tiobarbitúrico (TBARS) se cuantificaron como describe Alonso et al. (2015). Los datos fueron analizados estadísticamente mediante un modelo lineal general utilizando el paquete estadístico SPSS versión 19.0 (IBM SPSS, 2010). El modelo incluyó la congelación, la adición de un antioxidante, el tiempo de exposición (efectos fijos), sus interacciones y el animal (efecto aleatorio). Las diferencias se consideraron significativas si  $P \leq 0,05$ . Se encontraron interacciones significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre los efectos fijos congelación y antioxidante sobre las variables estudiadas, por lo que se elaboró un segundo modelo donde éstos fueron analizados conjuntamente en 4 tratamientos: Carne fresca control, carne fresca con extracto, carne descongelada control y carne descongelada con extracto. Además, se encontraron posteriormente interacciones entre los tratamientos y el tiempo de exposición por lo que se elaboró un nuevo modelo donde el efecto tratamiento fue analizado en cada día de estudio y viceversa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rociado de las chuletas con extracto de borraja tuvo un efecto significativo sobre el color de la carne (Tabla 1). La aplicación de este tratamiento en la carne fresca resultó en mayores valores del índice  $a^*/b^*$  tras 6 días de refrigeración, mientras que su efecto en las chuletas descongeladas se observó a los 9 días ( $P \leq 0,001$ ). Sin embargo, la aplicación de este extracto no pudo retrasar la caída continua de este índice en la carne descongelada, que se observó desde el momento del envasado. De esta forma, la carne fresca presentó mayores valores que la descongelada al tercer día de estudio, independientemente de la aplicación del extracto. Los mayores valores del índice  $a^*/b^*$  que presentó la carne tratada en los últimos días del periodo de conservación podrían relacionarse con el efecto inhibitor del extracto de borraja sobre la oxidación lipídica, y con ello sobre la formación de metamioglobina. De hecho, tanto las chuletas frescas como descongeladas rociadas con el extracto mostraron un menor contenido de malondialdehído y un menor porcentaje de metamioglobina a partir del día 6 ( $P \leq 0,001$ ) (Tabla 1). El efecto del extracto de borraja sobre la oxidación lipídica se ha relacionado con su alto contenido en polifenoles. En este estudio en concreto, el extracto usado presentaba un contenido de polifenoles totales de  $3.29 \pm 0.02$  mg EAG/ml extracto. Wettasinghe & Shahidi (1999) demostraron *in vitro* que estos compuestos eran capaces de unirse a las especies reactivas del oxígeno, frenando de esta forma las reacciones oxidativas.

La congelación y descongelación de la carne favoreció de forma significativa el desarrollo del fenómeno conocido como “hueso negro”. La carne descongelada presentó, independientemente del tratamiento antioxidante, un mayor oscurecimiento del hueso desde el tercer día de conservación en adelante ( $P \leq 0,001$ ). No obstante, sí se observó un efecto protector del extracto de borraja dentro de cada sistema de conservación. De esta forma, la carne descongelada tratada con antioxidantes presentó menores valores que la control el día 9, mientras que en cuanto a la carne fresca, la tratada ofreció menores valores los días 3 y 9 ( $P \leq 0,001$ ). Los extractos de semilla de borraja no habían sido utilizados, según nuestro conocimiento, para conservar la carne de cordero; no obstante, al igual que observaron Sánchez-Escalante et al. (2003) y Martínez et al. (2006) en hamburguesas de vacuno y salchichas de cerdo, su aplicación permitiría retrasar notablemente la oxidación y la decoloración tanto de la carne fresca como de la descongelada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso et al. 2015. Meat Sci 107:49–56 • Krzywicki 1979. Meat Sci 3:1-10 • Martínez et al. 2006. J. Sci. Food Agr 86:1298-1307 • Matthäus 2002. J. Agric. Food Chem 50:3444-3452 • O’Grady et al. 2000. Meat Science 55:39-45 • Sánchez-Escalante et al. 2003. J. Food Sci 68:339-344 • Wettasinghe et al. 2001. Food Chem 75:49-56 • Wettasinghe & Shahidi 1999. Food Chem 67:399-414



**Tabla 1.** Media y desviación estándar del color y la oxidación lipídica de la carne de cordero durante su conservación en condiciones comerciales.

Variables	Tratamiento	Días en refrigeración				P
		0	3	6	9	
a*/b*	Carne fresca con extracto	1,03±0,07y	1,09±0,09b,y	1,01±0,05b,y	0,76±0,21b,x	≤0,001
	Carne descongelada con extracto	0,96±0,0,16z	0,82±0,05a,yz	0,66±0,08a,xy	0,58±0,07b,x	≤0,001
	Carne fresca control	1,08±0,05z	1,05±0,08b,z	0,49±0,17a,y	0,25±0,05a,x	≤0,001
	Carne descongelada control	1,09±0,01z	0,78±0,07a,y	0,46±0,20a,x	0,34±0,13a,x	≤0,001
	<b>P</b>	<b>0,086</b>	<b>≤0,001</b>	<b>≤0,001</b>	<b>≤0,001</b>	
Porcentaje de metamioglobina	Carne fresca con extracto	23,17±0,92b,x	25,59±0,83x	28,44±4,26a,x	36,67±9,05a,y	≤0,001
	Carne descongelada con extracto	18,56±2,29a,x	28,35±4,11y	34,61±4,91a,y	43,07±7,41a,z	≤0,001
	Carne fresca control	21,83±0,97ab,x	26,74±2,32x	60,47±5,24b,y	67,71±4,44b,z	≤0,001
	Carne descongelada control	19,26±3,34a,x	28,65±3,29x	53,26±7,81b,y	67,66±3,15b,z	≤0,001
	<b>P</b>	<b>0,003</b>	<b>0,256</b>	<b>≤0,001</b>	<b>≤0,001</b>	
Mg malondialdehído /kg	Carne fresca con extracto	0,12±0,02x	0,99±0,44a,xy	1,92±0,88a,y	1,41±0,64a,y	≤0,001
	Carne descongelada con extracto	0,10±0,02x	1,07±0,45a,y	2,30±0,24ab,z	1,71±0,56a,z	≤0,001
	Carne fresca control	0,07±0,03x	1,91±0,54b,y	3,40±0,26b,z	2,74±0,77b,z	≤0,001
	Carne descongelada control	0,12±0,03x	1,36±0,45ab,y	2,70±1,03ab,z	2,96±0,29b,z	≤0,001
	<b>P</b>	<b>0,081</b>	<b>0,012</b>	<b>0,010</b>	<b>≤0,001</b>	
Color de la médula	Carne fresca con extracto	1,86±0,83a,x	1,74±0,65a,x	2,04±0,78a,x	2,96±1,03a,y	≤0,001
	Carne descongelada con extracto	2,26±0,75b,x	4,15±1,02c,y	5,19±0,73b,z	5,38±0,78b,z	≤0,001
	Carne fresca control	2,18±0,83ab,x	2,65±1,27b,x	2,93±1,14a,xy	3,21±0,71a,y	≤0,001
	Carne descongelada control	2,46±0,96b,w	5,04±0,70d,x	5,47±0,75b,y	6,00±0,00c,z	≤0,001
	<b>P</b>	<b>≤0,001</b>	<b>≤0,001</b>	<b>≤0,001</b>	<b>≤0,001</b>	

Valores en una misma columna con letras diferentes (<sup>a,b</sup>) son significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ). Valores en una misma fila con superíndice diferente (<sup>x,y</sup>) son significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

### EFFECT OF A BORAGE AQUEOUS EXTRACT ON THE COLOUR AND OXIDATIVE STABILITY OF FRESH AND THAWED LAMB LEG CHOPS DISPLAYED UNDER RETAIL CONDITIONS

**ABSTRACT:** The decline of consumption together with seasonal fluctuations of sales are two of the main challenges of Spanish lamb industry. An interesting strategy to overcome these problems could be the commercialisation of thawed lamb packaged in an enriched oxygen atmosphere. Nevertheless, previous studies of our research group pointed out several modifications of freezing/thawing on lamb colour. The addition of an antioxidant compound onto meat surface may be a feasible tool to reduce discoloration and lipid oxidation. In this context, the aim of this study was to assess the effect of a borage seed extract on colour and oxidative stability of fresh and thawed lamb leg chops. Instrumental colour, lipid oxidation and sensory analyses were performed. The borage aqueous extract reduced lipid oxidation, metmyoglobin formation, discolouration and marrow bone darkening both in fresh and thawed lamb. However, thawed chops showed a higher bone marrow darkening than fresh control in spite of borage extract spraying. Thus, chops spraying with the borage seed aqueous extract widely improved thawed lamb colour and oxidative stability but bone marrow darkening was poorly inhibited.

**Keywords:** borage; antioxidant compounds; thawed meat; colour.

## **MOLTURA DE AJO EN LA CALIDAD DE CARNE DE CORDEROS LIGEROS TIPO TERNASCO**

Resconi, V.C., Sañudo, C., Campo, M.M., Barahona, M., Olleta, J.L., Magalhaes, D. y Abecia, J.A.

Dept. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario IA2, Universidad de Zaragoza-CITA. Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza, España. E-mail: resconi@unizar.es

### **INTRODUCCIÓN**

El ajo (*Allium sativum* L.), además de su intenso aroma, tiene propiedades antioxidantes y anti-microbianas (Li et al., 2015) y por lo tanto, su inclusión en la alimentación animal, podría afectar la calidad de carne. La suplementación de ajo a dietas en aves, ha repercutido en una mejora en la oxidación lipídica en carne almacenada (Choi et al., 2010) y en la calidad sensorial de la misma (Kim et al., 2009), mientras que Cross et al. (2011) encontraron aromas anormales y a ajo en la carne cocinada. En carne de cerdo también se han observado diferencias aromáticas con la suplementación de aceite esencial de ajo (Leong et al., 2010). En corderos, la carne de animales con una suplementación alta de ajo fresco (3,6 % MS) ha sido preferida en algunas ocasiones, si bien aromáticamente no se distinguía de una carne sin suplementar (Strickland et al., 2011), mientras que Chaves et al. (2008) no encontraron efecto sensorial con aceite esencial de ajo. Sin embargo, se desconocen estudios del efecto de la suplementación de ajo en dietas de cordero sobre el aroma de la carne cruda, la vida útil del producto y la apreciación del consumidor. De modo que el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la introducción en la dieta de moltura de ajo sobre las variables mencionadas. Este estudio es continuación del precedente (Resconi et al., 2017), donde se evaluó el efecto del ajo en el animal y la canal, con el propósito de reemplazar el uso de medicamentos preventivos en el cebo de corderos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 36 corderos de tipo entrefino, machos y hembras, nacidos en las instalaciones del SEA de la Universidad de Zaragoza. Tras el destete, los animales se distribuyeron equilibradamente por peso vivo y sexo, en cuatro grupos experimentales, recibieron una dieta de adaptación durante siete días. Los grupos fueron: 1) Control, con pienso comercial; 2) Medicación, pienso comercial y premezcla medicamentosa (Clotetraciclina 10% + decoquinato 36 ppm); 3) Ajo, pienso comercial con 0,6% de complemento con 80% de moltura de ajo morado; y 4) Ajo + medicación, pienso comercial y la misma dosificación de medicamentos y ajo que en los grupos 2 y 3. Los animales de cada grupo experimental se distribuyeron en cuatro lotes repetidos, tres con dos animales y uno con tres animales. El periodo experimental duró 30 días, transcurridos los cuales cesó la medicación de los piensos respectivos, estando 10 días antes del sacrificio en un periodo de supresión, tal y como señala la legislación vigente, tomando el pienso correspondiente sin medicación.

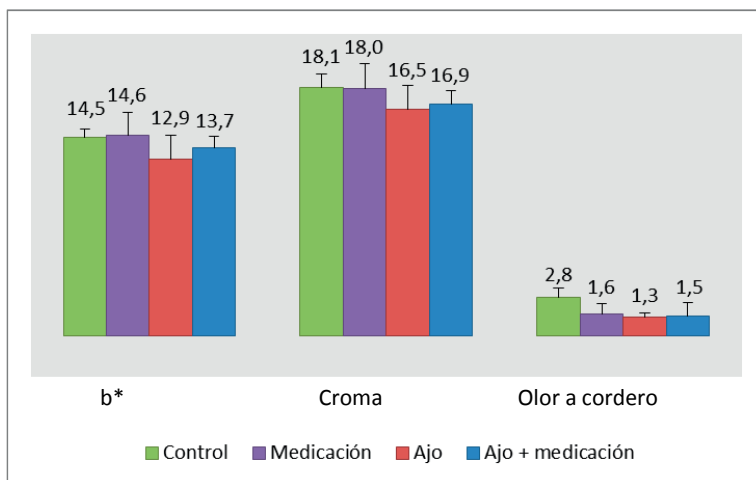
Los animales fueron transportados de manera conjunta al matadero (MercaZaragoza) el día anterior a su sacrificio. Una vez sacrificados, las canales se trasladaron a las instalaciones de Grupo Pastores Cooperativo, donde permanecieron 24 h en refrigeración. Se retiró y se muestreó el m. *Longissimus dorsi* en la Universidad de Zaragoza para las distintas evaluaciones de calidad. Tras 0, 2, 5 y 8 días de conservación a 4°C, en bandeja con film permeable al O<sub>2</sub>, se determinó en carne cruda la oxidación lipídica (TBARS), el color físico mediante un espectroreflectómetro MINOLTA CM2002, la intensidad de olores y la degradación del color mediante un panel entrenado de 7 miembros (escala de 1 a 10). Por último, se realizó un análisis sensorial con 80 consumidores.

Para las variables de vida útil se realizó un modelo lineal general (GLM) para un diseño factorial (2x2) con el efecto adición de ajo y de medicamento como efectos fijos, considerándose además la exposición y todas las interacciones entre los factores (SPSS, v. 22.0). Además, se realizó otro GLM dentro de cada día de exposición. Para los datos de consumidores, se realizó también un GLM, considerando adición de ajo y de medicamento, sesión y sus interacciones como factores fijos.

**Tabla 1.** Media (desviación estándar) en variables de vida útil en carne cruda de cordero envasada en film según el grupo experimental a lo largo de 8 d de exposición

	Control	Medicación	Ajo	Ajo + med.	P ajo	P med.	P exp.	P AxE
TBARS	0,21 (0,23)	0,28 (0,24)	0,28 (0,28)	0,38 (0,41)	*	*	***	ns
b*	13,27 (2,05)	13,36 (1,96)	12,72 (1,74)	13,10 (1,47)	*	ns	***	**
Croma	16,69 (2,14)	16,61 (2,14)	16,09 (1,81)	16,21 (1,45)	*	ns	***	*
Tono	52,62 (4,15)	53,59 (3,69)	52,19 (2,77)	53,91 (3,47)	ns	**	***	ns
Decoloración	12,42 (1,53)	12,70 (1,38)	12,08 (1,49)	11,88 (2,02)	*	ns	***	ns
Olor cordero	2,57 (1,01)	2,12 (0,91)	2,00 (0,84)	1,92 (0,73)	**	ns	**	ns

Las interacciones (AxM, MxE, AxMxE) no resultaron significativas ( $P>0,05$ ). \*\*\*  $P<0,001$ , \*\*  $P<0,01$ , \*  $P<0,05$ , ns  $P>0,05$ .



**Figura 1.** Variables de color instrumental y aroma de la carne cruda, que fueron significativas a los 8 días de exposición en film, según el grupo experimental

**Tabla 2.** Media (desviación estándar) en aceptabilidad de cordero según el grupo experimental (80 consumidores)

Aceptabilidad <sup>1</sup>	Control	Medicación	Ajo	Ajo + med.	P ajo	P med.	P AxM
General	6,90 (1,20)	6,71 (1,35)	6,74 (1,45)	6,71 (1,45)	ns	ns	ns
Termeza	6,84 (1,56)	6,51 (1,88)	6,51 (1,83)	6,84 (1,76)	ns	ns	ns
Sabor	6,94 (1,19)	6,78 (1,38)	6,89 (1,35)	6,84 (1,33)	ns	ns	ns

<sup>1</sup> Escala de 1 (me desagradó extremadamente) a 9 (me gusta extremadamente). ns: efecto no significativo ( $P>0,05$ )

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto al nivel de oxidación lipídica, no se observó una mejora significativa con la adición de ajo, es más, el grupo control dio valores más bajos de modo general (Tabla 1). Se ha estimado que valores de 0,5 y 1,3 mg MDA/kg en cordero pueden considerarse como el límite de vida útil de la carne (Muela et al., 2014). En la carne del grupo control, sólo una muestra supera 0,5 mg MDA/kg a los 8 días de exposición, mientras que en el resto de los grupos, más de la mitad de las muestras superan este valor a los 8 días de exposición en

film. Con respecto al color, considerando todos los días de exposición estudiados, la adición de ajo en la dieta disminuye el valor de  $b^*$  y el croma y presenta un índice de decoloración más bajo, lo que indica una menor estabilidad del color. Segmentando los datos por los días de exposición estudiados, el ajo afecta al índice de amarillo ( $b^*$ ) y al croma en el día 5 y más evidentemente en el día 8 (Figura 1). A nivel sensorial, estas diferencias en el color instrumental no se reflejaron en la degradación del color por parte de un panel entrenado de siete miembros ( $P>0,05$ ). Nuestros resultados contradicen al trabajo de Choi et al. (2010), ya que ellos observaron un efecto positivo de la adición de ajo en la dieta sobre la estabilidad del color en el contramuslo de pollo.

El olor a cordero de la carne cruda fue menos intenso ( $P<0,01$ ) cuando se añadió ajo a las dietas (Tabla 1), quizás debido a un enmascaramiento por la presencia de otros aromas, si bien el panel no fue capaz de encontrar diferencias cuantitativas (la intensidad de olores a rancio y a ajo de los distintos grupos experimentales no resultaron estadísticamente diferentes,  $P>0,05$ ). Observando los datos por día de exposición, las diferencias fueron más evidentes en el día 8, donde la dieta control presentó la intensidad más alta de olor a cordero (Figura 1). En cualquier caso, las intensidades de olor detectadas se pueden considerar globalmente bajas (escala de 1 a 10). En carne cocinada de cordero, la suplementación de ajo en la dieta, tampoco presentó efectos significativos en el aroma y flavor (Chaves et al., Strickland et al., 2011), a pesar del bajo umbral de olfacción de los compuestos azufrados presentes en el ajo.

El perfil de los 80 consumidores es una población equilibrada por sexo y con una adecuada representatividad en su distribución por edad, presentando un consumo de carne en general, y de carne de ovino en particular, acorde a las estadísticas de la población regional. Las notas de aceptabilidad de la carne han sido altas, obteniéndose unos valores medios que indican "me gusta moderadamente" y no han sido afectadas por los factores estudiados (Tabla 2).

De modo general, la inclusión de moltura de ajo en la dieta de los corderos en el nivel estudiado, ha tenido un escaso efecto en la vida útil y en el aroma de la carne cruda. La aceptación del producto por parte de los consumidores españoles fue similar para los cuatro grupos experimentales analizados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Choi, I.H., et al. 2010. *Poult. Sci.* 89: 1724-1731. • Chaves, A.V. et al. 2008. *Livest. Sci.* 117: 215-224. • Cross, D.E., et al. 2011. *Br. Poult. Sci.* 52: 227-237. • Kim, Y.J., et al. 2009. *Poult. Sci.* 88: 398-405. • Leong, J., et al. 2010. *Meat Sci.* 84: 699-705. • Li, W.-Q., et al. 2015. *J. Agric. Food Chem.* 63: 787-794. • Muela, E., Sañudo, C., Alonso, V., Roncalés, P. y Beltrán, J.A. 2014. 59th ICoMST Congress, Izmir (Turquía). • Resconi, V.C et al. 2017. *Jornadas en Producción Animal, AIDA. Zaragoza (España)* • Strickland, V.J., et al. 2011. *Meat Sci.* 88: 590-593.

**Agradecimientos:** A J. Pomed y a las estudiantes de veterinaria S. Benítez, M.E. Martín de Castro e I. Zabala. V.C. Resconi disfruta de un contrato del Programa Juan de la Cierva-Incorporación (Ministerio de Economía y Competitividad).

## GARLIC POWDER IN THE MEAT QUALITY OF LIGHT LAMBS

**ABSTRACT:** Garlic has an intense aroma and antioxidant and antimicrobial properties, therefore, their inclusion in animal feeding might improve meat quality. The aim of this study was to evaluate the effect of adding garlic powder in light lambs diets in the shelf-life, the aroma of the raw meat and the eating acceptability assessed by 80 consumers. In total, 36 animals were allocated in four groups: 1) Control (commercial concentrate), 2) Medicine (control + chlortetracycline 10% and decoquinat 36 ppm), 3) Garlic (control + 0.6% of garlic powder), and 4) Garlic + Medicine. In general, adding garlic powder to lamb feeding had a small effect in the shelflife and the aroma of the raw meat. The acceptability of the product was similar for all the experimental groups studied.

**Keywords:** shelf-life, consumer test, finishing diet, meat

## PARÁMETROS DE CALIDAD CRÍTICOS PARA LA COMERCIALIZACIÓN DE CARNE DE CORDERO DESCONGELADA

Bellés, M.<sup>1</sup>, Alonso, V.<sup>1</sup>, Roncalés, P.<sup>1</sup>, y Beltrán, J.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza, España. mbelles@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

La congelación es el método de conservación elegido para el comercio mayorista ya que permite conservar la carne de cordero durante periodos prolongados de tiempo (Wheeler et al., 1990). En cambio, la carne de cordero destinada a la venta directa se conserva refrigerada, comúnmente en combinación con el envasado en atmósferas modificadas ricas en oxígeno (Bellés et al., 2017). Esta combinación ofrece un producto listo para el consumo que al mismo tiempo, resulta atractivo para el consumidor debido al color rojo intenso que desarrolla el cordero bajo estas condiciones de envasado. Sin embargo, este sistema de conservación ofrece una vida útil demasiado corta para la distribución a media y larga distancia. La comercialización de carne descongelada envasada en atmósferas modificada podría satisfacer los requerimientos tanto de la industria cárnica como de los consumidores. No obstante, los efectos de este proceso sobre la calidad de la carne no se conocen con exactitud. Bajo este contexto, el objetivo del presente trabajo fue identificar aquellos parámetros de calidad de la carne de cordero que sufren modificaciones críticas como resultado del proceso de congelación, descongelación y conservación en refrigeración. Para ello, se comparó la calidad de la carne sometida a este proceso con la de la carne fresca durante su conservación en condiciones comerciales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo con 24 canales de cordero de raza Rasa Aragonesa con un peso comprendido entre 10-12,5 kg. Tras el sacrificio, las canales se refrigeraron durante 24 horas (4°C) y se procedió a su despiece en las instalaciones de Casa Ganaderos, tomando como muestra la pierna derecha de cada canal. Posteriormente, las piernas se transportaron refrigeradas a la Planta Piloto de la Facultad de Veterinaria, donde se dividieron en dos lotes. Doce piernas se envasaron a vacío y se mantuvieron a -20°C durante 6 meses. Tras este periodo de congelación se fileteó la parte proximal (8 chuletas), se envasaron las chuletas individualmente en atmósfera modificada (70% O<sub>2</sub> – 30% CO<sub>2</sub>) y se conservaron en condiciones comerciales de venta directa durante 9 días (4°C, 12h de luz artificial). Las chuletas se terminaron de descongelar durante el periodo de refrigeración. Las doce piernas restantes se filetearon, se envasaron en la misma atmósfera y se refrigeraron en las mismas condiciones. La parte distal de las piernas se utilizó para la determinación de la textura. Los análisis se realizaron tras 0, 3, 6 y 9 días de refrigeración siempre sobre el músculo *Semimembranosus*, utilizando dos envases de cada pierna en cada día de análisis. Un envase se utilizó para el análisis visual, la medida de las pérdidas por exudación y el color instrumental, mientras que del envase restante se tomaron muestras para realizar los recuentos microbianos, la medida de la oxidación lipídica y el perfil de ácidos grasos. Para la determinación instrumental del color se tomaron 10 medidas sobre la superficie del filete utilizando un espectrofotómetro de reflectancia (Minolta CM-2002; Osaka, Japón). El porcentaje de metamioglobina se calculó de acuerdo con Krzywicki (1979). El color de la médula se evaluó mediante un panel entrenado compuesto por 9 panelistas. Se utilizó para ello una escala de seis puntos (1 = rojo brillante, 2 = rojo mate, 3 = gris rojizo, 4 = moderadamente gris, 5 = gris negruzco, 6 = negro). Las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) se cuantificaron como describe Alonso *et al.* (2015). Para los recuentos de microorganismos mesófilos aerobios viables totales (MAVT) se recogieron las muestras mediante hisopado en una superficie de 10 cm<sup>2</sup> para posteriormente realizar diluciones sucesivas en agua de peptona 0,1% (Biolife). Se sembró 1 ml empleando agar PCA (Merck) y se incubaron las placas en aerobiosis a 37°C, realizando el recuento a las 24h. El perfil de ácidos grasos y las pérdidas por exudación se determinaron siguiendo la metodología descrita por Alonso et al. (2016). Para la medida de la textura, el extremo distal de la pierna se envasó a vacío (Multivac Packaging Systems S.L., España) y se cocinó en un baño termostático con agua a 80°C hasta alcanzar una temperatura interna de 72°C. Una vez la pierna estaba cocida y atemperada, se cortó el músculo *Semimembranosus* en

prismas de 5 cm de largo y  $1 \times 1 \text{ cm}^2$  de sección, paralelos a la dirección de las fibras musculares (4 prismas por pierna). Posteriormente se analizaron con una sonda de textura Warner-Bratzler conectada a un analizador de textura TA-XT2 (Estable Micro System, Godalming, Reino Unido) equipado con una célula de carga de 250 N y una velocidad de corte de 2 mm/s. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante un modelo lineal general utilizando el paquete estadístico SPSS versión 19.0 (IBM SPSS, 2010). El modelo incluyó la congelación y el tiempo de refrigeración (efectos fijos) el animal (efecto aleatorio) y sus interacciones. Se aplicó el test de Tukey para comparar la media de los valores entre los tratamientos analizados y las diferencias se consideraron significativas si  $P \leq 0,05$ . Se encontró una interacción significativa entre los efectos principales sobre las variables  $a^*/b^*$ , porcentaje de metamioglobina, color de la médula y recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales, por ello se estudió el efecto de la congelación dentro de cada día de estudio y el efecto del tiempo dentro de cada tratamiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La carne descongelada no difirió de la carne fresca en ningún parámetro de calidad antes del periodo refrigeración. No obstante, a lo largo de este se apreciaron diferencias significativas para algunas de las variables medidas (Tabla 1). El color fue uno de los parámetros en los que el proceso de congelación/descongelación ejerció un mayor efecto. De esta forma, las muestras descongeladas sufrieron una caída más rápida del índice  $a^*:b^*$ , resultando en un valor significativamente menor que el medido en las chuletas frescas a los 3 días de mantenimiento en refrigeración ( $P \leq 0,001$ ). El descenso del índice de rojo en ambos tratamientos a lo largo del tiempo podría explicarse por el incremento de la oxidación lipídica y la acumulación de metamioglobina ( $P \leq 0,001$ ). Es bien conocida la interrelación entre oxidación lipídica, oxidación proteica y decoloración (Faustman et al., 2010). No obstante, esta teoría no explicaría las diferencias observadas entre los tratamientos para este índice tras tres días de conservación, ya que no se encontraron diferencias en el contenido de metamioglobina ( $P = 0,072$ ) ni el de malonaldehído ( $P = 0,086$ ). Esta interrelación tampoco podría identificarse como la causa de las diferencias observadas en el color de la médula ósea de ambos tratamientos ( $P \leq 0,001$ ). Las chuletas descongeladas sufrieron un oscurecimiento progresivo de su médula ósea ( $P \leq 0,001$ ), obteniendo ya un valor de 5,04 sobre una escala de seis puntos a los tres días, lo que señala la intensidad y rapidez de este proceso. En cambio, en la carne fresca no se obtuvo una valoración superior a 3,21 puntos. Los huesos ennegrecidos se observan en el supermercado en algunas ocasiones, no siendo claras las causas que originan este fenómeno. La oxidación de la hemoglobina podría estar detrás del paso del color rojo brillante de la médula al color negro que genera rechazo en el consumidor. La congelación-descongelación de la carne no tuvo efecto en la terneza pero originó un aumento significativo de las pérdidas por exudación ( $P \leq 0,001$ ). Estas pérdidas se produjeron principalmente durante los tres primeros días, no siendo significativo el aumento desde este punto en adelante. Este efecto ya había sido previamente descrito y se asocia con los daños que producen en la estructura del músculo los cristales formados durante el almacenamiento en congelación (Alonso et al., 2016, Añón & Calvelo, 1970). El efecto de la congelación en el crecimiento microbiano es todavía foco de debate. Según Leygonie et al. (2012) ni la congelación ni la descongelación podrían inactivar células bacterianas presentes en la carne. Éstos se encontrarían únicamente en fase latente hasta aumentar la temperatura. No obstante, los resultados observados se explicarían mejor de acuerdo con lo observado por Archer (2000) y Lund (2004), según los cuales la congelación y la descongelación podrían dañar las células microbianas debido a los fenómenos de cristalización, recristalización, concentración de solutos y a las bajas temperaturas. No se encontraron diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos entre ambos tratamientos ni antes ni tras el periodo de refrigeración.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alonso et al. 2015. Meat Sci 107:49–56 • Alonso et al. 2016. Eur Food Res Technol 242:2119-2127 • Añón & Calvelo 1980. Meat Sci 4:1–14 • Archer 2004. Int J Food Microbiol 90:127-138 • Bellés et al. 2017. Small Ruminant Res 146:41-47 • Faustman et al. 2010.

**Tabla 1.** Media y desviación estándar de los parámetros de calidad fisicoquímicos y microbiológicos de la carne de cordero fresca y descongelada durante su conservación en condiciones comerciales.

Variables	Tratamiento	Días en refrigeración				P
		0	3	6	9	
a*:b*	Fresco	1,08±0,05 <sup>z</sup>	1,05±0,08 <sup>b,z</sup>	0,49±0,17 <sup>y</sup>	0,25±0,05 <sup>x</sup>	≤0,001
	Descongelado	1,09±0,01 <sup>z</sup>	0,78±0,07 <sup>a,y</sup>	0,46±0,20 <sup>x</sup>	0,34±0,13 <sup>x</sup>	≤0,001
	P	0,101	≤0,001	0,078	0,118	
% Metamioglobina	Fresco	21,83±0,97 <sup>x</sup>	26,74±2,32 <sup>x</sup>	60,47±5,24 <sup>y</sup>	67,71±4,44 <sup>z</sup>	≤0,001
	Descongelado	19,26±3,34 <sup>x</sup>	28,65±3,29 <sup>x</sup>	53,26±7,81 <sup>y</sup>	67,66±3,15 <sup>z</sup>	≤0,001
	P	0,100	0,272	0,030	0,986	
Color de la médula	Fresco	2,18±0,83 <sup>x</sup>	2,65±1,27 <sup>a,x</sup>	2,93±1,14 <sup>a,xy</sup>	3,21±0,71 <sup>a,y</sup>	≤0,001
	Descongelado	2,46±0,96 <sup>w</sup>	5,04±0,70 <sup>b,x</sup>	5,47±0,75 <sup>b,y</sup>	6,00±0,00 <sup>b,z</sup>	≤0,001
	P	0,066	≤0,001	≤0,001	≤0,001	
mg malondialdehído/kg	Fresco	0,07±0,03 <sup>x</sup>	1,91±0,54 <sup>y</sup>	3,40±0,26 <sup>z</sup>	2,74±0,77 <sup>z</sup>	≤0,001
	Descongelado	0,12±0,03 <sup>x</sup>	1,36±0,45 <sup>y</sup>	2,70±1,03 <sup>z</sup>	2,96±0,29 <sup>z</sup>	≤0,001
	P	0,097	0,086	0,137	0,510	
Pérdidas por exudación (%)	Fresco	-	1,31±0,37 <sup>a,x</sup>	1,88±0,33 <sup>a,y</sup>	1,93±0,39 <sup>a,y</sup>	0,016
	Descongelado	-	6,67±1,20 <sup>b</sup>	6,25±1,29 <sup>b</sup>	6,27±1,37 <sup>b</sup>	0,888
	P	-	≤0,001	≤0,001	≤0,001	
Terneza (kg/cm <sup>2</sup> )	Fresco	5,44±1,29	-	-	-	-
	Descongelado	6,68±1,05	-	-	-	-
	P	0,099	-	-	-	-
Microorganismos mesófilos aerobios totales	Fresco	2,02±0,06 <sup>x</sup>	2,63±0,51 <sup>x</sup>	3,23±0,84 <sup>xy</sup>	5,10±0,36 <sup>b,y</sup>	≤0,001
	Descongelado	1,83±0,33 <sup>x</sup>	2,09±0,82 <sup>x</sup>	2,64±0,48 <sup>xy</sup>	3,41±0,64 <sup>a,y</sup>	≤0,001
	P	0,191	0,200	0,162	≤0,001	
Σ Ácidos grasos saturados (%)	Fresco	37,69±1,96 <sup>x</sup>	-	-	39,80±1,07 <sup>y</sup>	0,044
	Descongelado	39,63±1,26	-	-	39,92±1,31	0,705
	P	0,069	-	-	0,867	
Σ Ácidos grasos poliinsaturados (%)	Fresco	14,66±4,13 <sup>y</sup>	-	-	10,38±1,89 <sup>x</sup>	0,043
	Descongelado	13,09±2,85	-	-	12,42±2,79	0,689
	P	0,460	-	-	0,169	
Σ Ácidos grasos monoinsaturados (%)	Fresco	44,30±2,71	-	-	46,69±1,40	0,083
	Descongelado	44,18±2,63	-	-	44,72±2,22	0,709
	P	0,942	-	-	0,095	

Valores en una misma columna con letras diferentes (<sup>a,b</sup>) son significativamente diferentes  
 Valores en una misma fila con superíndice diferente (<sup>x,y</sup>) son significativamente diferentes.

## IDENTIFICATION OF THE CRITICAL QUALITY PARAMETERS TO COMMERCIALISE THAWED LAMB

**ABSTRACT:** The commercialization of thawed lamb packaged in MAP and maintained in display could be profitable either for customers or distribution. Nevertheless, the effects of this process on lamb quality are not well known. The aim of this study was to identify the lamb quality parameters that are critically modified during the freezing-thawing process. Physicochemical, microbiological and sensory analyses were performed. Thawed samples showed lower values in the index a/b as well as a faster development of marrow bone darkening but no difference was noted in lipid oxidation or tenderness between fresh and thawed lamb. Freezing/thawing delayed microbial growth so that it showed lower counts than those registered in fresh chops. The results of this work pointed out that colour and drip loss would be the parameters most susceptible to deteriorate during the display of thawed lamb packaged in MAP.

**Keywords:** Thawed lamb; display; colour; fatty acid profile.

## **CARACTERIZACIÓN DE PIEZAS CÁRNICAS COMERCIALES DE LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN PROTEGIDA (DOP) “CARNE BARROSÃ”**

Cerqueira, J.O.L.<sup>1,2</sup>, Vieira, C.J.P.<sup>1</sup>, Leite, J.V.<sup>3</sup>, Blanco-Penedo, I.<sup>4</sup>, Cantalapiedra J.<sup>5</sup> y Araújo, J.P.<sup>1,6</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.ipvc.pt

<sup>2</sup>Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal.

<sup>3</sup>Associação dos Criadores de Bovinos de Raça Barrosã, Lanhas, Vila Verde, Portugal

<sup>4</sup>Subprograma Bienestar Animal, IRTA, Monells, Girona, España.

<sup>5</sup>Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España.

<sup>6</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo.

### **INTRODUCCIÓN**

La Barrosã es una raza bovina que se ubica geográficamente en el norte de Portugal. Su peso medio al nacimiento es de 26,6 kg, sacrificándose generalmente entre los 6 y 8 meses de edad. Según los datos de la Dirección General de Alimentación y Veterinaria (DGAV) (2013), los pesos medios para machos y hembras son de 184 kg y 169 kg, con pesos para la canal que rondan los 94 kg y los 85 kg respectivamente, obteniéndose estos resultados a los 207 días en machos y a los 211 días en las hembras.

De acuerdo con el Cuaderno de Especificaciones de la carne Barrosã DOP, esta obligatoriamente tiene origen en animales con edad entre los 5 a 9 meses y con pesos de canal entre los 70 - 130 kg y se presenta en el mercado de diferentes formas: en medias canales, despiezada, embalada al vacío, como carne picada para la preparación de otros productos, etc. Tecnológicamente la mejor canal a nivel comercial será la que presente un mayor porcentaje de músculo en relación con la cantidad de hueso, un nivel de grasa ajustada a las preferencias del mercado y que permita una buena conservación en frigorífico preservando sus cualidades sensoriales y sanitarias (Martins, 2001).

En virtud de la normativa portuguesa (Portaria nº1085/82), la canal de ternera se divide por un corte sagital, en dos medias-canales que a su vez se descomponen en las piezas que posteriormente se comercializan. Este trabajo tiene como objetivo evaluar algunas características de las canales y de los cortes comerciales de la “Carne Barrosã-DOP”, para que sea posible tener una idea real del rendimiento de las canales y de las diferentes piezas cárnicas comerciales de la raza.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para este estudio se recogieron datos de la Asociación de los creadores de bovinos de la raza Barrosã (AMIBA), referentes a las canales y las piezas para la comercialización como “Carne Barrosã - DOP” entre los años 2010 a 2014 con un total de 6435 registros recogidos de la base de datos de la plataforma RURALBIT. Posteriormente, se procedió a la validación de la misma, a través de la eliminación de los límites y de los valores fuera del intervalo de los criterios establecidos por el agrupamiento de productores (CAPOLIB), según el cuaderno de especificaciones. El tratamiento estadístico de estos datos fue realizado utilizando los programas Microsoft Excel 2013 y SPSS para Windows, versión 22.0.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Del análisis general se determina que la edad promedio de sacrificio de la raza Barrosã amparada por la DOP fue de 233,49±18,93 días con un coeficiente de variación del 8,1%. Son valores ligeramente más altos que los reportados por DGAV (2013), que eran de 211 días para las hembras y 207 días para los machos. Para la media de peso de la canal, se encontraron valores de 100,05±9,85 kg. Estos valores son también más altos que los descritos por DGAV (2013) que fueron de 84 kg para las hembras y 94 kg para los machos. El peso y rendimiento de la canal despiezada, fueron de 68,86±13,92 kg y 68,81±11,81%, con elevados coeficientes de variación (20,21% y 17,16%) (Tabla 1). Se constató que todas las piezas del despiece de la canal de primera categoría mostraron pesos más altos en los machos en comparación con las hembras. Los datos obtenidos indican que existen diferencias significativas (P<0,001) entre las siguientes partes: aguja; cabeza con rabillo y tapilla; y tapa con pesos para las hembras de 4,50±1,67 kg, 3,29±0,53 kg y 6,43±0,95 kg, respectivamente, mientras que los machos eran superiores (5,52±1,56 kg, 3,52±0,63 kg y



6,88±1,10 kg), en el mismo orden. Los pesos de la babilla; contra, redondo y culata de contra; y espalda con redondo no revelaron diferencias ( $P>0,05$ ) entre sexos y fueron de 4,29±0,88 kg, 5,21±2,07 kg y 4,83±1,97 kg, en las hembras y de 4,27±0,95 kg, 5,72±2,10 kg y 5,17±1,97 kg, en los machos respectivamente (Tabla 2). No hubo diferencias significativas ( $P>0,05$ ) entre los pesos de la falda (kg) de las hembras (3,43±1,12) y los machos (3,64±1,04), con una diferencia de 0,21 kg. Los pesos de las hembras mostraron una gran dispersión de resultados ( $CV> 30\%$ ), mientras que en los machos se observó un CV de 10% al 30%. Para el morcillo sin hueso y para el cuello se determinaron diferencias significativas ( $P<0,001$ ), con pesos del morcillo sin hueso de 5,86±1,35 kg en hembras y de 6,78±1,29 kg en machos. El peso del cuello fue de 4,17±0,93 kg para hembras y de 5,24±1,06 kg para los machos con CV del 10% al 30% (Tabla 3). Se encontraron diferencias significativas ( $P<0,001$ ) para el peso de la falda costillas entre los sexos, 4,72±1,35 kg en machos y 4,27±1,52 kg en hembras, con un CV de 10 % al 36%. No hubo diferencias significativas ( $P>0,05$ ) para el peso de la aleta entre las hembras (4,93±1,93 kg) y los machos (5,04±1,59 kg), obteniéndose una gran dispersión (CV), superior al 30% (Tabla 4). Al comparar estas cifras con las mencionadas por Alves y Almeida (1991), se encontraron valores más altos en el peso de la babilla y de la cabeza con rabillo y tapilla, siendo los restantes pesos comparados con estos autores, inferiores.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, V.C., Almeida, J.C., 1991. Raças Autóctones e o seu valor comercial. In: Jornadas Regionais da Agricultura - Raças Autóctones que futuro?. Arcos de Valdevez. Edição Aldeia, p.17 -21.
- DGAV (Direção Geral de Alimentação e Veterinária), 2013. Raças Autóctones Portuguesas. Clássica, artes gráficas, SA, Lisboa.
- Martins, L.C., 2001. Raça Barrosã. Associação dos Criadores de Bovinos de Raça Barrosã, 108 pp.

**Agradecimientos:** A la Asociación de los creadores de bovinos de la raza Barrosã (AMIBA) que facultó los datos para este estudio. Este estudio ha sido realizado gracias a los proyectos del CECAV UID/CVT/00772/2013 y UID/CVT/00772/2016, financiados por Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), para el trienio 2015-2017.

**Tabla 1. Estadística descriptiva de los parámetros de sacrificio de los animales**

Parámetros	N	Media±Desviación típica	Mínimo	Máximo	Coefficiente de variación (%)
Edad al sacrificio (días)		233,49±18,93	198,00	275,00	8,11
Peso de la canal (kg)	1997	100,05±9,85	84,87	120,35	9,85
Peso de despiece (kg)		68,86±13,92	27,77	95,67	20,21
Rendimiento de despiece (%)		68,81±11,81	31,15	79,99	17,16

**Tabla 2. Peso de las piezas de carne de primera categoría en función del sexo (kg)**

Piezas cármicas	Sexo	Media ± Desviación típica	Coefficiente de variación (%)	Valor P
Aguja	hembra	4,50±1,67	37,1	0,001
	macho	5,52±1,56	28,3	
Cabeza con rabillo y tapilla	hembra	3,29±0,53	16,1	0,001
	macho	3,52±0,63	17,9	
Tapa	hembra	6,43±0,95	14,8	0,001
	macho	6,88±1,10	15,9	
Babilla	hembra	4,29±0,88	20,5	NS
	macho	4,27±0,95	22,2	
Contra, redondo y culata de contra	hembra	5,21±2,07	39,7	NS
	macho	5,72±2,10	36,7	
Espalda con redondo	hembra	4,83±1,97	40,8	NS
	macho	5,17±1,97	38,1	

NS – No significativo

**Tabla 3. Peso de las piezas de carne de segunda categoría en función del sexo (kg)**

Piezas cárnicas	Sexo	Media ± Desviación típica	Coefficiente de variación (%)	Valor P
Falda	hembra	3,43±1,12	32,7	NS
	macho	3,64±1,04	28,6	
Morcillo sin hueso	hembra	5,86±1,35	23,0	0,001
	macho	6,78±1,29	18,9	
Cuello	hembra	4,17±0,93	22,3	0,001
	macho	5,24±1,06	20,2	

NS – No significativo

**Tabla 4. Peso de las piezas de carne de tercera categoría en función del sexo (kg)**

Piezas cárnicas	Sexo	Media ± Desviación típica	Coefficiente de variación (%)	Valor P
Falda costillas	hembra	4,27±1,52	35,6	0,001
	macho	4,72±1,35	28,6	
Aleta	hembra	4,93±1,93	39,1	NS
	macho	5,04±1,59	31,5	

NS – No significativo

#### **CHARACTERIZATION OF COMMERCIAL MEAT PIECES OF THE PROTECTED ORIGIN DENOMINATION (DOP) “CARNE BARROSÃ”**

**ABSTRACT:** The age at slaughter of animals labeled as “carne Barrosã - DOP” was about 234 days, with a carcass weight of 100.05 kg. The carcass weight was found to be 68.86 kg with a carcass performance of 68.81%. In all the parameters the males showed higher of weights in relation to the females. The first category piece with the lowest weight was the “cabeza con rabillo y tapilla” (3.46 kg), while the largest one was the “tapa” (6.77 kg). In the pieces of meat of second category the “falda” obtained a weight of 3.59 kg, “morcillo sin hueso” 6.55 kg and the piece “cuello” 4.97 kg. The “falda costillas” revealed a weight of 4.61 kg and the “aleta” of 5.02 kg, both pieces classified as third category.

**Keywords:** Barrosã breed, slaughter, carcass, meat pieces.

## EFFECTO DEL PESO CANAL Y EL TIEMPO DE OREO EN LA CANAL Y CARNE DE RAZA OJINEGRA DE TERUEL

Ripoll, G.\*, Blanco, M., Panea, B. y Joy, M.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Avda. Montañana, 930, 50.059. Zaragoza, España. \*gripoll@aragon.es

### INTRODUCCIÓN

La raza Ojinegra de Teruel es una de las tres razas admitidas en la I.G.P. Ternasco de Aragón. Esta I.G.P. tiene como requisito que la canal ovina pese entre 8 y 12,5 kg, aunque la tendencia es a producir canales más pesadas dentro del rango admitido. En general, la carne de cordero se vende en fresco con un mínimo envasado o procesado. Sin embargo, la raza Ojinegra de Teruel es de pequeño formato, lento crecimiento y engrasamiento precoz. Esto condiciona la adaptación de sus productos a las características solicitadas por el reglamento técnico de dicha IGP y por el mercado. Habitualmente, en España, la canal ovina se refrigera inmediatamente después del sacrificio, y permanece alrededor de 24 h a una temperatura entre 0 °C y 4 °C, llegando a los puntos de venta entre las 24 y 48 h *post-mortem* (Vieira y Fernández, 2014). Las condiciones de refrigeración como el tiempo y la temperatura afectan al color, la carga microbiológica y a la terneza de la canal ovina (Fernández y Vieira, 2012). Además, dependiendo del peso y el engrasamiento de la canal se puede producir el acortamiento por frío de las fibras musculares, que produce carne dura y de peor calidad (Savell *et al.*, 2005). Asimismo, la cantidad de grasa, tanto subcutánea como intramuscular previene el acortamiento de los sarcómeros y hace menos perceptible el tejido conectivo siendo la carne más tierna (Smith *et al.*, 1976). El objetivo de este trabajo fue encontrar el peso canal más adecuado para la raza Ojinegra de Teruel en función del tiempo de oreo hasta que se comercializa la carne del cordero.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los corderos se obtuvieron de un cebadero de la asociación de criadores de raza Ojinegra de Teruel (AGROJI). Los corderos destetados a los 50 días se cebaron con pienso comercial y se fueron sacrificando aleatoriamente a razón de 12 corderos por semana durante seis semanas. De esta manera, se obtuvieron canales uniformemente repartidas entre los 50 y 90 días de edad, límite de la I.G.P. Ternasco de Aragón. Las canales se pesaron en caliente y se transportaron refrigeradas a las instalaciones del CITA. En función de este peso de canal se dividieron las canales en cuatro grupos experimentales a intervalos de 1 kg (8 kg, 9 kg, 10 kg y 11 kg). A las 24 h del sacrificio, se evaluó el engrasamiento de las canales (DOCE, 1994), se pesó la canal fría. Se dividió en dos semicanales, que también se pesaron. La semicanal derecha se volvió a mantener en refrigeración hasta el 3er día post-sacrificio, momento en el cual se pesó. Con estos pesos se calcularon las pérdidas por oreo a 1 y 3 días. De la media canal izquierda se retiró la grasa renal, que se pesó. Se despizó la canal, se pesó la paletilla y se realizó la disección de la misma (Panea *et al.*, 2012). De ambas semicanales se extrajo el músculo *Longissimus lumborum*, se envasó a vacío y se congeló hasta la determinación del esfuerzo máximo (Panea *et al.*, 2010). Además, se extrajo el músculo *Longissimus thoracis*, que se dividió en 4 porciones que se colocaron en bandeja cubierta de film permeable al oxígeno durante 0, 2, 5 y 7 días de exposición al oxígeno en oscuridad a 4 °C. Posteriormente, se congelaron las muestras hasta el análisis de oxidación lipídica (TBARS) (Ripoll *et al.*, 2013).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se pudo formar el grupo de 12 kg, probablemente debido a que la raza es de formato pequeño (Arrufat, 1982) y alcanza un peso canal de 10 kg rápidamente, pero luego se ralentiza este crecimiento. Por el contrario, el número de canales, tras su asignación a los grupos por peso, es mayor en los grupos de 8 y 9 kg que en los restantes (Tabla 1). Esto estaría de acuerdo con el engrasamiento de la canal, que aumenta hasta los 10 kg para luego no incrementarse, al igual que el peso de la grasa renal y la grasa intermuscular de la espalda. De igual manera, el porcentaje de hueso

aumenta significativamente de 8 a 10 kg de canal, y a 11 kg ya no hay diferencias significativas. En otras razas, como la Churra Tensina, se encontró que tanto el engrasamiento como la grasa renal siguen aumentando con el peso vivo (Sanz *et al.*, 2008) debido probablemente a que es una raza más tardía. Estos mismos autores encontraron que las pérdidas por oreo a 1 día no variaban con el peso, sin embargo en nuestro estudio las pérdidas disminuyeron conforme aumenta el peso, de acuerdo con lo expuesto por otros autores (Savell *et al.*, 2005; Smith y Carpenter, 1973).

**Tabla 1.** Calidad de la canal y composición tisular de la espalda.

	8 kg	9 kg	10 kg	11 kg	e.e.	Pr > F
n	21	22	16	14		
Peso canal caliente, kg	8,14 <sup>a</sup>	9,35 <sup>b</sup>	10,37 <sup>c</sup>	11,31 <sup>d</sup>	0,092	< 0,001
Peso canal fría, kg	8,01 <sup>a</sup>	9,22 <sup>b</sup>	10,23 <sup>c</sup>	11,17 <sup>d</sup>	0,094	< 0,001
Engrasamiento (1-12)	5,1 <sup>c</sup>	6,6 <sup>b</sup>	7,6 <sup>a</sup>	7,6 <sup>a</sup>	0,25	< 0,001
Engrasamiento (1-4)	2	3 <sup>-</sup>	3	3		
Pérdidas oreo 1 día, %	1,68 <sup>a</sup>	1,44 <sup>b</sup>	1,33 <sup>b</sup>	1,24 <sup>b</sup>	0,082	0,001
Pérdidas oreo 3 días, %	3,69 <sup>a</sup>	3,42 <sup>a</sup>	3,38 <sup>ab</sup>	2,57 <sup>b</sup>	0,280	0,027
Peso grasa renal, g	70,22 <sup>c</sup>	100,26 <sup>b</sup>	118,71 <sup>ab</sup>	140,98 <sup>a</sup>	7,638	< 0,001
pH a 24 horas	5,65	5,64	5,63	5,6	0,018	0,210
<b>Composición tisular de la espalda</b>						
Músculo, %	62,89	63,25	61,88	61,18	0,646	0,116
Grasa subcutánea, %	3,61	3,05	3,07	3,80	0,442	0,435
Grasa intermuscular, %	9,93 <sup>b</sup>	11,39 <sup>b</sup>	13,88 <sup>a</sup>	14,69 <sup>a</sup>	0,752	<0,001
Hueso y otros, %	23,57 <sup>a</sup>	22,32 <sup>b</sup>	21,17 <sup>c</sup>	20,34 <sup>c</sup>	0,388	<0,001

En la Tabla 2 se muestra el efecto del peso canal y el tiempo de oreo de la canal en el esfuerzo máximo. El esfuerzo máximo de la carne de la canal a 11 kg concuerda con los encontrados para esta raza por Ripoll-Bosch *et al.* (2012). No hubo interacción significativa entre los dos efectos, demostrando que el tiempo de oreo afectó por igual a las canales a pesar de las diferencias en engrasamiento. El músculo de la canal oreada 3 días fue más blando que el de 1 día debido a la maduración de la carne, independientemente del peso de la canal. Como ya se ha comprobado en otros trabajos, la carne de los animales ligeros es más dura que la de los pesados. Ripoll *et al.* (2012) encontraron que la carne de cabritos sacrificados con 4 kg de peso canal era más duras que la de los de 6 kg. Esto puede ser porque los animales de mayor edad tienen mayor actividad de las proteasas (Jaime *et al.*, 1992).

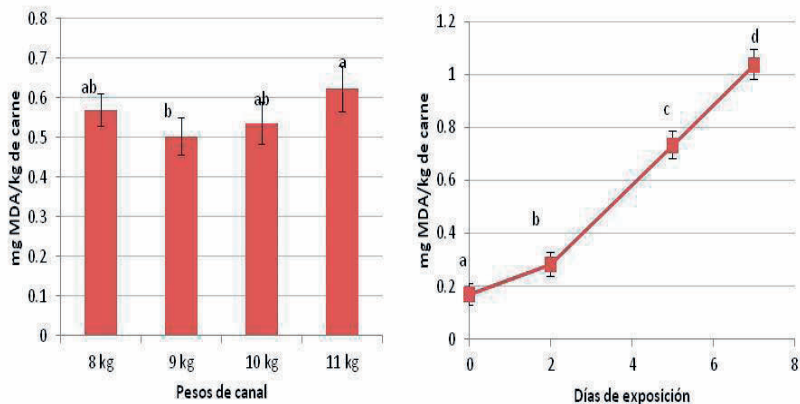
**Tabla 2.** Efecto del peso canal y el tiempo de oreo (t oreo) sobre el esfuerzo máximo del músculo *Longissimus thoracis*.

	Peso				t <sup>1</sup> oreo			Significación	
	8 kg	9 kg	10 kg	11 kg	1 d	3 d	e.e.	Peso	t <sup>1</sup> oreo
Esf. <sup>2</sup>	49,2 <sup>a</sup>	40,4 <sup>ab</sup>	42,0 <sup>ab</sup>	36,1 <sup>b</sup>	47,3	36,5	4,54	<0,001	<0,001

<sup>1</sup> Tiempo de oreo

<sup>2</sup> Esfuerzo máximo, N/cm<sup>2</sup>

En la Figura 1 se puede observar la oxidación lipídica para los distintos pesos de canal (P=0,002) y el tiempo de exposición al oxígeno (P<0,0001). El tiempo de oreo de la canal no afectó a la oxidación lipídica (P>0,05), demostrando que mientras no se separe de la canal, el lomo está protegido frente a la oxidación. La evolución de la oxidación fue similar a la encontrada por Muela *et al.* (2014) y Ripoll *et al.* (2013) en corderos de más de 11 kg de canal, aunque estos autores obtuvieron valores menores a 0 días. La canal de raza Ojinegra se puede llevar a pesos de 11 kg ya que no se sigue engrasando desde los 10 kg, la carne es más tierna y se puede dejar un oreo de 3 días sin incremento de pérdidas de oreo ni de oxidación lipídica, mejorando la ternura de la carne.



**Figura 1.** Oxidación lipídica de la carne a distintos pesos canal y durante el tiempo de exposición al oxígeno.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arrufat, A. (1982). VII Jornadas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia: 441-446.
- DOCE (1994). Reglamento (CEE) n° 1278/94. Num. L 140, 3/6/1994.
- Fernandez, A.M., Vieira, C. (2012). Meat Sci, 92: 569-574.
- Jaime, I. et al. (1992). Meat Sci 32: 357-366.
- Muela, E. et al. (2014). Meat Sci 98(2), 289-295.
- Panea, B. et al. (2010). ITEA, 106: 229-244.
- Panea, B. et al. (2012). ITEA, 108: 1-105.
- Ripoll-Bosch, R. et al. (2012). ITEA, 108: 522-536.
- Ripoll, G. et al. (2012). Meat Sci, 92: 62-70.
- Ripoll, G. et al. (2013). Meat Sci, 93: 906-913.
- Sanz, A. et al. (2008). ITEA, 104: 42-57.
- Savell, J.W. et al. (2005). Meat Sci 70: 449-459.
- Smith, G. et al. (1976). J Food Sci 41: 748-756.
- Smith, G.C., Carpenter, Z.L. (1973). J Anim Sci, 36, 862-867.
- Vieira, C., Fernandez, A.M. (2014). Meat Sci 96: 682-687.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a AGROJI y al personal del CITA su colaboración. Este proyecto ha sido financiado con el Fondo de Inversiones de Teruel y fondos FEDER. Contrato de M. Blanco financiado por INIA-FSE

### EFFECT OF CARCASS WEIGHT AND CHILLING TIME ON THE CARCASS AND MEAT QUALITY OF OJINEGRA DE TERUEL LIGHT LAMBS

**ABSTRACT:** Carcasses from Ojinegra de Teruel lambs were splitted into 4 groups according the carcass weight (8, 9, 10 and 10 kg) (n=73). The left half carcass was chilled for 1 d and the right half carcass was chilled for 3 d. Chilling losses, carcass characteristics, tissular composition of hind leg, *Longissimus thoracis et lumborum* Warner-Bratzler shear force and lipid oxidation at 0, 2, 7 and 9 days of air exposure were studied. Carcass fatness, renal fat and intermuscular fat of hind leg increased from 8 to 10 kg, but there were no significant differences between 10 and 11 kg. Shear force decreased significantly with the carcass weight and chilling time. There were no evidences of cold shortening in light carcasses due to long chilling time. Lipid oxidation was not affected by the chilling time but was greater for 11 kg than for 9 kg carcasses. The lipid oxidation increased significantly with the time of exposure to oxygen. Consequently, it is advisable to chill carcasses for 3 days to obtain more tender meat, however, the sensory evaluation should be carried out.

**Keywords:** lipid oxidation, toughness, tissular composition, ternasco

## **ACTITUDES DEL MERCADO ESPAÑOL Y BRASILEÑO EN LA DECISIÓN DE COMPRA Y CONSUMO DE CARNE DE VACUNO**

Magalhaes, D.R.<sup>1\*</sup>, Campo, M.M.<sup>1</sup> y Maza, M.T.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario IA2, Universidad de Zaragoza-CITA. 50013, Zaragoza.

<sup>2</sup>Dept. Ciencias Agrarias y del Medio Natural, Instituto Agroalimentario IA2, Universidad de Zaragoza-CITA. 50013, Zaragoza

\*d.magalhaes@yahoo.com.br

### **INTRODUCCIÓN**

Recientemente, se han producido cambios en el patrón de consumo de la población mundial, este comportamiento es motivado por un amplio conjunto de factores que se pueden distinguir en función del contexto, de origen social, cultural o económico. Los diferentes sectores de la economía comúnmente se dirigen a explorar las diferentes demandas requeridas por el mercado. Esto se debe a que los consumidores están exigiendo cada vez más lo que se refiere a la calidad y variedad de productos.

El sector de vacuno de carne es de gran importancia en la agroindustria de España y Brasil. Dentro de España, la producción de vacuno de carne es el tercer sector ganadero más importante en la economía, y dentro de la Unión Europea, ese sector, es el quinto más importante (MAPAMA, 2015). Brasil es uno de los líderes mundiales en el mercado de carne, es notoria su importancia entre los principales exportadores, pero también, debido a gran parte de su producción (70%) ser consumida dentro del propio país (ABIEC, 2015).

En esta investigación, por lo tanto, se pretende profundizar en las pautas de compra y consumo de carne de vacuno por la importancia que es este tema tiene para los dos países.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Este estudio fue parte de un proyecto más amplio en el cual se realizaron análisis cuantitativos mediante la aplicación de una encuesta en Zaragoza - España, y en Brasil en los Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná y Santa Catarina con el fin de comprender e interpretar el comportamiento de los compradores/consumidores de carne de vacuno de estos mercados.

El cuestionario de divulgación *online* fue hecho con la ayuda del *Software google docs*. Las encuestas online permiten al cuestionado una respuesta más meditada y anónima, sin prisa de tener que responder de inmediato, pues la persona elige el tiempo más adecuado para contestarlo (Abascal, Grande Esteban, 2014). En él se proporcionó un enlace junto a una carta de solicitud al cuestionario con información sobre el propósito del estudio y la correcta cumplimentación del mismo. A fin de identificar y eliminar posibles problemas en la estructura del cuestionario, se llevó a cabo una prueba piloto con un equipo del área de producción animal de la Universidad de Zaragoza.

El cuestionario estaba disponible en español y portugués; y constaba de 4 preguntas del tipo cerrado sobre los hábitos de compra y consumo de la carne de vacuno, además de los datos personales. Los cuestionarios fueron enviados entre julio de 2015 a diciembre de 2016, hasta obtener una cantidad superior a 400 respuestas. En total fueron recogidos 436 consumidores de la ciudad de Zaragoza - España y 1.696 consumidores en los cuatro Estados estudiados en Brasil (424 en Minas Gerais, 456 en São Paulo, 406 en Paraná y 410 respuestas en Santa Catarina), ambas poblaciones se componen de alrededor de 60% de mujeres y 40% hombres, con un rango de edad más joven, entre 18 y 35 años. La mayoría tiene formación universitaria y un ingreso mensual bien diversificado.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Como puede verse en la Tabla 1, la mayoría de los consumidores españoles consumen carne una vez a la semana (44,5%), mientras que los brasileños, el 82,3% consume carne dos o más veces por semana. En un estudio realizado por (Charlebois, McCormick y Juhasz, 2016) sobre el consumo de carne en Canadá, señala que los clientes todavía dan más valor en la compra y el consumo de carne que cualquier otro

grupo de alimentos. Los autores afirman que el consumo de proteína animal puede tener raíces culturales profundas, que definen el comportamiento del consumidor.

Los hábitos de compra y consumo de carne de vacuno difieren entre los consumidores de ambos países en relación con el local de compra de la carne de vacuno, los españoles prefieren ir a la carnicería tradicional o la estantería del supermercado, mientras que los brasileños prefieren la carnicería del supermercado, y dan menos preferencia a la estantería. Los consumidores en España y Brasil están muy preocupados por la apariencia del establecimiento de compra de la carne (una buena higiene) y también la relación calidad/precio. Los españoles, más que los brasileños, valoran el consejo del carnicero en el momento de la compra, además de preferir sitios que ofrezcan algún tipo de información y publicidad del producto en el punto de venta. En la encuesta también se ha valorado si los consumidores habían cambiado el consumo de carne de vacuno en los últimos dos años. Como resultado, se puede decir que el 37,4% de los españoles están consumiendo menos, y el 55% no ha cambiado el consumo. Los brasileños siguen el mismo patrón, el 32,4% consumiendo menos y el 53,9% sigue consumiendo la misma cantidad. El consumo de carne de vacuno puede haber sufrido una disminución, segundo (Klockner, 2017), por la reducción en el tamaño de la ración diaria, por una alternativa de comer más vegetariano, o por la sustitución por otros tipos de carne o pescado. La elección por la carne de vacuno en el momento de la compra, es decir, su preferencia, está dada por el hecho de que, a los españoles y a los brasileños, les gusta el sabor de la carne de vacuno. Las opiniones de los consumidores de los dos países difieren cuando se habla de costumbre y tradición del consumo de carne.

Otro tema abordado en este estudio fueron los aspectos de la trazabilidad de la carne de vacuno. La mayoría de los españoles y brasileños conocen el concepto de trazabilidad (52,8% y 58,4%, respectivamente). No tienen muy claro el concepto de trazabilidad el 36,0% de los españoles y el 21,1% de los brasileños. Barcellos *et al.* (2012) ha encontrado que el 54,7% de los consumidores brasileños conocen al sistema de trazabilidad, y la parte que, todavía, no conoce al sistema, puede ser explicado por la falta de mecanismos institucionales para informar al público de la trazabilidad.

Este estudio sigue en proceso de análisis de los datos y por lo tanto no se puede llegar a conclusiones definitivas. Como consideraciones se puede decir que los consumidores, tanto españoles como los brasileños están en busca de mejoras en el sector de carne de vacuno y están interesados en contribuir con la investigación para que se pueda optimizar la calidad y sanidad de ese producto.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC (Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne). Site Institucional: Estatísticas e notícias (2015). Disponible en: <[http://www.newsprime.com.br/img/upload2/2016\\_FolderPerfil\\_PT.pdf](http://www.newsprime.com.br/img/upload2/2016_FolderPerfil_PT.pdf)> Acceso en: 22/02/2017.
- Abascal, E.; Grande, I. Fundamentos y Técnicas de Investigación Comercial, ISBN:978-84-15986-02-7, 12ª edición, ESIC editorial, Madrid, 2014.
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente). Site Institucional: Caracterización del sector vacuno de carne (2015). Disponible en: [www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/caracterizaciondelsectorvacunodecarne2015\\_tcm7-267233.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/caracterizaciondelsectorvacunodecarne2015_tcm7-267233.pdf) Acceso en: 22/02/2017.
- Barcellos, et al. "Consumer perception of Brazilian Traced beef. Brazilian Journal of Animal Science", Vol.41 Iss. 3 pp. 771-771 (2012).
- Charlebois, S; McCormick, M y Juhasz, M." Meat consumption and higher prices Discrete determinants affecting meat reduction or avoidance amidst retail price volatility ", British Food Journal, Vol. 118 Iss 9 pp. 2251 – 2270 (2016).
- Klockener, C. A. A stage model as an analysis framework for studying voluntary change in food choices – The case of beef consumption reduction in Norway. *Appetite*, Vol 108 pp 434-449 (2017).

**Agradecimientos:** Al CNPq - Brasil (National Counsel of Technological and Scientific Development) por la beca de doctorado que se otorga al primer autor.

Tabla 1. Comparación de hábitos de compra y consumo de la carne de vacuno en España y Brasil

<b>Hábitos de compra y consumo de la carne de vacuno<sup>1</sup></b>			
	España (%)	Brasil (%)	P
<i>Frecuencia de consumo de carne de vacuno</i>			
2 o más veces a la semana	28,0	82,3	<0.001
1 vez por semana	44,5	11,8	
1 vez cada 15 días	17,0	3,9	
1 vez al mes o menos	10,6	2,0	
<i>Tipo de establecimiento de compra de la carne de vacuno</i>			
Carnicería tradicional	48,9	26,5	<0.001
Carnicería del super/hiper	20,9	54,0	
Estantería del super/hiper	27,3	15,3	
Otro	3,0	4,2	
<i>Cambio del consumo de carne de vacuno en los últimos 2 años</i>			
Más cantidad	8,0	13,9	<0.001
Menos cantidad	36,9	29,5	
Lo mismo	55,0	56,6	
<i>Información sobre la trazabilidad de la carne de vacuno</i>			
Conozco el concepto de trazabilidad	52,8	58,4	0.045
No tengo claro/no estoy seguro sobre el concepto	36,0	33,3	
Desconozco totalmente el concepto	11,2	8,3	

<sup>1</sup>n = 436 España, <sup>1</sup>n = 1.696 Brasil

### **ATTITUDES OF THE SPANISH AND BRAZILIAN MARKET IN THE DECISION ON THE PURCHASE AND CONSUMPTION OF BEEF**

**ABSTRACT:** This research aims to analyze the attitudes of the Spanish and Brazilian market in the decision to buy and consume beef. Analyses were carried out in Zaragoza, Spain, and in Brazil in the States of *Minas Gerais*, *São Paulo*, *Paraná* and *Santa Catarina*. Quantitative analysis was performed using a questionnaire in each referred area. Online divulgation made with the help of the google docs software. It provides a link together with a letter of request to the questionnaire with information about the purpose of the study and the correct completion of it. The questionnaires were sent between July 2015 and December 2016, to obtain an amount greater than 400 responses. A total of 436 responses were collected in Zaragoza, Spain. In Brazil: 424 in Minas Gerais, 456 in São Paulo, 406 in Paraná and 410 responses in Santa Catarina. It can be said that consumers, both Spaniards and Brazilians, are looking for improvements in the beef sector and are interested in contributing to research so that it can optimize the quality and health of that product.

**Keywords:** Attributes of beef, consumer preferences, Spain, Brazil.



## **PERCEPCIÓN DE LOS ATRIBUTOS DE CALIDAD EXTRÍNSECA DE LA CARNE DE CORDERO DE RAZA OJINEGRA DE TERUEL**

Ripoll, G.\*, Panea, B. y Joy, M.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. \* gripoll@aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

Los patrones de consumo de la carne están en constante cambio. Estos cambios no sólo se deben a las tendencias socio-económicas y culturales que afectan a toda la sociedad, sino también al estilo de vida específico de los grupos de los consumidores, los cuales están cada vez más diversificados. En el ámbito de la investigación de la comercialización de alimentos, Brunsø y Grunert (1995) establecieron como marco metodológico el estilo de vida relacionado como mediador entre los valores del consumidor y su comportamiento. El objetivo de este estudio fue identificar los perfiles de los consumidores de carne de cordero de acuerdo con su orientación de conveniencia, definidos por sus hábitos alimentarios y de cocinado.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó una encuesta online utilizando los formularios de Google Inc. (California, EE.UU.) durante los meses de mayo y junio de 2014. Se realizaron preguntas relacionadas con el estilo de vida, concretamente con los hábitos a la hora de comer y cocinar y sobre la importancia de los atributos extrínsecos de calidad de la carne de cordero lechal. También se preguntó por su nivel de ingresos, nivel de estudios, sexo y lugar de residencia. Al finalizar el periodo de encuesta, se habían recogido 659 encuestas. Al eliminar encuestas incompletas y de fuera de España, quedaron 200 encuestas válidas. El margen de error de  $\pm 6\%$  y  $p = q = 0,5$  y un nivel de confianza del 95%. Para agrupar los consumidores en grupos homogéneos se utilizó el análisis de conglomerados jerárquicos, utilizando el método de Ward. El estudio de la muestra de consumidores se realizó por medio de frecuencias relativas. El análisis de las variables se hizo utilizando el test de  $\chi^2$ , tomando como probabilidad significativa aquella menor de 0,10.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se identificaron 4 tipos de consumidores en función de su estilo de vida relacionado con sus hábitos de cocina y comida (Tabla 1). Los grupos de consumidores no se diferenciaron entre sí por el nivel de ingresos o por su lugar de residencia ( $P > 0,10$ ). El CL1 está formado tanto por ambos sexos, la mayoría de ellos con estudios universitarios. Este grupo se definió porque les gusta mucho cocinar y comer, viven en hogares en los que todo el mundo cocina y dedican mucho tiempo a cocinar. Además, les gustan las recetas extranjeras y los cambios y, en concordancia con ello, no creen que las recetas de toda la vida sean mejores. En cuanto a la importancia dada a los atributos extrínsecos de la calidad de la carne de cordero, este grupo de consumidores mostraron mayor desacuerdo que la muestra general en que la carne de cordero con marca de calidad es mejor y fueron pocos los que estuvieron muy en desacuerdo con la facilidad de cocinado del cordero. El CL2 es un grupo muy minoritario pero con un estilo de vida muy diferenciado de los otros grupos de consumidores, formado por mujeres con estudios secundarios o sin estudios.

**Tabla 1. Importancia de los atributos extrínsecos de calidad del cordero.**

	CL1	CL2	CL3	CL4	Total	$\chi^2$	P
Porcentaje	41 %	2 %	33 %	24 %			
La carne de cordero con marca de calidad es mejor						15,88	t
Muy en desacuerdo	3,8	<b>33,3</b>	5,0	2,3	4,3		
En desacuerdo	<b>25,3</b>	0,0	11,7	11,6	17,3		
De acuerdo	<b>54,4</b>	66,7	70,0	60,5	61,1		
Muy de acuerdo	16,5	0,0	13,3	25,6	17,3		
El cordero es fácil de cocinar						48,19	*
Muy en desacuerdo	<b>1,3</b>	<b>100</b>	8,3	2,3	4,9		
En desacuerdo	29,1	0	28,3	20,5	26,5		
De acuerdo	55,7	0	50	50	51,9		
Muy de acuerdo	13,9	0	13,3	<b>27,3</b>	16,8		
El mejor cordero es el que se cría comiendo hierba						10,58	ns
Muy en desacuerdo	7,6	33,3	5,0	2,3	5,9		
En desacuerdo	20,3	66,7	23,3	27,3	23,7		
De acuerdo	48,1	0,0	48,3	50,0	47,8		
Muy de acuerdo	24,1	0,0	23,3	20,5	22,6		
La raza Ojinegra de Teruel es mejor que otras						13,85	ns
Muy en desacuerdo	8,9	33,3	10,9	9,8	10,1		
En desacuerdo	65,8	33,3	56,4	46,3	57,9		
De acuerdo	22,8	0,0	29,1	34,1	27,0		
Muy de acuerdo	2,5	33,3	3,6	9,8	5,1		
El precio del cordero es muy importante						25,20	**
Muy en desacuerdo	1,3	<b>33,3</b>	1,6	2,3	2,2		
En desacuerdo	17,7	33,3	24,6	<b>7,0</b>	17,7		
De acuerdo	55,7	<b>0,0</b>	54,1	<b>76,7</b>	59,1		
Muy de acuerdo	25,3	33,3	19,7	14,0	21,0		
El cordero de Aragón es mejor que el de fuera.						14,55	ns
Muy en desacuerdo	2,5	0,0	5,3	4,7	3,9		
En desacuerdo	51,9	0,0	47,4	<b>27,9</b>	44,2		
De acuerdo	25,3	50,0	36,8	37,2	32,0		
Muy de acuerdo	20,3	50,0	<b>10,5</b>	30,2	19,9		
El cordero ecológico es mejor que otros						7,72	ns
Muy en desacuerdo	11,4	33,3	16,7	4,5	11,8		
En desacuerdo	30,4	33,3	23,3	40,9	30,6		
De acuerdo	43,0	33,3	46,7	40,9	43,5		
Muy de acuerdo	15,2	0,0	13,3	13,6	14,0		
El mejor cordero es el que come cereales						9,52	ns
Muy en desacuerdo	11,4	33,3	6,8	11,6	10,3		
En desacuerdo	60,8	0,0	67,8	51,2	59,8		
De acuerdo	25,3	66,7	20,3	32,6	26,1		
Muy de acuerdo	2,5	0,0	5,1	4,7	3,8		

ns, P>0,10; t, P<0,10; \*, P<0,05; \*\*, P<0,01; \*\*\*, P<0,001.

Las consumidoras pertenecientes a este grupo tienen un claro desinterés por todo lo relacionado con los hábitos de cocina y comida. No les gusta la comida foránea pero tampoco piensan que las recetas de comida tradicional sean mejores que las modernas. También destacan porque no les gustan las cenas, en general, y en su familia no cocinan todos sus miembros. Este grupo expresó en porcentajes significativamente mucho más altos que la muestra general estar muy en desacuerdo con que el cordero con marca sea mejor. Todas las encuestadas de este grupo estuvieron muy en desacuerdo con que el cordero sea una carne fácil de cocinar y con que el precio del cordero sea importante. También consideraron significativamente como nada importante la apariencia de frescura, la edad del cordero y el color claro de la carne. Al tercer grupo (CL3) no le gusta cocinar ni le dedica tiempo, pero casi a la totalidad le gusta comer y en su hogar no todos cocinan por igual. No tienen una preferencia por la comida extranjera ya que piensan que las recetas de toda la vida son las mejores. Este grupo no destaca respecto de la muestra general en cuanto a la importancia dada a los atributos extrínsecos. El CL4 tiene una mayor proporción de hombres que los otros grupos. Les gusta cocinar pero sin realizar cambios en la misma y el 88,6 % están de acuerdo o muy de acuerdo con que las recetas tradicionales son las mejores. A este grupo de consumidores tampoco les gustan las cenas informales. Un 27,3 % de estos consumidores estuvo muy de acuerdo con que la carne de cordero es fácil de cocinar. También predominan los que piensan que el precio es muy importante y son menos los que están en desacuerdo con que el cordero de Aragón es mejor que el de fuera. Estos grupos, debido a sus estilos de vida, se podrían denominar como "Gourmet" el CL1, "Desinteresados" el CL2, "Conservadores" el CL3 y "Básicos" en el caso del CL4. La segmentación del mercado es un requisito necesario para asegurar la creación de relaciones entre los productos y los consumidores. El grupo Gourmet tiene características que lo hacen especialmente interesantes para comercializar unos productos novedosos del cordero, como puede ser el cordero confitado.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el Fondo de Inversiones en Teruel (FIT) y el Fondo Social Europeo. Los autores agradecen la colaboración de Agroji y Cenro.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

. • Brunsø K, et al. (1995). *Advances in Consumer Research*, 22: 475-480.

#### PERCEPTION OF THE EXTRINSIC QUALITY CUES OF LAMB OF OJINEGRA DE TERUEL BREED

**ABSTRACT:** Patterns of food consumption in general, and meat in particular are constantly changing. These changes are due to socio-economic and cultural trends that affect all of society, and also the specific lifestyle of groups of consumer. Because of the importance of lifestyle consumer, the objectives of this study was identify consumer profiles according to the convenience orientation, defined by their eating and cooking habits. Extrinsic cues more important and differential between groups were price and easiness of cooking. These groups, due to their characteristics, could be named as "Gourmet", "Uninvolved", "Traditional" and "Basic".

**Keywords:** cluster, extrinsic, consumer

## **INFLUENCIA DE LA ADICIÓN EN LA DIETA DE LOS CERDOS DE EXTRACTOS DERIVADOS DE PLANTAS Y DE LA REDUCCIÓN DEL CONTENIDO EN SAL DE LOS CHORIZOS SOBRE LA VIDA ÚTIL Y LA PREVALENCIA DE SALMONELLA**

Panea, B., Albertí, P. y Ripoll, G.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón-IA2. Avenida de Montañana 930, 50059 Zaragoza. bpanea@aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

Aragón es una región con niveles de prevalencia de salmonelosis muy por encima de la media europea (Vico y Mainar-Jaime, 2009). Los extractos derivados de plantas (EDP) poseen propiedades antimicrobianas y actúan sobre el control de la infección por *Salmonella spp.* en condiciones normales de explotación. Sin embargo, los cambios en la dieta pueden producir cambios en la calidad de la carne y de los productos derivados de ella. Los consumidores consideran que los atributos de calidad más importantes en los productos cárnicos son el valor nutritivo y las características sensoriales. Esta calidad sensorial depende de los aditivos, incluida la sal, que garantiza una textura adecuada y controla el crecimiento de patógenos (Corral *et al.*, 2013). No obstante, las políticas de la UE proponen una reducción paulatina de su ingesta (Commission European, 2008). Pero esto puede originar defectos tecnológicos o acarrear problemas de seguridad alimentaria (Ruusunen *et al.*, 2005). El objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de la adición de extractos derivados de plantas a la dieta de los cerdos y de la reducción del contenido en sal de los chorizos en la vida útil, el deterioro microbiológico y la prevalencia de *Salmonella* en los chorizos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 72 animales, 36 machos y 36 hembras, repartidos en tres lotes: control, aceite y ajo. Lote control: pienso comercial a base de maíz, soja, trigo, cebada y colza. Para el grupo AJO, a este pienso base se le añadieron 1 kg/Tm de extractos aromáticos de aliáceas (ajo y cebolla). Para el grupo ACEITE, al pienso se le añadieron 1 kg/Tm de un compuesto formado por una mezcla de orégano, tomillo y canela. De cada grupo de animales se muestrearon 8 piernas y 7 kg de tocino dorsal, provenientes de distintos cerdos. Las piernas se deshuesaron para obtener el magro. Las muestras de magro y tocino dorsal se picaron en una picadora con una malla de 8 mm de diámetro, para obtener una mezcla de 70% de magro/30% de tocino. En cada mezcla se hicieron dos tandas, una destinada a elaborar un chorizo estándar y la otra destinada a la elaboración de los chorizos bajos en sal, con una mezcla 40:60 de cloruro de calcio y sal. Por tanto, se obtuvieron 6 tandas experimentales de chorizo. Se tomaron muestras de los chorizos el día de fabricación (día 1) y a los 15 y a 30 días de la fabricación. Con estas muestras se realizaron los siguientes ensayos: pH (Crison 507), color (Minolta CM-2006d), oxidación lipídica (Ripoll *et al.*, 2013), presencia/ausencia de *Salmonella* (R.UE 2073/2005 y R.UE 1441/2007), recuento de aerobios mesófilos totales (ISO 4833, 2003) y recuento de bacterias ácido-lácticas en agar MRS (estas últimas, sólo a 15 y 30 días). Se hizo un GLM (SPSS 15.0) con lote de cerdo, contenido en sal y tiempo de secado como efectos fijos y con un test de Duncan ( $p < 0,05$ ) para calcular las diferencias entre medias.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

No se detectó *Salmonella* en ninguna de las muestras. El lote afectó a todas las variables estudiadas mientras que el tiempo de secado afectó a todas las variables excepto a la  $L^*$  y los recuentos microbiológicos. Los pH coinciden con los descritos por otros autores (Corral *et al.*, 2013, Laranjo *et al.*, 2015). El pH aumentó desde el día 1 hasta el día 15, para decrecer después, como era de esperar (Lizaso *et al.*, 1999). En general, los tres lotes bajos en sal presentaron valores de pH más bajos que los lotes estándar, los de ACEITE presentaron valores más bajos que los demás y se ha encontrado una interacción entre la dieta del cerdo y la formulación del chorizo en los grupos AJO y CONTROL. Según Laranjo *et al.*, (2015), cuando el contenido en sal es alto, aumenta el pH, ya que los contenidos altos en sal provocan que haya mayor cantidad de proteínas solubles que pasan al medio extracelular, ejerciendo un efecto

búfer que amortigua la acidificación durante el proceso de fermentación. En cuanto al TBAR, se encontró una interacción entre dieta y reducción de sal, ya que en el grupo CONTROL, el lote bajo en sal presentó concentraciones más altas de malonaldehído que el lote estándar, mientras que en el grupo AJO ocurre justo lo contrario y en el grupo ACEITE no hay diferencias entre lotes de fabricación. El tono decreció a medida que aumentaba el tiempo desecado y así, los chorizos cambiaron su color desde el naranja hasta el rojo. Los tres lotes bajos en sal mostraron valores de tono más bajos que los estándar y que en ambos conjuntos de lotes (bajos o estándar) el orden para el valor del tono fue el mismo: AJO-CONTROL-ACEITE. Varios autores (Gou et al., 1996, Gimeno et al., 2001) han señalado que la sustitución del NaCl por otros compuestos en niveles de entre el 30-50% no origina cambios sustanciales en la textura o el color de los chorizos, por lo que el producto final resulta aceptable. Los resultados de los recuentos microbiológicos están de acuerdo con los encontrados por otros autores (Laranjo et al., 2015, Lizaso et al., 1999). El tiempo de secado afectó al recuento microbiológico sólo en algunos lotes. Lizaso et al., (1999), en un trabajo no encontraron diferencias en los recuentos de aerobios totales en las distintas fases del mismo pero Gimeno et al., (2001), señalan un incremento en los recuentos de BAL hasta el día 7, para mantenerse constantes a partir de entonces. Estos resultados coincidirían con los encontrados en el presente experimento salvo para el lote AJO-bajo en sal. El lote AJO-bajo en sal presentó recuentos más altos tanto para aerobios mesófilos totales ( $p=0,000$ ) como para bacterias ácido-lácticas ( $p=0,000$ ). Habría entonces que pensar que la combinación AJO-bajo en sal sería potencialmente peligrosa para la salud, ya que no consigue controlar el crecimiento bacteriano. Laranjo et al., (2015) señalan que el recuento de BAL es menor en los chorizos con un alto contenido en sal. En el presente experimento, sólo el grupo AJO presentó un efecto de la reducción de sal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Corral S, *et al.* (2013). *Meat Sci* 93, 776-85.
- Gimeno O, *et al.* (2001). *Food Microbiology* 18, 329-334.
- Laranjo M, *et al.* (2015). *Food Control* 56, 119-127.
- Lizaso G, *et al.* (1999). *Food Microbiology* 16, 219-228.
- Ripoll G, *et al.* (2013). *Meat Sci* 93, 906-13.
- Ruusunen M, *et al.* (2005). *Meat Sci* 69, 53-60.
- Vico JP, *et al.* (2009). XIII jornadas de AIDA, 182-184.

**Agradecimientos:** A R. Mainar, S. Andrés, L. Murillo, A. Picardo, A. Martínez y C. Albertí. Trabajo financiado por el proyecto FITE 557-A.

#### INFLUENCE OF ADDITION OF PLANTS BASED EXTRACTS TO PIG' FEED ON INSTRUMENTAL PORK MEAT QUALITY: SHELF-LIFE AND SALMONELLA PREVALENCE

**ABSTRACT:** The aim of the study was to investigate if the addition of plant-based extracts to pig' feed and the reduction of salt-content on fermented sausage affect instrumental characteristics, microbial counts and Salmonella prevalence. We used 36 males and 36 females, from three experimental lots: CONTROL, feed with commercial feedlot, ALLIUM, with control feed +1Kg/Tm of allium extract and OIL, with control feed + 1 Kg/Tm of a carvacrol, thymol and cynaminc aldehyde mixture. Salmonella were not found in any of the samples. Pig batch affected all studied variables whereas ripening time affected all studied variables except L\* and microbial counts. Allium batch presented higher microbial counts. pH was lower in oil batch. Lipid oxidation increased as time did, linearly in oil batch and with a maximum reach in allium and control batches. Color change throughout time, especially Hue, which increased as time did. Allium batch presented higher values for chroma.

**Keywords:** Natural antioxidants, pig, meat quality, Salmonella

Tabla 1. Medias de las variables estudiadas en función del lote de cerdo, contenido en sal del chorizo y tiempo de secado.

	pH	L*	a*	b*	H*	C*	TBAR (mg/Kg)	Mesófilos (log UFC/g)	BAL (log UFC/g)
Aceite	1 día	5,8 <sup>ye</sup>	47,96 <sup>xab</sup>	22,48 <sup>xc</sup>	21,96 <sup>xab</sup>	44,04 <sup>xa</sup>	31,51 <sup>xc</sup>	0,39 <sup>zb</sup>	6,40
	15 días	6,0 <sup>xc</sup>	44,48 <sup>yab</sup>	20,79 <sup>yc</sup>	15,94 <sup>yc</sup>	32,27 <sup>yab</sup>	26,36 <sup>yc</sup>	0,80 <sup>yb</sup>	6,25 <sup>d</sup>
	30 días	6,0 <sup>xb</sup>	46,48 <sup>xva</sup>	19,41 <sup>ya</sup>	13,254 <sup>zab</sup>	33,90 <sup>yab</sup>	23,78 <sup>zbc</sup>	1,21 <sup>xa</sup>	6,20 <sup>c</sup>
Bajo	1 día	5,9 <sup>xe</sup>	48,29 <sup>xa</sup>	26,22 <sup>xab</sup>	22,67 <sup>abx</sup>	40,70 <sup>xb</sup>	34,71 <sup>xab</sup>	0,40 <sup>zb</sup>	6,53
	15 días	6,0 <sup>xe</sup>	45,64 <sup>yab</sup>	24,20 <sup>ya</sup>	18,89 <sup>ax</sup>	37,63 <sup>xab</sup>	30,87 <sup>yab</sup>	0,83 <sup>yb</sup>	6,67 <sup>b</sup>
	30 días	5,9 <sup>yc</sup>	42,52 <sup>zb</sup>	24,02 <sup>jb</sup>	14,42 <sup>za</sup>	30,22 <sup>yabc</sup>	28,19 <sup>za</sup>	1,09 <sup>xa</sup>	6,66 <sup>b</sup>
Ajo	1 día	6,1 <sup>ya</sup>	47,54 <sup>xab</sup>	24,87 <sup>xb</sup>	21,68 <sup>xab</sup>	41,07 <sup>bx</sup>	33,12 <sup>xbc</sup>	0,50 <sup>zab</sup>	6,54
	15 días	6,2 <sup>xa</sup>	46,34 <sup>xva</sup>	24,03 <sup>xab</sup>	19,89 <sup>ya</sup>	38,94 <sup>xa</sup>	31,41 <sup>xa</sup>	0,95 <sup>xab</sup>	6,64 <sup>b</sup>
	30 días	6,1 <sup>ya</sup>	44,42 <sup>yab</sup>	19,74 <sup>jb</sup>	11,23 <sup>zb</sup>	29,07 <sup>yc</sup>	22,84 <sup>yc</sup>	0,78 <sup>jb</sup>	6,35 <sup>bc</sup>
Bajo	1 día	6,0 <sup>xc</sup>	44,70 <sup>c</sup>	26,82 <sup>xa</sup>	20,96 <sup>xb</sup>	37,71 <sup>xc</sup>	34,14 <sup>xab</sup>	0,61 <sup>za</sup>	6,32 <sup>y</sup>
	15 días	5,9 <sup>yd</sup>	44,19 <sup>ab</sup>	22,97 <sup>yab</sup>	16,47 <sup>ybc</sup>	35,17 <sup>yfb</sup>	28,42 <sup>ybc</sup>	0,88 <sup>xb</sup>	7,29 <sup>ax</sup>
	30 días	5,7 <sup>cc</sup>	45,65 <sup>a</sup>	20,61 <sup>zb</sup>	12,99 <sup>zab</sup>	31,86 <sup>yabc</sup>	24,60 <sup>zbc</sup>	0,74 <sup>jb</sup>	7,32 <sup>ax</sup>
Estándar	1 día	6,1 <sup>b</sup>	45,90 <sup>bc</sup>	26,68 <sup>xa</sup>	23,35 <sup>xa</sup>	41,15 <sup>bx</sup>	35,54 <sup>xa</sup>	0,58 <sup>ya</sup>	6,43
	15 días	6,2 <sup>b</sup>	46,68 <sup>b</sup>	24,35 <sup>ya</sup>	18,40 <sup>yab</sup>	36,85 <sup>yab</sup>	30,59 <sup>yab</sup>	1,00 <sup>xab</sup>	6,33 <sup>cd</sup>
	30 días	6,1 <sup>a</sup>	45,64 <sup>a</sup>	20,96 <sup>zb</sup>	14,66 <sup>za</sup>	34,09 <sup>ya</sup>	25,89 <sup>zb</sup>	0,69 <sup>yb</sup>	6,42 <sup>bc</sup>
Bajo	1 día	6,0 <sup>xd</sup>	46,56 <sup>abc</sup>	27,10 <sup>xa</sup>	23,54 <sup>xa</sup>	40,96 <sup>xb</sup>	35,97 <sup>xa</sup>	0,54 <sup>za</sup>	6,30 <sup>y</sup>
	15 días	6,0 <sup>xd</sup>	44,33 <sup>ab</sup>	22,38 <sup>ybc</sup>	15,91 <sup>yc</sup>	35,00 <sup>yb</sup>	27,64 <sup>yc</sup>	1,10 <sup>xa</sup>	6,60 <sup>bcd</sup>
	30 días	5,8 <sup>yb</sup>	44,51 <sup>ab</sup>	20,40 <sup>zb</sup>	11,92 <sup>zb</sup>	29,62 <sup>zbc</sup>	23,76 <sup>zbc</sup>	0,75 <sup>yb</sup>	6,25 <sup>bcd</sup>
e.e.	0,014	0,199	0,170	0,251	0,335	0,257	0,027	0,052	0,073

x,y,- efecto del tiempo dentro del lote; a,b,- efecto del lote dentro de tiempo. e.e.- error estándar de la media

## **PERCEPCIÓN DE LOS ATRIBUTOS DE CALIDAD INTRINSECA DE LA CARNE DE CORDERO DE RAZA OJINEGRA DE TERUEL**

Ripoll, G.\*, Panea, B. y Joy, M.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. \* gripoll@aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

La raza autóctona Ojinegra de Teruel es una oveja de pequeño formato con bajos crecimientos (Arrufat, 1982) y un engrasamiento precoz, lo que condiciona la adaptación de sus productos a las características solicitadas por el reglamento técnico de la IGP “Ternasco de Aragón” y por el mercado (Tor et al., 1999). Diversos estudios de han desarrollado para conocer el potencial de dicha raza para producir corderos lechales (Ripoll-Bosch et al., 2012a) y para determinar la calidad de la canal y de la carne (Ripoll-Bosch et al., 2012b). Sin embargo ningún estudio ha sido desarrollado para determinar la valoración sensorial de dicho tipo de carne. Los objetivos de este estudio fueron identificar los perfiles de los consumidores de carne de cordero de acuerdo con su orientación de conveniencia, definido por sus hábitos alimentarios y de cocinado, y estudiar la importancia dada por estos grupos de consumidores a los atributos intrínsecos de la carne de cordero.

El objetivo de este estudio fue, una vez identificados los perfiles de los consumidores de carne de cordero definidos por sus hábitos alimentarios y de cocinado, estudiar la importancia dada por estos grupos de consumidores a los atributos intrínsecos de la carne de cordero.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó una encuesta online utilizando los formularios de Google Inc. (California, EE.UU.) durante los meses de mayo y junio de 2014. Se realizaron preguntas relacionadas con el estilo de vida, concretamente con los hábitos a la hora de comer y cocinar y sobre la importancia de los atributos intrínsecos de calidad de la carne de cordero lechal. Al finalizar el periodo de encuesta, se habían recogido 659 encuestas. Al eliminar encuestas incompletas y de fuera de España, quedaron 200 encuestas válidas. El margen de error de  $\pm 6\%$  y  $p = q = 0,5$  y un nivel de confianza del 95 %. Para agrupar los consumidores en grupos homogéneos se utilizó el análisis de conglomerados jerárquicos, utilizando el método de Ward. El estudio de la muestra de consumidores se realizó por medio de frecuencias relativas. El análisis de las variables se hizo utilizando el test de  $\chi^2$ , tomando como probabilidad significativa aquella menor de 0,10.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se identificaron 4 tipos de consumidores en función de su estilo de vida relacionado con sus hábitos de cocina y comida, descritos en Ripoll et al. (2017). Las características socio-demográficas y su percepción de los atributos extrínsecos de la calidad de cordero se pueden consultar en Ripoll et. al (2017). Dentro de una población se pueden encontrar numerosos grupos de consumidores, sin embargo cuando éstos se enmarcan respecto al estilo de vida relacionado con el consumo de cordero, el número de segmentos de consumidores en España suele estar entre tres y cinco (Bernués *et al.*, 2012; Gracia, 2005). El presente trabajo resalta la existencia de cuatro grupos de consumidores diferenciados. Estos grupos, debido a sus

características, se podrían denominar como “Gourmet” el CL1, “Desinteresados” el CL2, “Conservadores” el CL3 y “Básicos” en el caso del CL4.

**Tabla 1.** Importancia de los atributos intrínsecos de calidad del cordero.

	CL1	CL2	CL3	CL4	Total	$\chi^2$	P
Porcentaje	41 %	2 %	33 %	24 %			
Apariencia de frescura						64,06	***
Nada	0,0	<b>33,3</b>	0,0	0,0	0,5		
Poco	2,5	0,0	6,6	4,5	4,3		
Bastante	29,1	33,3	34,4	29,5	31,0		
Mucho	68,4	33,3	59,0	65,9	64,2		
Categoría lechal						10,11	ns
Nada	13,9	33,3	8,3	6,8	10,8		
Poco	29,1	0,0	30,0	38,6	31,2		
Bastante	34,2	66,7	46,7	29,5	37,6		
Mucho	22,8	0,0	15,0	25,0	20,4		
Categoría ternasco						6,99	ns
Nada	8,9	33,3	5,0	4,5	7,0		
Poco	27,8	0,0	28,3	20,5	25,8		
Bastante	41,8	33,3	48,3	50,0	45,7		
Mucho	21,5	33,3	18,3	25,0	21,5		
Carne de color claro						14,03	ns
Nada	6,3	<b>33,3</b>	1,7	7,0	5,4		
Poco	44,3	0,0	50,0	37,2	43,8		
Bastante	38,0	33,3	41,7	34,9	38,4		
Mucho	11,4	33,3	6,7	<b>20,9</b>	12,4		
Edad						14,48	ns
Nada	3,8	<b>33,3</b>	<b>0,0</b>	2,3	2,7		
Poco	11,4	0,0	13,1	15,9	12,8		
Bastante	48,1	33,3	47,5	38,6	45,5		
Mucho	36,7	33,3	39,3	43,2	39,0		
Raza						18,82	*
Nada	11,4	33,3	<b>1,6</b>	6,8	7,5		
Poco	<b>62,0</b>	0,0	52,5	45,5	54,0		
Bastante	<b>16,5</b>	33,3	36,1	38,6	28,3		
Mucho	10,1	33,3	9,8	9,1	10,2		
Poca grasa						11,78	ns
Nada	5,1	33,3	1,7	2,3	3,8		
Poco	22,8	0,0	31,7	25,0	25,8		
Bastante	51,9	33,3	45,0	56,8	50,5		
Mucho	20,3	33,3	21,7	15,9	19,9		

ns, P>0,10; t, P<0,10; \*, P<0,05; \*\*, P<0,01; \*\*\*, P<0,001.



Cuando Bredahl y Grunert (1997) estudiaron los estilos de vida alimentarios en España, encontraron cinco segmentos de consumidores. Los segmentos "Conservador" y "Pasota" de Bredahl y Grunert (1997) serían homólogos a los encontrados en este trabajo y denominados "Conservador" y "Desinteresado", respectivamente. Otro segmento que los autores Bernués *et al.* (2012) y Bredahl y Grunert (1997) lo denominaron "Aventureros" coincidiría con el grupo Gourmet definido en este trabajo (CL1), el grupo con mayor número de encuestados.

El segmento denominado "Racional" por Bredahl y Grunert (1997) sería comparable en muchas de sus facetas con nuestro segmento "Básico". (CL4) Sin embargo, en el caso del "Racional" el papel social de la alimentación es particularmente importante, mientras que para el grupo "Básico" esta faceta es importante pero no más que para otros grupos.

En cuanto a la importancia de los atributos de la carne fresca, entre los más importantes y de acuerdo con los resultados de este estudio se encuentran la cantidad de grasa, la frescura y la existencia de una marca o categoría definida (Bello y Calvo, 2000; Bernués *et al.*, 2012; Dransfield *et al.*, 2005), todas las cuales se valoran visualmente. Por contra, la raza y la producción ecológica son los menos valorados (Bernués *et al.*, 2012). La cantidad de grasa es un atributo importante para todos los consumidores sin diferencias entre segmentos (Bernués *et al.*, 2012).

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el Fondo de Inversiones en Teruel (FIT) y el Fondo Social Europeo. Los autores agradecen la colaboración de Agroji y Cenro.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bello L, Calvo D (2000). Food Quality and Preference, 11: 229-238. .
- Bernués A, et al. (2012). Food Quality and Preference, 26: 211-220. .
- Bredahl L, Grunert KG (1997). Identificación de los estilos de vida alimenticios en España. Investigación Agraria: Economía, 12: 247-263.
- Dransfield E, et al. (2005). Meat Science, 69: 61-70.
- Brunsø K, et al. (1995). Advances in Consumer Research, 22: 475-480.
- Ripoll et. al. (2017). XVII Jornadas sobre producción animal de AIDA. Zaragoza, España. .
- Gracia A (2005). ITEA Información Técnica Económica Agraria, 101: 25-44.

#### PERCEPTION OF THE INTRINSIC QUALITY CUES OF LAMB OF OJINEGRA DE TERUEL BREED

**ABSTRACT:** Patterns of food consumption in general, and meat in particular are constantly changing. These changes are due to socio-economic and cultural trends that affect all of society, and also the specific lifestyle of groups of consumer. Because of the importance of lifestyle consumer, the objectives of this study was identify consumer profiles according to the convenience orientation, defined by their eating and cooking habits; and describe their perception of the intrinsic quality cues of lamb. These groups, due to their characteristics, could be named as "Gourmet", "Uninvolved", "Traditional" and "Basic". Freshness appearance, low amount of fat and age of lamb are important cues while breed was assessed as low important cue.

**Keywords:** cluster, extrinsic, consumer

## ENSILADO DE ALFALFA EN LA ALIMENTACIÓN ECOLÓGICA DE POLLOS: CALIDAD DE LA CARNE

Carrasco<sup>1</sup>, S., Wüstholtz<sup>1</sup>, J., Hahn, G<sup>2</sup>. y Bellof, G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>University of Applied Sciences, Department of Agriculture and Food Economy, Am Staudengarten 1, 85354, Germany. luz.carrasco@hswt.de; <sup>2</sup>Max Rubner-Institut, Institute for Safety and Quality of Meat, E.-C.-Baumann-Straße 20, 95326, Germany

### INTRODUCCIÓN

El reglamento oficial de agricultura ecológica de la Unión Europea (European comission, 2014), exige la incorporación de ingredientes producidos ecológicamente y fibra vegetal en la alimentación de aves de corral. La alfalfa es una leguminosa con buen contenido proteico y fibra. Cosechada en estadios tempranos se logra un nivel de metionina similar al de los granos de soya (1.5 g/100 g proteína; Beyer et al. 1977). Su ensilado es posible con: adecuada deshidratación (aprox. 45% MS), buena compactación y sello hermético. La alfalfa fresca o la harina usada en las dietas de pollos y gallinas, no alteran negativamente los rendimientos. Por el contrario, mejoran la calidad de la carne y los huevos: alto nivel de ácidos grasos poliinsaturados, especialmente n-3; alta concentración de pigmentos; bajo nivel de colesterol (Ponte et al., 2014; Laudadio et al., 2014; Carrasco et al., 2016). En el marco de un proyecto de investigación (Weltin et al., 2014) se cosechó alfalfa joven antes de la floración (en estadio de botón) con el propósito de ensilarla. Se produjeron ensilado de alfalfa picado y extruido. Adicionalmente el ensilado de alfalfa extruido juntamente con un concentrado suplementario fueron peletizados. En el marco de la producción ecológica de pollos, se ha planteado el presente estudio con el objetivo de determinar los efectos de tres tipos de ensilado (picado, extruido y peletizado) en la calidad de la carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 520 pollos (ISA J 957) de 1 día de edad, (50% machos y 50% hembras) fueron aleatoriamente distribuidos en 20 habitáculos (6 m<sup>2</sup>), de un establo climatizado. Se conformaron 4 grupos (5 rep./grupo): grupo A: control; grupo B: ensilado picado; grupo C: ensilado extrusionado; grupo D: ensilado peletizado). El estudio constó de 3 fases (Fase 1: 1-14 días; Fase 2: 15-28 días; Fase 3: 29-61 días). Los concentrados (mezcla completa: MC y mezcla suplementaria: MSp) fueron diseñados conforme las recomendaciones de la GfE (1999) con ingredientes 100% orgánicos y de la región. La MSp fue diseñada asumiendo un consumo de ensilado de alfalfa de 7,5% en Fase 1, 12,5 % en Fase 2 y de 20% en Fase 3. Los animales fueron alimentados *ad libitum*. Al final del estudio, 2 animales de cada repetición (peso medio de la repetición) fueron sacrificados. El músculo del pecho fue reservado para su posterior análisis: contenido de grasa, ácidos grasos (Firl et al., 2012), colesterol (Kit Boehringer Mannheim), color de la carne (Spectrophotometer Minolta CM 508i) y el análisis sensorial (panel de 6 personas; atributos: terneza, jugosidad, aroma y apreciación general; escala de 6 puntos: 1 peor, 6 mejor). Se calcularon por grupo los consumos de alfalfa (harina o ensilado) por unidad de grasa (ratio alfalfa/grasa) y los ratios de grasa/ensilado, empleando la información de la Tabla 1. Los datos se evaluaron de acuerdo al modelo lineal general, con el programa estadístico SPSS v 20 (2011).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los rendimientos obtenidos en el estudio, comparados con los de anteriores experiencias (similares condiciones) fueron bajos. Esto se debió a que el DDGS (fuentes de amino ácidos) utilizado en las mezclas, al parecer fue dañado por las altas temperaturas durante el proceso de obtención (reacción de Maillard), lo cual redujo la disponibilidad de lisina. El más afectado fue el grupo A (Tabla 2), los otros pudieron compensar esta falta con el consumo de lisina del ensilado de alfalfa, mejorando sus rendimientos (Wüstholtz et al., 2016). Los grupos no mostraron diferencias para el contenido de grasa intramuscular. Los niveles de colesterol en la carne de los grupos B y C fueron los más bajos. Esto coincide con los altos ratios alfalfa/grasa de los grupos, que implica una mayor presencia de saponinas en sus dietas y por tanto una menor absorción y presencia de colesterol en la carne. Las saponinas de la alfalfa forman enlaces insolubles con el colesterol, reduciendo la absorción y fijación de colesterol en los tejidos (Ponte et al., 2004). El consumo de ensilado favoreció la presencia de una mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) especialmente n-3.

**Tabla 1.** Composición de la mezcla completa (MC), mezcla suplementaria (MSp), pelets y ensilados de alfalfa (EAP: picado, EAE: extruido) usados en la fase 3

Ingredientes		MC	MSp	Pelets	EAP	EAE
Torta de soya	%	9,00	7,50	6,00	-	-
Torta de girasol	%	10,0	12,5	10,0	-	-
DDGS <sup>1</sup>	%	9,00	11,3	9,04	-	-
Trigo	%	13,0	15,8	12,6	-	-
Maiz	%	25,0	30,0	24,0	-	-
Triticale	%	20,0	16,9	13,5	-	-
Harina de alfalfa	%	12,0	-	-	-	-
Ensilado de alfalfa	%	-	-	20,0	-	-
Aceite de colza	%	-	3,75	3,00	-	-
Mezcla de minerales	%	1,15	1,55	1,24	-	-
Carbonato de calcio	%	0,25	-	-	-	-
Fosfato monocalcico	%	0,600	0,800	0,640	-	-
<i>Nutrientes</i>						
Materia seca	g/kg	899	897	798	45,2	46,0
Grasa cruda	g/kg	51,0	84,0	67,0	2,5	2,5
Fibra cruda	g/kg	64,0	38,0	79,0	22,5	21,2
Proteína cruda	g/kg	185	177	164	22,6	22,2
AME	MJ/kg	11,5	12,9	10,2	-	-
Lisina/AME	g/MJ	0,73	0,52	0,73	-	-
Metionina/AME	g/MJ	0,29	0,23	0,27	-	-

<sup>1</sup>DDGS: Granos secos de destilería con solubles; <sup>2</sup>AME: Energía aparente metabolizable (WPSA, 1984)

**Tabla 2.** Consumo de alimentos (fase 3), rendimientos y parámetros de calidad de carne

Parámetros		Grupos				SE	p
		A Control	B Ensilado picado	C Ensilado extruido	D Ensilado peletizado		
Consumo y rendimientos	Concentrado, g MS/d	71,60	81,00	77,80	77,50	2,76	NS
	Alfalfa, MS g/d	8,59 <sup>d</sup>	27,80 <sup>b</sup>	34,70 <sup>a</sup>	19,40 <sup>c</sup>	1,21	***
	Alfalfa/grasa, g/g	2,12	3,36	4,26	2,98	-	-
	Grasa/ensilado, g/g	-	0,32	0,26	0,41	-	-
	Peso vivo final, kg	1,70 <sup>b</sup>	1,97 <sup>a</sup>	1,94 <sup>a</sup>	1,79 <sup>b</sup>	0,29	***
	ADG, g/d	35,6 <sup>b</sup>	42,5 <sup>a</sup>	41,6 <sup>a</sup>	38,3 <sup>ab</sup>	1,20	**
Calidad de la carne	Grasa intramuscular, %	1,47	1,66	1,80	1,80	0,11	NS
	Colesterol, mg/100 g carne	66,09 <sup>a</sup>	61,02 <sup>b</sup>	60,81 <sup>b</sup>	65,60 <sup>a</sup>	1,39	*
	<i>Acidos grasos (mg/100 g carne)</i>						
	EPA n3	0,87 <sup>b</sup>	0,98 <sup>b</sup>	1,10 <sup>ab</sup>	1,37 <sup>a</sup>	0,08	**
	DPA n3	8,94 <sup>b</sup>	10,58 <sup>a</sup>	11,38 <sup>a</sup>	11,08 <sup>a</sup>	0,41	**
	DHA n3	5,51	6,31	7,05	6,84	0,47	NS
	n3	32,45 <sup>c</sup>	43,38 <sup>b</sup>	46,54 <sup>ab</sup>	53,96 <sup>a</sup>	2,88	***
	n6	431,82	476,29	517,48	529,74	36,57	NS
	PUFA/SFA	1,35 <sup>b</sup>	1,54 <sup>a</sup>	1,54 <sup>a</sup>	1,54 <sup>a</sup>	0,03	***
n6/n3	13,34 <sup>a</sup>	10,93 <sup>b</sup>	11,04 <sup>b</sup>	9,81 <sup>c</sup>	0,29	***	
Color	Amarillez (b*)	5,80 <sup>d</sup>	8,47 <sup>b</sup>	7,07 <sup>c</sup>	10,23 <sup>a</sup>	0,46	***

Es conocida la riqueza de los alimentos vegetales en PUFA n-3, y tratándose de monográstricos la alteración de los productos finales es posible por medio de los piensos

(Castellini et al., 2002). La FAO (2010) recomienda el consume de suficientes cantidades de PUFA para mantener un buen estado de salud y la EFSA (2009) recomienda un consumo diario de 250 mg n-3. La carne producida con ensilado de alfalfa favoreció la presencia de altos niveles de PUFA y n-3. Además el consumo de una porción de 230 g de carne de pollo del grupo D, permite cumplir con las recomendaciones del EFSA (2009).

El color de la carne fue afectado por el consumo de ensilado de alfalfa. Sin embargo, esta condición fue predeterminada por los niveles de grasa ingerida en la dieta. Ya que los pigmentos se transportan vía lipídica a los tejidos, una deficiencia de lípidos en la dieta, limitará el nivel de fijación (Noziere et al., 2006; Carrasco et al., 2016). Los grupos B y C con menores ratios grasa/ensilado, presentaron los más bajos valores de amarillo (b\*) y el grupo D con mayor grasa/ensilado en la dieta, presentó el mayor valor b\* en la carne. Los resultados de análisis sensorial no se muestran en este documento. El ensilado de alfalfa no altera la calidad sensorial del producto (p > 0,05; terneza, jugosidad, aroma y apreciación general) y anomalías sensoriales no fueron detectadas (sabor a hierba, a col o a limón). El empleo de ensilado de alfalfa como fuente de aminoácidos y fibra es una alternativa viable para la alimentación ecológica de los pollos. Con ello se cumplen los requerimientos del reglamento oficial de agricultura ecológica de la Unión Europea (European comission, 2014). El proceso adicional de extrusión o peletizado del ensilado de alfalfa no mejoran los rendimientos ni la calidad de la carne, por lo tanto no se recomiendan.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beyer, M., et al. 1977. 4. unveränderte Auflage, Berlin, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag
- Carrasco, S., Wüstholtz, J. & Bellof, G. 2016. Anim. Feed Sci. Tech. 219, 94-101.
- Castellini, C., Mugnai, C. & Dal Bosco, A. 2002. Meat Sci. 60, 219-225
- EFSA (2009). <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/doc/1176.pdf>.
- European Union (2007). Council regulation (EC) No 834/2007 of 28 June 2007.
- GfE - Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. 1999. Frankfurt am Main, DLG-Verlag.
- Nozière, P., Graulet, B., Lucas, A., et al. 2006. Anim. Feed Sci. and Tech. 131, 418-450.
- Ponte, P.I.P., Mendes, I. Quaresma, M. et al. 2004. Poul. Sci. 83, 810-814.
- Vinarova, L., Vinarov, Z., Atanosov, V., et al. 2015. Food & Function. 6, 501-512
- Weltin J, Carrasco, S. & Bellof, G. 2014. <http://orgprints.org/26279/1/26279-11OE077-hswt-bellof-2014-luzernesilage-tierernaehrung.pdf>
- Wüstholtz, J., Carrasco, S., Berger, U., Sundrum, A. & Bellof, G. 2016. Europ. Poul. Sci., 80

**Agradecimientos:** El proyecto fue financiado en el marco del Bundesprogramm für ökologischen Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN).

#### ALFALFA SILAGE IN THE FEEDING OF BROILERS: MEAT QUALITY

**ABSTRACT:** For a feeding trial, alfalfa harvested at an early stage and conserved as silage was integrated as protein source in the diet of organic broilers. Four experimental groups were conformed: In a control group (Group A), animals were fed with a complete feed mixture (MC) without silage; in the next three groups, animals received a supplemental feed mixture (MS) and alfalfa silage as chopped (Group B), extruded (Group C) and pelleted (Group D). A 12% of alfalfa meal was integrated in the MC and rapeseed oil in the MS (3.75 %) also in the pellets (3%). The broilers consumed up to 30 % of silage of their daily dry matter intake (Group B: 27.8; Group C: 34.7; Group D: 19.4 g/d). The consumption of silage improved the proportion of polyunsaturated fatty acids, mainly n – 3. High levels of silage consumption and high ratios of alfalfa/fat in the diets of Group B and C (Group A: 2.1; Group B: 3.4; Group C: 4.3; Group D: 2.9 g alfalfa/g fat) were related with low contents of cholesterol (Group A: 66; Groups B and C: 61; Group D: 66 mg/100 g meat). The sensory characteristics were not affected. The colour of the meat was altered with the ingestion of silage; however the yellow intensity (b\*) depended on the ratio of fat/silage of the diet. The applied processes (chopped, extrusion or pelletisation) for the obtainment of silage had no effect on the quality of the meat. The production of organic meat with healthy and positive characteristics using alfalfa silage for the market is possible.

**Keywords:** organic broiler, alfalfa silage, meat quality.

## **INFLUENCIA DEL CONSUMIDOR EN LA VIDA ÚTIL DE LA PECHUGA DE POLLO**

Ripoll, G.\*, Albertí, P. y Panea, B.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. \*gripoll@aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

La aceptabilidad del color está influenciada por muchos factores, incluyendo los aspectos culturales, geográficos, y sociológicos de una población, pero el color y la frescura son los indicadores de calidad más importantes para los españoles (Briz y De Felipe, 2001). Sin embargo, la vida útil de la carne de pollo no suele estar determinada por el deterioro del color (Gill y Gill, 2010). Otros factores como la deshidratación de la carne, la aparición de manchas y el crecimiento bacteriano visible pueden ser criterios para el rechazo de la carne, por separado o como una valoración conjunta expresada en la disposición a la compra. La mayoría de autores centran la vida útil como un concepto que solo depende de las características intrínsecas del alimento, pero Labuza y Schmidl (1988) dieron otra definición en la que “vida útil es la duración del periodo entre el envasado de un producto y el final de la calidad percibida por el consumidor, definida esta como el porcentaje de consumidores a los que disgusta el producto”. Esta nueva definición incorpora la percepción de calidad del consumidor, y con ello, la circunstancia de que no es posible satisfacer a todos los consumidores al mismo tiempo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 10 pechugas de pollo blanco sin hueso ni piel, compuestas por los músculos pectoral mayor y menor, y limpias de grasa y exentas de golpes, hematomas y plumas. Se colocó una pechuga en cada bandeja con atmosfera modificada con el 70% de CO<sub>2</sub>, 20% de O<sub>2</sub> y un 10% de N. Las bandejas fueron almacenadas en una cámara frigorífica a 4 °C con un ciclo de 12 horas de luz al día (583 ± 97,2 lux; media ± desviación estándar) simulando las condiciones de venta al público durante 0, 7, 10, 15 y 21 días. Al final del tiempo de exposición, las pechugas se fotografiaron individualmente fuera de la bandeja, en condiciones de luz estandarizadas. Para ello, el equipo usado fue una cámara Olympus Pen E-PL1 12,3 Mpx con objetivo M.Zuiko digital 14-42 mm 1:3.5-5.6 L (Olympus Imaging Corp., Shinjuku-ku, Tokyo) y se iluminó la pechuga fotografiada con dos focos de 5 bombillas Cromalite 28 W, luz día real, 5200 K, 1600 lúmenes (Cromalite S.L, Barcelona, Spain). Antes de cada foto, la cámara fue calibrada con una carta gris al 18%. Se realizó una encuesta *online* (ver Ripoll et al., 2015) utilizando el servicio de [www.e-encuesta.com](http://www.e-encuesta.com). Una vez estuvo disponible *online* la encuesta, el enlace de acceso se difundió vía correo electrónico tanto a personas físicas (amigos, familiares y profesionales) como a instituciones y agrupaciones (amas de casa, consumidores, asociaciones culturales...). También se usaron redes sociales como Facebook, Twitter y blogs personales. A los encuestados se les preguntó por su sexo, edad, nivel de ingresos familiares, nivel de estudios, tamaño de población donde viven, si les gusta más el pollo blanco o amarillo y si en el domicilio familiar viven menores de 6 años o mayores de 65. Después, se les mostraron las diez fotos de las pechugas aleatorizadas y se les pidió que manifestaran si comprarían cada una de las pechugas. Al finalizar el periodo de encuesta, habían accedido a la encuesta 1540 personas, de las cuales se han utilizado 1237. Con este número de encuestas aseguramos un margen de error menor de ±3%, considerando que la población española es ampliamente mayor que 100.000, con un grado de confianza del 95% y  $p = q = 0,5$ .

La vida útil de la pechuga de pollo en base a la valoración subjetiva se realizó usando curvas de supervivencia con la metodología no paramétrica de Kaplan-Meier. Esta metodología es especialmente útil cuando no se usa ninguna asunción de la distribución de los tiempos de fallo. Se consideró fallo de cada muestra cuando el

consumidor declaró que no compraría dicha muestra. Se consideró el nivel de significación  $P < 0,05$ . Cuando en tabla o en figura, se muestra una medida de dispersión esta es el error estándar.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La vida útil de la pechuga estuvo condicionada por el sexo, la edad el nivel de educación y la preferencia por el color del pollo, así como por la presencia de mayores de 65 años en el núcleo familiar. Los consumidores de sexo femenino fueron más restrictivos, dejando de comprar la pechuga a los 17,7 días de media, 0,4 días (9,6 horas) menos que los hombres. La edad del consumidor también influyó en su percepción de la vida útil de manera que los menores de 26 años dieron la mayor vida útil media (18,4 días) mientras que los consumidores entre mayores de 45 años les dieron la menor (17,7 días), habiendo una diferencia de casi 17 horas de vida útil.

**Tabla 1 . Tiempo medio de vida útil por variables socio-demográficas.**

Variable	Nivel	Media $\pm$ e.e. <sup>a</sup>	P
Sexo	Hombre	18,1 $\pm$ 0,12	0,002
	Mujer	17,7 $\pm$ 0,10	
Edad	<26 años	18,4 $\pm$ 0,35	0,019
	26-45 años	17,9 $\pm$ 0,10	
	45-65 años	17,7 $\pm$ 0,13	
	>65 años	17,7 $\pm$ 0,63	
Nivel de estudios	Primaria/no estudios	16,9 $\pm$ 0,45	0,039
	Bachiller, FP	17,8 $\pm$ 0,16	
	Universitaria	17,9 $\pm$ 0,86	
Nivel de ingresos	Media global	17,9 $\pm$ 0,86	0,162
Tamaño de población	Media global	17,9 $\pm$ 0,86	0,153
¿Cómo le gusta más el pollo?	Amarillo	17,6 $\pm$ 0,12	<0,001
	Blanco	18,0 $\pm$ 0,10	
Menores de 6 años	Media global	17,9 $\pm$ 0,86	0,603
Mayores de 65	Si	17,2 $\pm$ 0,26	<0,001
	No	17,9 $\pm$ 0,09	

<sup>a</sup> Media de la vida útil en días. e.e., error estándar

En nivel de estudios del consumidor también tuvo una fuerte influencia en la percepción de la vida útil de la pechuga. Los consumidores con un nivel de formación inferior o sin estudios dieron a la pechuga una vida útil de 16,9 días, mientras que los que tuvieron formación universitaria le dieron un día entero más. Hubo una influencia significativa de la presencia de mayores de 65 años, ya que los consumidores que conviven con mayores de 65 años, o ellos mismos lo son, dieron una vida útil menor. Los consumidores que prefieren un color de pollo blanco dieron vidas útiles más largas a la pechuga. Aunque existen en la bibliografía muchos estudios que incluyen la valoración visual de la carne entre sus pruebas, ya sea mediante panel de expertos (Barbut, 2001; Insausti *et al.*, 2001) o mediante consumidores (Banovic *et al.*, 2009; Ngapo *et al.*, 2003; Panea *et al.*, 2005), demostrando la utilidad de la técnica (Brugiapaglia y Destefanis, 2009; Dransfield *et al.*, 2005; Ngapo *et al.*, 2004, 2007),

hay pocos trabajos sobre la apreciación visual de la carne y la influencia del tipo de consumidor en la vida útil. No se han encontrado trabajos comparables en aves, pero en un trabajo del National Chicken Council de Estados Unidos encontraron que hay consumidores que prefieren la carne de pollo oscura mientras que otros la prefieren más clara (NCC, 2012), pero si los hay en otras especies. Así, Khlijj *et al.* (2010) encontraron que el número de veces que el consumidor comía cordero por semana, así como la edad del consumidor no influyeron en la percepción del color de la carne de cordero. Sin embargo, el sexo sí que influyó de manera que los hombres tendieron a valorar más favorablemente la misma muestra que las mujeres, de acuerdo con nuestros resultados. Las características socio-demográficas influyen en la percepción de la calidad de los productos y la preferencia por ciertas características. Por ejemplo, López *et al.* (2008) estudiaron como el país de origen o la edad influía en el punto de cocinado de la carne de bovino preferido por los consumidores. La experiencia previa y las actitudes de los consumidores influyen mucho en cómo estos mismos perciben la carne. Las preferencias personales juegan un papel central en la elección de comida y consumo en adultos (Nicklaus *et al.*, 2004). En nuestro estudio se demuestra que la vida útil según la apariencia de la pechuga de pollo se ve influida claramente por las características socio-demográficas y psicográficas del consumidor.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Banovic M, *et al.* (2009). Food Qual. Pref., 20: 335-342.
- Barbut S (2001). British Poultry Sci., 42: 590-594.
- Briz J, *et al.* (2001). *I Congreso Nacional de la Carne* (pp. 115-142). Madrid, España.
- Brugiapaglia A, *et al.* (2009). Italian J. Anim. Sci., 8: 480-482.
- Dransfield E, *et al.* (2005). Meat Sci., 69: 61-70.
- Gill AO, *et al.* (2010). A practical guide (Eds. Robertson GL), pp. 259-278. Boca Raton, FL, US. CRC Press.
- Guillet M, *et al.* (2010). A practical guide (Eds. Robertson GL), pp. 31-54. Boca Raton, FL, US. CRC Press.
- Insausti K, *et al.* (2001). Meat Sci., 57: 273-281.
- Khlijj S *et al.* (2010). Meat Sci., 85: 224-229.
- Labuza TP, *et al.* (1988). Cereal Foods World, 33: 193-205.
- Liu Q *et al.* (1995). Journal of Animal Science, 73: 3131-3140.
- López MM, *et al.* (2008). Food Qual. Pref., 19: 12-20.
- Millar S, *et al.* (1994). Meat Sci., 36: 397-406.
- NCC (2012). In. Stowe, Vermont, USA. National chicken Council.
- Ngapo TM *et al.* (2003). Meat Sci., 66: 125-134.
- Ngapo TM, *et al.* (2004). Food Qual. Pref., 15: 349-359.
- Ngapo TM, *et al.* (2007). Food Qual. Pref., 18: 26-36.
- Nicklaus S, *et al.* (2004). Food Qual. Pref., 15: 805-818.
- Panea B, *et al.* (2005). En XI Jornadas sobre producción animal de AIDA. 11-12/03/2005. Zaragoza, España. pp. 804-806
- Rhee KS, *et al.* (1987). J. Food Biochem., 11: 1-15.
- Ripoll *et al.* (2015) Int. J. Poult. Sci., 14 (5): 262-275, 2015
- Robertson GL (2010). A practical guide (Eds. Robertson GL), pp. 1-16. Boca Raton, FL, US. CRC Press.

**Agradecimientos:** Estudio financiado por el proyecto IPT60000-2010-019.

### CONSUMERS INFLUENCE ON SHELF LIFE OF CHICKEN BREAST

**ABSTRACT:** Subjective life of the chicken breast is largely dependent on the consumer. The socio-demographic characteristics such as sex, age and educational level are able to change the perception of this shelf life. Men, young people and people with basic education level are more tolerant and would take a few more hours to reject the purchase of breasts.

**Keywords:** survey, image, visual appraisal, survival analysis

## FACTORES DE VARIACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE CANALES DE PORCINO ECOLÓGICO Y CONVENCIONAL

Argemí<sup>1</sup>, I., García-Romero<sup>2</sup>, C., Villalba<sup>1</sup>, D. y Álvarez-Rodríguez<sup>1</sup>, J.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Lleida. [immaargemi@gmail.com](mailto:immaargemi@gmail.com)

<sup>2</sup>Junta de Castilla La Mancha.

### INTRODUCCIÓN

La producción ganadera está viviendo cambios que responden a diferentes exigencias de la demanda y en la calidad de los alimentos, abriendo un nuevo nicho en el mercado. Las transacciones comerciales de carne de cerdo de producción convencional se realizan mediante el sistema de clasificación de canales S.E.U.R.O.P., uniformando la valoración de la calidad de las mismas según el rango de porcentaje de magro, con fluctuaciones periódicas en los precios. Por su parte, la comercialización ecológica no dispone de una clasificación estandarizada y existe menos fluctuación en precios.

Este trabajo se planteó para analizar los efectos del modelo de producción, la época del año, el sexo y el tipo genético, sobre diferentes variables relacionadas con la canal de cerdo blanco (peso, grasa dorsal, magro e ingresos) y la prevalencia de lesiones y enfermedades en los decomisos de matadero.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos fueron obtenidos aleatoriamente en un matadero comercial (Escorxador Frigorífic d'Avinyó, S.A., BCN, Spain), durante dos periodos consecutivos, verano y otoño de 2016 (diferentes días de junio a noviembre,  $n = 12$ ). Se inspeccionaron 6540 canales de cerdo (convencional,  $n = 4707$ ; ecológico,  $n = 1833$ ), de 94 lotes y 24 proveedores (convencional,  $n = 17$ ; ecológico,  $n = 7$ ). Los tipos genéticos presentaban gran variabilidad, aunque aproximadamente la mitad de los cerdos controlados en ambos modelos productivos tenía un 50% de genes Duroc (41% vs. 65% en convencional y ecológico, respectivamente). La proporción de animales sin genética Duroc fue del 53% en convencional y del 29% en ecológico. El aturdimiento se hizo con CO<sub>2</sub>, para el posterior desangrado, escaldado, pelado y evisceración. Las canales se dividieron por la mitad, se pesaron y clasificaron mediante instrumento autorizado (R (CE) 1249/2008) de visión artificial (VCS2000, GmbH, Alemania). Se recogió el espesor de grasa subcutánea, lumbar a nivel última vértebra lumbar, y dorsal entre la 3ª y 4ª última costilla. Se estudiaron lesiones de piel según MLC (1985), escala de 1 a 5, y para la valoración estadística se clasificó en 1=ausencia (1 a 2 escala) y 2=presencia (3 a 5). Se recogió la proporción de decomisos de vísceras (hígados, vesículas biliares, pulmón) y canales (abscesos, carne hemorrágica, animales cojos) de cada partida.

Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP Pro12 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU). El peso de la canal, espesor de grasa subcutánea, porcentaje de magro e ingresos, se sometieron a un análisis de varianza con un modelo mixto que incluyó los efectos fijos del modelo productivo (convencional vs. ecológico), la época (verano vs. otoño) y el sexo del cerdo (castrado vs. hembra) y sus interacciones dobles. Se incluyó como covariable el efecto del porcentaje de genes Duroc (0 a 75%) y como efecto aleatorio el proveedor (1 a 24). El nivel de significación para los efectos fue de 0,05. Se describen las medias mínimo-cuadráticas y su error estándar. La separación de medias se realizó con el test de Tukey. Se comprobó la asociación entre las anteriores variables y los daños en la piel (presencia vs. ausencia), así como con los decomisos de vísceras (hígados, vesículas biliares, pulmón) y canales, mediante tablas de contingencia y un test chi-cuadrado de Pearson. Se planteó un modelo logístico de regresión para determinar el riesgo relativo.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los factores de variación que afectan a las variables de la canal se resumen en la Tabla 1. El peso de la canal no se vio afectado por el modelo de producción y sí por la época del año. Mientras en otoño no hubo diferencias entre sexos en el peso canal (83,8 kg vs. 83,4±1,6 kg, en machos castrados y hembras, respectivamente), en verano el peso de los machos castrados fue superior al de las hembras (84,0 kg vs. 81,2±1,6 kg, respectivamente). El porcentaje de genes Duroc tuvo un efecto significativo para el aumento del peso de la canal (+0,5±0,2 kg por incremento de un 10%;  $P=0,02$ ).



Sobre el contenido de grasa subcutánea lumbar, se observó una interacción entre el modelo productivo y la época del año ( $P<0,05$ ), con un espesor superior en verano que en otoño en ecológico ( $17,4\pm 1,5$  vs.  $15,9\pm 1,5$  mm;  $P<0,001$ ), mientras la diferencia entre épocas fue inferior en convencional ( $15,7$  vs.  $15,1\pm 1,0$  mm, respectivamente). En ecológico, en época cálida, debido a una menor ingestión, es más difícil garantizar las necesidades de nutrientes (aminoácidos esenciales), y los cerdos podrían crecer lentamente y engrasar más (Millet et al. 2005). La interacción sexo y época del año afectó significativamente al espesor de grasa lumbar, los machos presentaron un espesor superior en verano que en otoño ( $18,0\pm 0,9$  vs.  $15,8\pm 0,9$  mm;  $P<0,001$ ) mientras en hembras la diferencia no fue significativa ( $15,1\pm 0,9$  vs.  $15,2\pm 0,9$  mm;  $P>0,05$ ). El porcentaje de genes Duroc incrementó significativamente el espesor de grasa lumbar ( $+0,6\pm 0,1$  mm por incremento de un 10%;  $P<0,001$ ).

El incremento de espesor de la grasa subcutánea dorsal, no se vio afectado por el modelo productivo ( $P>0,05$ ). Se observó una interacción entre el sexo y la época del año sobre el espesor de grasa dorsal, mostrando los machos en verano un espesor superior que en otoño ( $28,4\pm 0,8$  vs.  $26,9\pm 0,8$  mm, respectivamente;  $P<0,001$ ), mientras en hembras no hubieron diferencias entre épocas ( $26,0$  vs.  $26,4\pm 0,8$  mm, respectivamente;  $P>0,05$ ). De forma equivalente al espesor de grasa lumbar, el porcentaje de genes Duroc incrementó el espesor de grasa subcutánea dorsal ( $+0,6\pm 0,1$  mm por incremento de un 10%;  $P<0,001$ ).

El porcentaje de magro se vio afectado por la interacción entre el modelo productivo y la época del año ( $P<0,01$ ), donde en ecológico es inferior en verano que en otoño ( $58,0$  vs.  $58,8\pm 1,0\%$ ;  $P<0,001$ ), mientras en convencional, entre verano y otoño, no se observaron diferencias ( $59,7$  vs.  $60,0\pm 0,7\%$ , respectivamente;  $P>0,05$ ). El mismo efecto se observó en hembras en sistema ecológico, donde en época fría presentaban un contenido de magro superior que en época cálida (Hansen et al. 2006). Así mismo, se detectó una interacción entre la época del año y el sexo ( $P<0,001$ ), el contenido de magro fue superior en hembras que en machos ( $59,9$  vs.  $57,9\pm 0,6\%$  en verano y  $59,6$  vs.  $59,2\pm 0,6\%$  en otoño, respectivamente,  $P<0,001$ ), y la diferencia fue superior en verano que en otoño ( $P<0,01$ ).

En los ingresos se observó un efecto significativo en la interacción entre modelo productivo y la época, donde en producción convencional los ingresos son superiores en verano que en otoño ( $139,5$  vs.  $122,3\pm 3,8\text{€/canal}$ ;  $P<0,001$ ), mientras en ecológico los ingresos son más bajos en verano que en otoño ( $262,5$  vs.  $265,4\pm 5,7\text{€/canal}$ ). La diferencia de ecológico respecto convencional es  $123\text{€/canal}$  (+88%) en verano y  $143,1\text{€/canal}$  (+117%) en otoño.

La repetibilidad del efecto aleatorio proveedor para las variables de peso canal fue de 0,37, en la grasa subcutánea dorsal de 0,36, para la grasa subcutánea lumbar de 0,37, en el porcentaje de magro de 0,40 y para el importe de ingreso por canal fue de 0,42. Estos valores explican una parte importante de la variabilidad residual no recogida en el modelo con los efectos fijos, lo que evidencia el elevado impacto del proveedor sobre los resultados técnico-económicos de las canales en matadero.

Los daños en la piel tendieron a diferir entre modelos de producción (Tabla 2,  $P=0,08$ ), pero se puede observar que hay mayor riesgo de lesiones en convencional que en ecológico ( $P<0,05$ ), aunque el riesgo relativo (RR) es solo de 1,09 (IC al 95% de 0,98-1,2). Para la variable época del año, hay más riesgo de daños en otoño que en verano ( $P<0,01$ ). En el caso del efecto sexo prevalecen significativamente las lesiones de piel en hembras que en machos castrados ( $18,76\%$  vs.  $5,76\%$ , respectivamente,  $P<0,001$ ).

Los decomisos de vísceras y canales fueron del 3,99% ( $n=261$ ). En la proporción de hígados decomisados hay diferencias entre modelos productivos (Tabla 2,  $P<0,001$ ), siendo 5,98 veces superior el RR de decomiso en ecológico que en convencional (IC al 95% de 4,2 a 8,5 veces más), confirmando los resultados encontrados en otros estudios donde prevalece el riesgo de ascariosis en porcino ecológico (Eijck y Borgsteede, 2005; Alban et al., 2015). También existe un riesgo de decomiso de hígado 2,4 veces superior en otoño que en verano (IC al 95% de 1,54 a 3,74). En los decomisos de pulmones no hay diferencias significativas entre modelos de producción y si entre épocas del año ( $P<0,001$ ), donde el RR es 5,71 veces superior en otoño que en verano (IC al 95% de 2,3 a 14,2), lo que podría estar relacionado con brotes de enfermedades respiratorias en la época húmeda. Las vesículas biliares, no hay ningún efecto significativo del modelo de producción sobre su decomiso ( $P>0,05$ ) y se observa una mayor proporción de decomiso de este órgano en verano que en otoño ( $P<0,001$ ). Los decomisos por carne hemorrágica y abscesos no se vieron afectados ni por el modelo productivo ( $P<0,05$ ) ni por la época del año ( $P>0,05$ ).

En conclusión, el modelo productivo ecológico incrementó el espesor de la grasa subcutánea lumbar (a nivel de última vértebra) y redujo el contenido magro en verano. En ecológico existe menor riesgo de lesiones de piel, pero mayor riesgo de decomisos de hígados por ascariasis. Sé observó un efecto en verano en machos castrados, dónde el contenido de grasa subcutánea lumbar y dorsal es superior, y el porcentaje de magro es inferior. En verano hay menos riesgo de lesiones en piel y decomisos de hígado y pulmón. Todos estos resultados se ven afectados por el proveedor.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Alban, L. et al. 2015. Porcine Health Manag. 1(1): 4 •Eijck, I. et al. 2005. Veter. Res. Com. 29(5): 407–14. •Hansen, L. 2006. Meat Sci. 74(4): 605–15. •Millet, S. et al. 2005. Meat Sci. 69(2): 335–41.

**Agradecimientos:** A los administradores y trabajadores del “Escorxador Frigorífic d’Avinó, SA”, por el acceso a las instalaciones y su ayuda en la recogida de los datos.

**Tabla 1.** Clasificación de canales de cerdo en matadero y su efecto sobre el modelo de producción, periodo y sexo.

	Modelo productivo				Periodo				Sexo			
	Eco	Con	EE	Sig	Ver	Oto	EE	Sig	M	H	EE	Sig
Peso canal (kg)	82,3	83,9	1,6	NS	82,6	83,6	0,2	**	83,9	82,3	0,2	***
Grasa dorsal (mm)	27,5	26,4	0,8	NS	27,2	26,6	0,1	***	27,6	26,2	0,1	***
Grasa lumbar (mm)	16,6	15,4	0,9	NS	16,6	15,5	0,1	***	16,9	15,1	0,1	***
Magro canal (%)	58,4	59,9	0,7	NS	58,9	59,4	0,1	***	58,5	59,7	0,1	***
Ingresos venta (€)	264,0	131,0	3,4	***	201,0	193,8	0,3	***	199,7	195,1	0,3	***

Con=convencional, Eco=ecológico; EE=error estándar, Sig=significación; Ver=verano, Oto=otoño; H=hembras, M=machos; \*,  $P<0,05$ ; \*\*,  $P<0,01$ ; \*\*\*,  $P<0,001$ ; NS, no significativa ( $P>0,05$ ).

**Tabla 2.** Proporción de animales con daños en piel, vísceras y/o canales decomisadas según el modelo productivo y la época del año.

	Modelo productivo			Época del año		
	Con	Eco	Sig	Verano	Otoño	Sig
Daños en piel (%)	17,91	6,61	NS	8,01	16,51	***
Hígados decomisados (%)	0,66	1,53	***	0,35	1,83	***
Vesículas biliares decomisadas (%)	0,14	0,08	NS	0,21	0,0	***
Pulmones decomisados (%)	0,72	0,31	NS	0,08	0,95	***
Decomisos de canal por carne hemorrágica (%)	0,11	0,02	NS	0,08	0,05	NS
Decomisos de canal por abscesos	0,21	0,05	NS	0,11	0,15	NS

Eco=ecológico; Con=convencional; \*,  $P<0,05$ ; \*\*,  $P<0,01$ ; \*\*\*,  $P<0,001$ ; NS, no significativa ( $P>0,05$ )

### VARIATION FACTORS IN PORK CARCASSES RAISED UNDER ORGANIC AND CONVENTIONAL HUSBANDRY

**ABSTRACT:** This work analyzed the effects of husbandry system (conventional vs. organic), season (summer vs. autumn), gender (castrates vs. females) and genetic type (0 to 75% of Duroc) on different carcass variables of finishing pigs and the prevalence of condemnation outcomes at the abattoir. Organic husbandry increased back-fat thickness and reduced lean content in summer compared to autumn season. Duroc genes affected positively the live-weight and back-fat thickness. In summer, back-fat thickness was greater while lean content was lower in castrates than in gilts. Skin lesions were lower but liver condemnations were greater in organic than in conventional husbandry. There was less risk of skin lesions and liver and lungs condemnation in summer than in autumn. These results were also mostly affected by the supplier.

**Keywords:** pigs, husbandry system, skin damage, carcass traits.

## EFFECTO DEL SEXO SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL, DE LA CARNE Y DE LA GRASA DE CERDOS PESADOS

Daza, A.<sup>1</sup>, Latorre, M.A.<sup>3</sup>, Olivares, A.<sup>2</sup>, Callejo, A.<sup>1</sup>, Rey, A.I.<sup>2</sup> y López Bote, C.J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Producción Agraria, ETS de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica, 28040 Madrid

<sup>2</sup> Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid

<sup>3</sup> Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Server, 177, 50013 Zaragoza.  
argimiro.daza@upm.es

### INTRODUCCIÓN

España es el primer país productor de jamón a escala mundial. La base animal de la producción de jamón y de otros productos elaborados son cerdos pesados que se sacrifican, generalmente, con pesos superiores a 105 kg. Dentro del escenario productivo del cerdo blanco mejorado, nuestro país cuenta con una Especialidad Tradicional Garantizada (ETG) denominada Jamón Serrano, una Denominación de Origen (Jamón y Paleta de Teruel) y una Indicación Geográfica Protegida (Jamón de Trevélez) amparadas por unas exigencias de calidad que no todos los animales satisfacen. Así, algunos problemas inherentes a los cerdos pesados son: el bajo engrasamiento de las canales, lo que se traduce en que una fracción de las mismas sean eliminadas en el matadero, el bajo porcentaje de grasa intramuscular, lo que deriva en una reducción de la calidad organoléptica de la carne (jugosidad, terneza, aroma) o los elevados porcentajes de ácido linoleico y de otros ácidos grasos poliinsaturados en la grasa que alargan el tiempo de curación de las piezas y son fuente de oxidaciones durante el proceso de elaboración. Algunos trabajos previos han demostrado que los factores sexo y el peso al sacrificio influyen sobre la calidad de la canal de la carne y de la grasa de cerdos pesados con resultados variables (Latorre et al., 2004 ; Morales et al., 2011 ; Peinado et al., 2012). Dado el interés del tema, y como quiera que hay aspectos inherentes al mismo insuficientemente tratados, en el presente experimento abundamos sobre la influencia de los factores citados sobre la calidad del cerdo pesado.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 181 cerdos, 97 machos castrados y 87 hembras enteras, Duroc x (Landrace x Large White). Desde los 70 kg hasta el sacrificio (122,25 kg) fueron alimentados con un pienso único basado en cereales-soja 44 que contenía 3.087 Kcal de EM /kg, 15,93% de proteína bruta, 3,9% de grasa bruta y 2,6, 0,3, 3,4 y 9,1 g/kg de C16:0. C18:0, C18:1n-9 y C18:2 n-6 respectivamente (AOAC, 2000; FEDNA, 2010). En el matadero se obtuvieron individualmente el peso de la canal, jamón, paleta y lomo izquierdos y el espesor de grasa dorsal a nivel del *Gluteus medius*. En el laboratorio, un día después del sacrificio, se determinó el color en el *Longissimus thoracis*, mediante un colorímetro CM-2002 Minolta, Minolta Camera, Osaka, Japón) recabando valores de L\*, a\* y b\* (CIE, 1976). Los lípidos de la grasa intramuscular del *L. thoracis* fueron obtenidos según el procedimiento de Marmer y Maxwell (1981). Los extractos grasos fueron metilados con sulfúrico y los ácidos grasos fueron identificados por cromatografía gaseosa según López Bote et al. (1997). Los datos recabados se estudiaron mediante análisis de varianza o covarianza y regresión simple. Los coeficientes alométricos de jamones y paletas se calcularon mediante la ecuación  $y = a X^b$  (y= peso de la pieza, X = peso canal, b = coeficiente alométrico. Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS16.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de jamón respecto al peso canal tendió a ser superior en hembras que en machos y los porcentajes de lomo y de la suma de partes nobles (jamón+paleta+lomo) fueron más elevados en hembras que en machos. El espesor graso a nivel del músculo *Gluteus medius* fue inferior en las hembras que en los machos y, entre sexos, no se

detectaron diferencias en el porcentaje de grasa intramuscular del *L. thoracis* resultados acordes con los observados por Morales et al. (2011) en cerdos del mismo tipo genético. El sexo no tuvo efecto significativo sobre las variables instrumentales del color L\*, a\* y b\*, lo que concuerda con Peinado et al. (2012). Los machos presentaron una grasa intramuscular más saturada que las hembras y no se obtuvieron diferencias para las proporciones de los ácidos grasos C18:1 n-9 y C18:2 n-6 (Tabla 1), lo que concuerda con los resultados de Peinado et al. (2012). La grasa intramuscular tuvo efecto significativo ( $P < 0,05$ ) sobre la proporción de los principales ácidos grasos. Las proporciones de los ácidos grasos C16:0, C18:0 y C18:1 n-9 aumentaban con la grasa intramuscular mientras que la de C18:2 n-2 se reducía.

**Tabla 1.** Efecto del sexo sobre la calidad de la canal de la carne y de la grasa.

	Machos	Hembras	eem	P <	P covariable
Peso al sacrificio (kg)	123,66	120,73	1,20	0,09	-
Peso canal (kg)	97,36	95,39	1,05	0,19	
Rendimiento canal (%)	78,37	79,02	0,26	0,42	0,0072 (1)
% de Jamón	13,30	13,51	0,078	0,07	0,23 (2)
% de Paleta	7,94	7,92	0,04	0,64	0,0001 (2)
% de Lomo	3,35	3,55	0,033	0,0001	
% de Partes Nobles	24,59	24,98	0,11	0,032	0,0008 (2)
E G <i>Gluteus medius</i> (mm)	20,68	18,55	0,41	0,0004	0,0001 (2)
% Grasa intramusc <i>L. thoracis</i>	4,45	4,28	0,19	0,55	0,82 (2)
<b>Ácidos grasos grasa intramuscular</b>					
C16:0 (%)	23,86	23,55	0,13	0,11	0,0001(3)
C18:0 (%)	13,42	12,92	0,18	0,063	0,022 (3)
C 18:1 n-9 (%)	42,41	42,77	0,23	0,28	0,0009 (3)
C 18:2 n-6 (%)	7,77	7,92	0,15	0,48	0,0001 (3)
Σ SAT (%)	39,27	38,43	0,29	0,047	0,0001 (3)
Σ MONO	50,42	50,96	0,28	0,17	0,022 (3)
Σ POLI	10,31	10,60	0,21	0,34	0,0001 (3)

94 machos y 87 hembras, eem = error estándar de la media (1) covariable peso al sacrificio (2) covariable peso canal, (3) covariable % de grasa intramuscular, EG = espesor graso Σ SAT, MONO y POLI = suma de los ácidos grasos saturados (SAT), monoinsaturados (MONO) y poliinsaturados (POLI).

Cuando en el modelo estadístico se obvió la covariable porcentaje de grasa intramuscular las proporciones de C18:0 y de SAT fueron más elevadas en machos que en hembras y la de C16:0 tendió ( $P < 0,1$ ) a ser superior en machos.

En la Tabla 2 reflejamos la relación entre el peso canal y algunas variables de la misma. El espesor de grasa a nivel del *Gluteus medius* aumentó con el peso canal tanto en machos como en hembras, pero dentro del intervalo de peso canal al sacrificio observado en este experimento, comprendido entre 74 y 118,4 kg, el espesor graso aumentó significativamente más en hembras que en machos. Análogo resultado fue detectado para el peso del jamón. Sin embargo, el crecimiento de la paleta por cada kg de aumento de peso de la canal, dentro del intervalo de peso canal citado, fue superior en machos que en hembras. Como cabía esperar los porcentajes de jamón y de paleta respecto al peso canal se redujeron conforme aumentaba el peso canal. El peso de la canal no tuvo influencia significativa sobre los porcentajes de grasa intramuscular del *L. thoracis* ni en machos ni en hembras. Los resultados de las ecuaciones de regresión lineal de la Tabla 2 sugieren que la deposición de grasa a nivel del *G. medius* y el crecimiento del jamón puede que sean superiores en los machos que en las hembras durante la fase de crecimiento, mientras que durante la de acabado ocurre lo contrario. Entre 74 y 118,4 kg de peso canal los valores de los coeficientes alométricos encontrados para el jamón en machos y hembras fueron 0,907 y 0,965 ( $P < 0,05$ ) y para la paleta 0,818 y 0,748 ( $P < 0,05$ ), valores coherentes con las ecuaciones de regresión consignadas en la Tabla 2. Se concluye que mediante estrategias

genéticas, nutritivas y de manejo hay que continuar trabajando para aumentar la calidad de la canal y de la carne de cerdos pesados destinados a la producción de elaborados.

**Tabla 2. Efecto del peso de la canal sobre algunas variables de la misma.**

Ecuación de regresión	R <sup>2</sup>	RSD	P<
GM (mm) (machos) = 3,97 <sup>a</sup> + 0,173 <sup>b</sup> PC	0,17	4,02	0,0002
GM (mm) (hembras) = - 1,91 <sup>b</sup> + 0,213 <sup>a</sup> PC	0,26	3,82	0,0001
Peso jamón (kg) (machos) = 1,22 <sup>a</sup> + 0,120 <sup>b</sup> PC	0,73	0,70	0,0001
Peso jamón (kg) (hembras) = 0,41 <sup>b</sup> + 0,130 <sup>a</sup> PC	0,77	0,77	0,0001
% Jamón (machos) = 14,53 – 0,0130 PC	0,027	0,75	0,10
% Jamón (hembras) = 13,63 – 0,00120 PC	0,0032	0,72	0,54
Peso paleta (kg) machos) = 1,40 <sup>b</sup> + 0,0647 <sup>a</sup> PC	0,79	0,31	0,0001
Peso paleta (kg) hembras = 1,88 <sup>a</sup> + 0,0594 <sup>b</sup> PC	0,73	0,38	0,0001
% paleta (machos) = 9,37 <sup>a</sup> – 0,0150 <sup>b</sup> PC	0,16	0,33	0,001
% paleta (hembras) = 10,14 <sup>a</sup> – 0,0230 <sup>a</sup> PC	0,26	0,42	0,0001

GM = espesor graso a nivel de *Gluteus medius*, PC = peso canal en kg, R<sup>2</sup> = coeficiente de determinación, RSD = desviación residual estándar, P = probabilidad. Entre regresiones de distinto sexo distintos superíndices indican diferencias significativas P <0,05.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th Ed AOAC, Gaithersburg, MD
- CIE. 1976. Publication nº 15 (E-1.3.1). Commission Internationale de l'Eclairage, Paris
- FEDNA. 2010. Tablas Fedna de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (C, de Blas; G.G Mateos ; P García-Rebollar), Ed FEDNA
- Latorre et al., 2004. Journal of Animal Science, 82:526-533.
- López Bote et al., 1997. Animal Science, 64:177-186.
- Marmer, W.N., Maxwell, R.J.1981. Lipids, 16:365-371.
- Morales et al., 2011. Journal of Animal Science, 89: 3481-3489
- Peinado et al., 2012. Meat Science, 75:388-396.

### EFFECT OF GENDER ON CARCASS, MEAT AND FAT QUALITY OF HEAVY PIGS

**ABSTRACT:** A hundred and eighty-one Duroc x Landrace x Large White pigs, 94 barrows and 87 intact females were used. The sum of ham, foreleg and loin percentage respect to carcass weight was significantly (P<0.05) higher in intact females than in barrows. However, fat thickness at the level of *Gluteus medius* muscle (GM) was lower in females than in barrows. Gender had not significant influence on colour variables and intramuscular fat percentage (IFP), but intramuscular fat was more saturated in barrows than in females. Ham and foreleg weights increased with carcass weight while ham and foreleg percentages regarding carcass weight decreased. From 70 to 118,4 kg of carcass weight GM increased more rapid in females than in barrows. Carcass weight had not significant effect on IFP.

**Keywords:** pigs, carcass, meat, fat quality.

## EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON EXCEDENTES DE HIGOS (*FICUS CARICA* L.) EN LA FASE DE CEBO SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL Y LA CARNE DE CERDOS IBÉRICOS

Tejerina, D.<sup>1</sup>, Cabeza de Vaca, M<sup>1</sup>, Romero-Fernández, M.P.<sup>1</sup>, Pérez-Gragera, F.<sup>1</sup>, Pérez-Rodríguez, M.A.<sup>1</sup> y García-Torres, S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Calidad de Carne, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX-La Orden). Junta de Extremadura, Guadajira, Badajoz, Spain.

E-mail: tejerinabarrado@yahoo.es

### INTRODUCCIÓN

Tras la crisis que ha experimentado el sector del porcino Ibérico en los últimos años, se comenzaron a buscar alternativas para abaratar las producciones y obtener productos de similares características organolépticas, pero con menor coste. En este sentido, se han buscado estrategias de alimentación más económicas, como son el uso de subproductos y excedentes de producción agraria como suplemento a los piensos comerciales. Según el Anuario de estadística del MAGRAMA (2014), Extremadura es la región que cuenta con mayor extensión de terreno dedicada a la producción de higos en España, teniendo un excedente de producción, con grandes posibilidades en la alimentación animal. Desde un punto de vista nutricional, los higos tienen un alto contenido en agua (80%), hidratos de carbono (16%), fibra (2,5%) y potasio (0,27%), por lo que suponen una importante fuente de energía, y podría ser una alternativa como complemento a los piensos comerciales en la fase de cebo del cerdo Ibérico. Así pues, el objetivo de este trabajo fue realizar un estudio sobre la influencia de la suplementación, durante la fase final de cebo del cerdo Ibérico, a base de excedentes de higos sobre parámetros productivos y de calidad de canal y de carne (m. *Longissimus dorsi thoracis*).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 22 cerdos Ibéricos x Duroc (50%), que se distribuyeron en dos lotes (*Control*, n=11 vs. *Higos*, n=11) en dos parcelas de similares características de 3.500 m<sup>2</sup>, en condiciones semi-extensivas, en la Finca Valdesequera (Badajoz). En el lote *Higos*, los animales fueron alimentados con piensos de arranque y de pre-engorde, hasta alcanzar 55-65 kg p.v., condiciendo con el periodo de producción de higos (Septiembre), momento en el que fueron suplementados con piensos comerciales de cebo y un 23-25% de higos frescos durante 60 días y posteriormente con un 10-12% de higos secos durante 50-60 días, hasta alcanzar un peso final de sacrificio de 140-150 kg.

Los animales del lote *Control*, solo fueron alimentados con piensos comerciales, según la práctica habitual de la explotación.

Durante todo el proceso de engorde, se tomaron los datos necesarios para el estudio de parámetros productivos (GMD, IC)

Tras el sacrificio se realizó el estudio de la canal (rendimiento canal y piezas nobles, espesor de grasa dorsal y medidas morfométricas) y se retiró el m. *Longissimus dorsi thoracis* para realizar las siguientes determinaciones:

i) pH (24h) mediante pH-metro Crison mod. MicroPH 2001; ii) el color instrumental mediante colorímetro Minolta CR-300, determinándose las coordenadas de color L\*, a\* y b\* en el espacio de color CIE Lab; iii) contenido en humedad (AOAC, 2003) y iv) capacidad de retención de agua (CRA), de acuerdo al método propuesto por Irie & Swatland (1992).

El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante un estudio descriptivo y un análisis de la varianza (ANOVA) a través del software SPSS.PC + (2005), teniendo en cuenta la influencia de la alimentación con o sin higos sobre los parámetros estudiados del cerdo Ibérico.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede observar en la Tabla 1, los dos lotes objeto de estudio fueron homogéneos en cuanto a peso inicial y peso final y no se observaron diferencias en la GMD entre ambos, por lo que, parece ser, que la suplementación con higos no afecta a la velocidad de engorde de los animales. Por otro lado, tampoco hubo diferencias en el índice de conversión, aunque sí se observó una reducción en los costes de alimentación, ya que disminuyó el suministro medio de pienso comercial; 2,72kg /animal/ día en el lote *Control* frente a 2,27 Kg/animal/día

en el lote de *Higos*, ya que el resto fue suministrado en forma de excedentes de higos (0,49 kg/animal/día).

**Tabla 1.** Influencia de la suplementación con higos en la fase final de engorde sobre la GMD y el IC frente al lote control.

Datos productivos	Lote		Sig
	Control	Higos	
Peso vivo Inicial (kg)	88,41±9,08	87,68±12,04	ns
GMD (g/día)	0,747±0,068	0,720±0,085	ns
IC (kg)	3,66±0,321	3,88±0,472	ns
Peso vivo Final (kg)	148,18±8,68	145,32±14,59	ns

EEM, error estándar de la media; GMD, ganancia media diaria; IC, índice de conversión; Sig: P, niveles de significación dados por \*\*\*( $p \leq 0.001$ ), \*\*( $p \leq 0.01$ ), \* ( $p \leq 0.05$ ), ns (no significativo,  $p > 0.05$ ).

En la Tabla 2 se muestran los resultados relativos al estudio de canal, y como se puede apreciar no hubo diferencias en ninguno de los parámetros analizados, por lo que se podría afirmar que la suplementación con higos durante la fase de cebo no tuvo influencia en las características de la canal y los rendimientos cárnicos.

**Tabla 2.** Influencia del sistema de producción (Control vs. Higos) en las medidas de canal y rendimientos cárnicos.

	Control	Higos	EEM	Sig.
<b>Datos Canal</b>				
Peso Canal (kg)	120,14	118,29	2,06	ns
Rto Canal (%)	81,07	81,43	0,36	ns
<b>Espesor grasa dorsal</b>				
E1 (1ª Costilla) (cm)	9,64	9,27	0,25	ns
E2 (última costilla) (cm)	6,32	5,67	0,28	ns
E3 (Caudal) (cm)	5,50	5,09	0,22	ns
<b>Peso/Rendimiento piezas nobles</b>				
Peso Jamones (kg)	27,35	26,66	0,49	ns
Peso Paletas (kg)	19,20	18,99	0,28	ns
Peso Lomos (kg)	4,39	4,17	0,11	ns
Rto Piezas nobles (%)	42,43	42,17	0,26	ns
<b>Medidas anatómicas</b>				
Longitud Caja Torácica (cm)	49,68	48,64	0,72	ns
Anchura Caja Torácica (cm)	24,91	25,23	0,28	ns

EEM, error estándar de la media; Sig: P, niveles de significación dados por \*\*\*( $p \leq 0.001$ ), \*\*( $p \leq 0.01$ ), \* ( $p \leq 0.05$ ), ns (no significativo,  $p > 0.05$ ).

Los resultados correspondientes al estudio de los parámetros de calidad de carne (*L. dorsi thoracis*) se muestran en la Tabla 3 y solo se observaron diferencias en la CRA; siendo mayor en las piezas procedentes de animales engordados con dietas suplementadas con excedentes de higos.

**Tabla 3.** Influencia del sistema de producción (Control vs. Higos) sobre parámetros de calidad del lomo (*L. dorsi thoracis*).

	Control	Higos	EEM	Sig.
<b><i>Longissimus dorsi thoracis</i></b>				
pH	5,77	5,66	0,03	ns
Humedad (g/100g)	69,69	69,85	0,47	ns
CRA (g/100g)	58,02	60,44	1,81	*
<b><i>Color Instrumental</i></b>				
Luminosidad (CIE-L*)	49,34	50,14	0,56	ns
Índice de rojo (CIE-a*)	7,13	7,17	0,30	ns
Índice de amarillo (CIE-b*)	5,60	5,88	0,25	ns
Tono (H°)	44,88	47,58	1,22	ns
Croma (C*)	0,78	0,83	0,02	ns

EEM, error estándar de la media; CRA, capacidad de retención de agua; Sig: P, niveles de significación dados por \*\*\*( $p \leq 0.001$ ), \*\*( $p \leq 0.01$ ), \* ( $p \leq 0.05$ ), ns (no significativo,  $p > 0.05$ ).

Por tanto, los resultados sugieren que la suplementación con higos en bajas proporciones no provoca modificaciones en parámetros productivos, rendimientos y calidad de la carne. Sin embargo, si se observó una reducción en los costes de alimentación así como una salida comercial a los excedentes de higos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC, 2003. (17th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International; Irie, M., & Swatland, H. J. 1992. Food Research International, 25, 21–30.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por FEDER-JUNTA DE EXTREMADURA, ayuda a Grupo de investigación (GR15171) TRADINNOVAL y realizado gracias a la colaboración de la sección de porcino y de higuera de CICYTEX.

#### EFFECT OF THE SUPPLEMENTATION WITH FIGS (*FICUS CARICA*) IN THE FINAL FATTENING PHASE ON THE CARCASS AND MEAT QUALITY OF IBERIAN PIGS.

**ABSTRACT:** Dietary supplementation of the Iberian pig with figs is a widely used in Extremadura and other regions, but without studies that confirm its impact on the quality of the meat. Thus, the study of the incorporation of figs in the diet and its influence on the productive yield and the quality of the Iberian pig meat were considered. Two batch (Control vs. Figs) were established and field, carcass and meat (*m. Longissimus dorsi thoracis*) determinations were realised. The results showed no differences in most of the parameters studied, except for WHC, which was higher in the batch of animals supplemented with figs. So its use would mean a reduction in production costs without detriment of yields and final meat quality.

**Keywords:** feeding, meat, Iberian pigs, production system



## **EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON LINAZA Y DEL GEN DEL HALOTANO SOBRE LA DUREZA Y LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL LOMO DE CERDO BLANCO CRUDO Y COCINADO**

García-Hernández, E., Tor, M., Villalba, D. y Álvarez-Rodríguez, J.  
Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Lleida. esther.garcia@udl.cat

### **INTRODUCCIÓN**

La carne de cerdo representa una parte importante en la dieta y la modificación de su valor nutritivo puede tener implicación directa en la salud humana. El perfil de ácidos grasos de la carne porcina es un reflejo de la composición de ácidos grasos presentes en el alimento que ha consumido el animal. El consumo de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), en especial los Omega-3, están valorados por su prevención en enfermedades cardiovasculares. En ese sentido, aportar al animal una dieta rica en AGPI, como puede ser la que aporta la linaza, puede incrementar el valor de AGPI en la carne de cerdo. La genética es otro factor que modifica la carne de cerdo y por tanto la respuesta al aporte de linaza será diferente en función de la genética. Animales portadores del gen del halotano se siguen utilizando, entre otras características, por su buena aptitud cárnica y por tanto sería interesante analizar la inclusión de AGPI en líneas genéticas halotano positivas. La carne de cerdo suele consumirse cocinada (a excepción de los embutidos y tártar), por lo que es interesante conocer cómo se comportan los ácidos grasos de la carne una vez cocinada. El objetivo de este estudio es determinar el efecto de la suplementación con linaza y del gen del halotano sobre la dureza y las características nutricionales del lomo de cerdo fresco y cocinado.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

En este estudio se utilizaron un total de 82 hembras (Landrace x Large-White x Pietrain), que se alojaron en 4 corrales de 20-21 cerdas/corral con un peso de entrada de  $92,5 \pm 2$  kg (con  $168 \pm 3$  días de edad) en una granja comercial en Agramunt (Lleida) durante 21 días. Hubo dos tratamientos: 2 corrales donde los animales se alimentaron con pienso de engorde comercial *ad libitum* (2365 kcal EN/kg, 1,0% Lys, vit E 29 mg/kg, 2,9% AGPI n-3) y 2 corrales donde se alimentaron con el mismo pienso *ad libitum* suplementado con 0,5 kg/día (que supone un nivel de inclusión del 15% de la dieta) de harina de extracción de linaza (56,2% AGPI n-3). Las cerdas se identificaron individualmente para controlar sus rendimientos productivos. Se pesaron el día anterior a la salida a matadero, donde se registró el peso de la canal y el espesor de grasa dorsal (se midió entre la tercera y cuarta última costilla, con el sistema de visión artificial VCS2000). Se tomaron muestras de 400 g de lomo de la zona caudal de 41 animales y se midió su pH a 45 min y a 24 h post-mortem (Testo 205). A continuación, se congeló la pieza dividida en 3 secciones para analizar la dureza, la composición química y el perfil de ácidos grasos. Los lomos se dividieron en 2 partes por igual: una parte para realizar las mediciones de la carne cruda y la otra parte para realizar las mediciones de la carne cocinada. El cocinado de la carne se realizó por cocción a 100°C de las muestras de forma individual, que llegaron a una temperatura interna de 70°C. Se anotaron las pérdidas por cocción por diferencia de peso entre pre-cocinado/post-cocinado. La dureza se determinó tanto en carne dura como en cocinada con el método Warner-Bratzler (texturómetro TA-TX2). Se cortó cada muestra en 8 segmentos (10x10 mm de sección y de 30 mm de longitud) de forma perpendicular a la dirección de las fibras. Para la medición de la proteína bruta, grasa bruta y el perfil de ácidos grasos, se liofilizaron las muestras (crudas y cocinadas) y se homogeneizaron. La proteína bruta se determinó por el método Dumas y la grasa bruta se analizó con el método Soxhlet. El perfil de ácidos grasos (AG) se midió por transesterificación directa con trifluoruro de boro y su cuantificación a través de cromatografía de gases-FID. También se genotiparon las muestras de la carne liofilizada para detectar el gen RYR1 (resistente NN, n= 21 vs. portador Nn, n=20). Los datos se analizaron con JMP Pro12 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU). Las variables de la canal, el pH y las pérdidas de agua se analizaron por el método de mínimos cuadrados estándar, incluyendo como efectos fijos el tratamiento (control vs. suplemento con linaza) y el genotipo (resistente vs. portador), así como su interacción simple. La dureza instrumental, composición química y perfil de AG se trataron con sendos modelos mixtos que incluyeron, además de los anteriores efectos fijos, el efecto de la cocción (cruda vs. cocida) y su interacción con el tratamiento y el genotipo, y como efecto aleatorio el animal.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros de la canal e instrumentales de la carne se resumen en la Tabla 1. El rendimiento a canal se vio afectado por una interacción entre el genotipo y el tratamiento. Las carnes Nn, no presentaron diferencias (77,6 vs. 75,5±1,2%, en control y suplemento, respectivamente;  $P>0,05$ ) mientras que en las carnes NN, el grupo tratamiento mostró un mayor rendimiento de la canal (74,9 vs. 79,8±1,2%, respectivamente,  $P<0,05$ ). Respecto a los parámetros instrumentales, el pH a 45min se vio afectado por el genotipo del animal; los NN obtuvieron un valor más elevado que los Nn (6,61 vs. 6,21±0,06, respectivamente,  $P<0,05$ ).

Los parámetros de dureza, composición química y el perfil de ácidos grasos se presentan en la Tabla 2. La dureza de la carne presentó una interacción entre el cocinado y genotipo. Mientras que en las carnes crudas no se observaron diferencias entre NN y Nn (3,31 vs. 3,37±0,19 kg, respectivamente,  $P>0,05$ ), en la carne cocinada los portadores presentaron una mayor dureza de la carne (5,44 vs. 5,97±0,16 kg, respectivamente,  $P<0,05$ ). Este resultado también se obtuvo en un estudio de Hamilton et al. (2000), donde se comprobó que los animales portadores del gen del halotano presentaron una dureza de la carne significativamente superior. Los parámetros químicos de la carne no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, tan solo se vieron afectados por el cocinado de la carne. Las pérdidas de agua por cocción tendieron a ser superiores en la carne Nn que en NN ( $P=0,08$ ), aunque esto no afectó a la composición química de la carne después de la cocción, que no difirió entre genotipos ( $P>0,05$ ).

El contenido de AGS fue similar en los cerdos Nn (36,2 vs. 37,2±0,4%, en crudo y cocido, respectivamente;  $P>0,05$ ). Sin embargo, en los cerdos NN el contenido de AGS fue inferior en el lomo crudo que en cocido (35,9 vs. 38,2±0,4%, respectivamente;  $P<0,05$ ). Teniendo en cuenta los datos medios de carne cruda y cocinada, los animales Nn presentaron un mayor contenido de AGPI n-3 que los NN (1,00 vs. 0,83±0,05%, respectivamente;  $P<0,05$ ). En el contenido de AGPI n-3 se observó una interacción entre el tratamiento y el genotipo, y entre el tratamiento y el cocinado. Tanto en la carne cruda como en la cocinada, los animales con suplemento de linaza presentan un mayor contenido de AGPI n-3, pero esta diferencia es superior en las carnes crudas, que casi duplica el valor ( $P<0,05$ ). A pesar de la pérdida de AGPI n-3 durante el cocinado, el mayor contenido de grasa de las carnes cocinadas supondría un mayor consumo total de AGPI n-3. En los animales control, el contenido de AGPI n-3 no difirió entre genotipos (0,67 vs. 0,65±0,06% en NN y Nn, respectivamente;  $P>0,05$ ), pero al suplementar con linaza la respuesta fue inferior en NN que en Nn (0,99 vs. 1,35±0,06%,  $P<0,05$ ). El ratio entre n6/n3 presentó diferencias significativas entre tratamientos; los animales con suplemento presentaron un ratio inferior respecto al grupo control, mientras que la genética no afectó a este parámetro. De forma similar, Guillevic et al. (2009) obtuvieron una reducción del ratio n6/n-3 al incluir un 6% de semilla de lino extrusionada en el pienso de los cerdos.

La repetibilidad del efecto aleatorio animal para la dureza instrumental y composición química fue muy baja. Sin embargo, el perfil de ácidos grasos el efecto animal explicó una parte importante de la varianza total de los resultados, que fue más acusada para los AGPI y AGMI que para los AGS. Por tanto, al considerar distintas medidas del mismo animal se mejora la inferencia estadística del resto de efectos fijos considerados en el modelo.

En conclusión, una suplementación con linaza en la dieta no afecta a la dureza de la carne, ni a la grasa intramuscular, pero reduce el contenido de AGS, incrementa el porcentaje de AGPI n-3 y mejora el ratio AGPI n-6/n-3. Los animales portadores del gen del halotano presentaron carnes cocinadas más duras, pero fueron capaces de depositar más AGPI n-3.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Hamilton, D.N. et al., 2000. *J. Anim. Sci.* 2000. 78: 2862–2867. • Guillevic, M. et al., 2009. *Liv. Science* 124: 288–294.

**Agradecimientos:** Proyecto financiado por CDTI (Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial) del Ministerio de Economía y Competitividad de España (IDI2014-1128, Premier Pigs).

**Tabla 1. Efecto del tratamiento y del genotipo en los parámetros de canal y carne**

	Tratamiento		Genotipo		EE	Efectos <sup>1</sup>	
	Ctr	Supl	NN	Nn		Tratamiento	Genotipo
Peso final (kg)	109,9	107,8	109,1	108,6	2,4	ns	ns
Rendimiento canal (%)	76,2	77,6	77,3	76,5	0,8	ns	ns
Peso canal (kg)	83,7	83,8	84,4	83,1	0,97	ns	ns
Espesor de grasa dorsal (mm)	23,5	25,6	25,3	23,8	1,0	ns	ns
pH 45min	6,38	6,44	6,61a	6,21b	0,06	ns	***
pH 24h	5,65	5,56	5,65	5,56	0,04	ns	ns
Pérdidas por cocinado (%)	17,0	16,2	15,3a	18,0b	1,06	ns	t

<sup>1</sup> La interacción entre tratamiento y genotipo sólo afectó al rendimiento de canal (ver texto). Ctr= control, EE=error estándar, Supl=suplemento. Distinta letra en la misma fila indica diferencias significativas ( $P<0,05$ ) entre tratamientos (control vs. suplemento) o genotipos (NN vs. Nn); \*\*\*,  $P<0,001$ ; NS, no significativo ( $P>0,05$ ), t= tendencia ( $0,05<P<0,10$ ).

**Tabla 2. Efecto del tratamiento y de la cocción en la dureza instrumental, la composición química y el perfil de ácidos grasos (AG) de la grasa intramuscular**

	Carne cruda		Carne cocida		EE	Rep	Estado	Efectos <sup>1</sup>	
	Ctr	Supl	Ctr	Supl				Trat	Genotipo
Dureza	3,31a	3,26a	5,44b	5,97b	0,12	0,16	***	ns	***
Humedad (g/100 g)	72,9a	73,0a	44,5b	41,0b	1,37	0	***	ns	ns
PB (g/100 g)	21,5a	21,8a	43,8b	47,3b	1,16	0	***	ns	ns
GIM (g/100 g)	2,4b	2,7b	6,6a	6,2a	0,67	0,12	***	ns	ns
AGS (g/100 g AG)	36,5a	35,5a	38,3b	37,1b	0,41	0,44	***	*	ns
AGMI (g/100 g AG)	46,4a	45,6a	47,9b	47,8b	0,70	0,73	***	ns	ns
AGPI (g/100 g AG)	17,0a	18,8a	13,8b	15,1b	0,7	0,73	***	ns	ns
AGPI n-3 (g/100g AG)	0,74b	1,35d	0,59a	1,00c	0,01	0,69	***	***	*
AGPI n-6 (g/100 g AG)	16,3a	17,5a	13,2b	14,1b	0,41	0,71	***	ns	ns
Ratio AGPI/AGS	0,47a	0,53a	0,36b	0,41b	0,02	0,67	***	ns	ns
Ratio AGMI/AGS	1,27	1,28	1,26	1,30	0,03	0,40	ns	ns	ns
Ratio n-6/n3	24,0a	13,8b	23,9a	15,7b	1,47	0,37	ns	***	ns

<sup>1</sup> Las interacciones entre efectos se describen en texto. Ctr= control, Supl=suplemento, EE=error estándar, Rep= repetibilidad del efecto animal. Distinta letra en la misma fila indica diferencias significativas entre tratamientos (Trat) (control vs. suplemento) ( $P<0,05$ ); \*,  $P<0,05$ ; \*\*\*,  $P<0,001$ ; NS, no significativo ( $P>0,05$ ).

### EFFECT OF TOP-DRESSING LINSEED SUPPLEMENTATION AND HALOTHANE GENE ON THE TECHNOLOGICAL QUALITY AND FATTY ACID COMPOSITION OF RAW AND COOKED PORK LOINS

**ABSTRACT:** A total of 82 lean gilts (Landrace x Large-White x Pietrain) were used to study the effect of top-dressing linseed supplementation (0.5 kg/day) and halothane gene on the technological quality and fatty acid composition of raw and cooked pork loin. Linseed supplementation did not affect the meat hardness and the intramuscular fat, but it reduced the saturated fatty acids content. Linseed supplementation increased the polyunsaturated fatty acid n-3 content and improved the ratio PUFA n-6/PUFA n-3. The animals carrying the halothane gene showed lower pH at 45 min post-mortem, greater shear force, but they were able to deposit more n-3 PUFA than halothane free gilts.

**Keywords:** gilts, linseed expeller, fatty acids composition, halothane gene.

## RESTRICCIÓN PROTEICA EN LA FASE DE CRECIMIENTO DE CERDOS IBÉRICOS CRUZADOS Y SU INFLUENCIA EN CARACTERES DE CALIDAD DE LA CARNE

López-García, A.<sup>1</sup>, Fernández-Barroso, M.A.<sup>1</sup>, García-Casco, J.M.<sup>1</sup>, Caraballo, C.<sup>1</sup>, Muñoz, M.<sup>1</sup> y González, E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de I+D en Cerdo Ibérico, INIA, 06300 Zafra (Badajoz).

<sup>2</sup> Instituto Universitario de Investigación de Recursos Agrícolas (INURA), Universidad de Extremadura.

E-mail: adrian.lopez@inia.es

### INTRODUCCIÓN

Entre las características productivas del cerdo Ibérico destacan un crecimiento más lento, comparado con la mayor parte de las razas porcinas comerciales, y una mayor tendencia al engasamiento, ésta última relacionada con una elevada calidad sensorial del producto curado (López-Bote, 1998). Esta desventaja productiva se ha tratado de evitar mediante la cría de cerdos cruzados de Ibérico con Duroc, persiguiendo con ello cierto equilibrio entre productividad y calidad final de la carne.

La Norma de Calidad del cerdo Ibérico (RD 4/2014) establece mínimos de edad al sacrificio y peso individual de la canal que, en animales de la categoría de *cebo*, corresponden a 10 meses y 115 kg, respectivamente. Puesto que los verracos Duroc utilizados para el cruce proceden en su mayor parte de compañías genéticas con fuertes programas de selección, el resultado del cruce puede alcanzar este peso mínimo en 8 meses. Una posible estrategia para cumplir con la Norma es la utilización de dietas alternativas que ralenticen el crecimiento del animal sin comprometer la calidad del producto final.

La utilización de dietas con restricción proteica puede ser una de estas estrategias (Lebret, 2008), puesto que además de su menor coste, diversos autores han observado un incremento del porcentaje en grasa intramuscular (GIM) en cerdos alimentados en las primeras fases del crecimiento con piensos de bajo contenido proteico, traduciéndose en una mejora de las propiedades sensoriales (Teye *et al.*, 2006; Wood *et al.*, 2004).

El objetivo del presente trabajo es comprobar si los piensos bajos en proteína, suministrados en fase de recría a cerdos Ibéricos de *cebo* cruzados con Duroc, afectan a determinados caracteres de la calidad final de la carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 28 cerdos (machos castrados) de cruce Duroc x Ibérico Torbiscal, divididos aleatoriamente en dos lotes con dieta de recría diferencial al alcanzar los 25 kg de peso vivo: C: dieta control (n=13) para la fase de crecimiento de cerdos Ibéricos cruzados (3.101 kcal/kg EM, 16,5% PB, 4,0% fibra y 0,83% Lys total); BP: dieta baja en proteína (n=15) de pienso isoenergético respecto al control, con menores niveles de proteína total y lisina (3.095 kcal/kg EM, 11,5% PB, 3,8% fibra y 0,60% Lys total).

Estos piensos se han suministrado *ad libitum* durante toda la recría. Se realizó un sacrificio de 5 ejemplares de cada lote al acabar la recría (90 kg de peso vivo) y el resto (8 C y 10 BP) se sacrificaron a peso comercial (160 kg, final del *cebo*), efectuando todo el *cebo* con dieta convencional (3.090 kcal/kg EM, 13,6% PB, 4,0% fibra y 0,72% Lys total).

En el momento del sacrificio se recogieron muestras de lomo (*Longissimus thoracis et lumborum*) de cada animal, siendo envasada al vacío y congelada (-20°C) una porción de unos 10-12 cm longitudinales tomada del primer tercio anterior del músculo. También se midió el pH (pH-metro Hanna HI 99163) a los 45 min en la canal (pH45) y a las 24 h del sacrificio en otra porción de lomo (pH24).

La pérdida de agua por descongelación (PD) se calculó como la diferencia de peso de la muestra antes y después del descongelado (g agua/100 g carne). La pérdida de agua por cocinado (PC) se obtuvo cocinando mediante inmersión en un baño de agua a 70°C durante 1h (Combes *et al.*, 2004) las muestras ya descongeladas y envasadas de nuevo al vacío (g agua/100 g carne) y se calcularon las pérdidas de manera análoga a las pérdidas por descongelado. Antes del cocinado se separó un pequeño filete que se dejó oxigenar en contacto con el aire durante 15 min para realizar mediciones de color en el sistema CIELab.

Se midieron los valores de luminosidad ( $L^*$ ), verde-rojo ( $a^*$ ) y azul-amarillo ( $b^*$ ), usando un colorímetro por reflectancia (Minolta CR-400, iluminante D65). Por último, las porciones cocinadas se utilizaron para análisis de resistencia al corte (medida como  $Sf$ , *shear force*, en kg) por ensayo Warner-Bratzler (texturómetro TA.XT Plus, Stable Microsystems) (Honikel, 1997). Para este ensayo se cortaron de 6 a 8 repeticiones por muestra en forma de prisma cuadrangular de  $1 \times 1 \times 3 \text{ cm}^3$ , de forma que las fibras quedaran perpendiculares a la dirección del corte.

Los datos de estos 8 parámetros (pH45, pH24, PD, PC,  $Sf$ ,  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) se procesaron utilizando el software R-Studio (v. 0.99.902). Las diferencias entre dietas y pesos fueron analizadas mediante análisis de varianza (ANOVA) utilizando el siguiente modelo de efectos fijos:

$$y = P + D + (P \times D) + e$$

Donde  $P$  es el peso del animal con dos niveles (90 y 160kg),  $D$  es la dieta del animal y consta de dos niveles (Control y Baja Proteína) y  $P \times D$  es la interacción entre ambos efectos. Los análisis fueron llevados a cabo con las funciones *lm* y *anova*, y con las librerías *dplyr*, *tidyr* y *lsmmeans* de R.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las medias estimadas de los parámetros medidos para cada serie de sacrificio y lote de alimentación, así como la significación estadística de los análisis de varianza, se presentan en la Tabla 1.

Las muestras del grupo de 160 kg tienen PC significativamente menores que las del grupo de 90 kg ( $p=0,035$ ). En el grupo de más peso se aprecia una tendencia a la baja ( $p < 0,1$ ) en la resistencia al corte, probablemente debida a este menor porcentaje observado de PC. También hay diferencias en  $a^*$  entre los animales de 90 y 160 kg (carnes más rojas a 160 kg,  $p=0,000$ ). Los valores de pH no difieren entre grupos de peso, aunque se observan diferencias sugestivas de pH45 ( $p < 0,1$ ), siendo éste menor en el grupo de 160 kg.

Respecto a las diferentes dietas, solo se han encontrado diferencias significativas en las pérdidas de agua por descongelación, que son mayores en el grupo BP que en el control ( $p=0,002$ ). Existen ligeras diferencias en el pH24 entre C y BP, no significativas pero con un valor algo superior en el grupo BP ( $p < 0,1$ ).

Sin embargo, existe interacción entre factores en el parámetro  $a^*$  ( $p=0,037$ ). Al observar los efectos de esta interacción, parece que las diferencias entre grupos de alimentación aparecen únicamente en animales de 160 kg, siendo en este caso las carnes más rojas las del grupo control. A 90 kg de peso al sacrificio no parecen existir diferencias significativas en el color rojo entre los grupos C y BP.

Estos resultados concuerdan en gran medida con estudios anteriores. Dannenberger *et al.* (2012) concluyeron que la reducción de proteína en la dieta no afecta a la resistencia al corte de la carne. Por otro lado, las pérdidas de agua y el color de la carne tienen un fuerte componente de edad, que queda patente en las diferencias existentes entre lotes de sacrificio. Otros autores señalan incrementos en la puntuación de  $a^*$  y  $b^*$  en paralelo al peso y la edad (Čandek-Potokar *et al.*, 1998; Mayoral *et al.*, 1999), así como disminución del porcentaje de pérdida por cocinado con la edad (Virgili *et al.*, 2003).

En diversos estudios se ha probado una estrecha relación entre el pH y las pérdidas de agua y color (Ruusunen *et al.*, 2007; Santos-Silva & Portugal, 2001), de tal modo que el pH se utiliza como parámetro indicador de carnes PSE (*pale, soft and exudative*) y DFD (*dark, firm and dry*). La ausencia de diferencias en los valores de pH parece concordar con la similitud en los valores medios de pérdidas de agua por cocinado y de luminosidad. Sin embargo, sí existen diferencias en las pérdidas por descongelación a pesar de la homogeneidad de pH.

Se puede concluir que la dieta baja en proteína suministrada en fase de recría a cerdos Ibéricos cruzados no afecta significativamente a la calidad general de la carne, aunque podría influir en la capacidad de retención de agua. Estos resultados parecen ir en concordancia a lo observado por Gispert *et al.* (2016), que no encontraron diferencias

significativas de aceptabilidad en un análisis sensorial de lomos cocinados procedentes de los mismos animales descritos en el presente trabajo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Čandek-Potokar, M. *et al.*, 1998. *Meat Sci.*, 48(3–4), 287–300. • Combes, S. *et al.*, 2004. *Meat Sci.*, 66(1), 91–96. • Dannenberger, D. *et al.*, 2012. *Nutrients*, 4(9), 1237–1246. • Gispert, M. *et al.*, 2016. *EEAP, Belfast (UK)*. • Honikel, K. O. 1997. *Food Chem.*, 59(4), 573–582. • Lebrete, B. 2008. *Animal*, 2(10), 1548–1558. • López-Bote, C. J. 1998. *Meat Sci.*, 49, 17–27. • Mayoral, A. I. *et al.*, 1999. *Meat Sci.*, 52(3), 315–324. • Ruusunen, M. *et al.*, 2007. *Livest. Sci.*, 107(2–3), 170–181. • Santos-Silva, J., & Portugal, A. V. 2001. *Anim. Res.*, 50(4), 289–298. • Teye, G. A. *et al.*, 2006. *Meat Sci.*, 73(1), 157–165. • Virgili, R. *et al.*, 2003. *J. Anim. Sci.*, 81(10), 2448–2456. • Wood, J. D. *et al.*, 2004. *Meat Sci.*, 67(4), 651–667.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto RTA2013-00063-C03-01. Los autores agradecen a Ibéricos Puros de Extremadura S.L. y al matadero de Jamones y Paletas del Sur S.A. (Mazafra) el apoyo prestado para el desarrollo del mismo.

**Tabla 1.** Comparación entre dietas control (C) y baja proteína (BP): Medias mínimo-cuadráticas (LSM), error estándar de la media (SEM) y valores de *p* de los ANOVAS para PD, PC, Sf, L\*, a\*, b\*, pH45 y pH24.

Variable	LSM				SEM	ANOVA		
	Peso (kg)		Dieta			Peso	Dieta	Peso:Dieta
	90	160	C	BP		<i>p-value</i>	<i>p-value</i>	Interacción
% PD	6,26	6,80	5,14	7,92	2,44	0,421	0,002	0,786
% PC	24,20	22,15	22,31	24,03	2,63	0,035	0,173	0,072
Sf (kg)	6,16	5,03	5,51	5,68	1,78	0,096	0,893	0,183
L*	44,83	44,33	44,11	45,05	2,34	0,599	0,470	0,302
a*	5,70	7,10	6,28	6,51	1,14	0,000	0,188	0,037
b*	5,52	5,95	5,56	5,91	0,75	0,132	0,200	0,805
pH45'	6,41	6,26	6,39	6,28	0,21	0,072	0,228	0,505
pH24h	5,66	5,65	5,62	5,69	0,08	0,604	0,088	0,036

### PROTEIN RESTRICTION FOR IBERIAN CROSSBRED PIGS DURING GROWING PHASE AND THEIR INFLUENCE ON MEAT QUALITY CHARACTERS

**ABSTRACT:** As a consequence of their higher growing rate, Iberian crossbred pigs are not able to fulfil the minimum slaughter age stipulated in the current Iberian Quality Standard (RD 4/2014) with an adequate carcass weight. A protein restrictive diet during the breeding phase may decrease this growth rate without compromising meat quality. Here, we study the effect of two different dietary systems given to 28 Iberian x Duroc crossbred pigs towards several meat quality characters. A control standard diet group (C) was compared with a low protein diet group (BP); both groups were divided in 2 slaughter batches (slaughter weights at 90 and 160 kg). The traits measured in Longissimus dorsi muscle for every individual were: thawing (PD) and cooking water loss (PC), shear force (Sf), luminosity (L\*), redness (a\*) and yellowness (b\*) colours, and pH. No differences were observed for Sf, L\*, b\* or pH between diet or slaughter groups, but PD was significantly higher in BP-diet group ( $p < 0.01$ ). PC was significantly influenced by the weight of the animals and an interaction effect between factors was observed for redness, showing significant differences between diet groups in the 160 kg slaughter batch. Overall meat quality seems not to be influenced by a low-protein diet.

**Keywords:** low protein; meat quality; Iberian pig; growing phase

## UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS AGRÍCOLAS EN LA DIETA DE CERDOS IBÉRICOS CRUZADOS Y SU INFLUENCIA EN CARACTERES DE CALIDAD DE LA CARNE

López-García, A.<sup>1</sup>, Fernández-Barroso, M.A.<sup>1</sup>, García-Casco, J.M.<sup>1</sup>, Caraballo, C.<sup>1</sup>, Muñoz, M.<sup>1</sup> y González, E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de I+D en Cerdo Ibérico, INIA, 06300 Zafra (Badajoz).

<sup>2</sup> Instituto Universitario de Investigación de Recursos Agrícolas (INURA), Universidad de Extremadura.

E-mail: adrian.lopez@inia.es

### INTRODUCCIÓN

Actualmente la producción ganadera es uno de los sectores agrícolas con mayor crecimiento, lo que se está traduciendo en un aumento muy importante en el consumo de materias primas para alimentación animal, sobre todo de cereales. Este incremento en la demanda tiene implicaciones ambientales que hacen que el sistema de producción actual sea poco sostenible (de Miguel *et al.*, 2015; Hendy *et al.*, 1995).

La utilización de subproductos agrícolas en alimentación animal (como alperujos de almazaras o pulpa de tomate) es una estrategia que ha sido muy estudiada como alternativa sostenible a los piensos tradicionales, dado que son materias fáciles de conseguir, de bajo coste y que normalmente carecen de uso (Joven *et al.*, 2014; Molina-Alcaide *et al.*, 2010).

Por otro lado, una dieta con restricción energética rica en fibra podría resultar beneficiosa en algunos aspectos productivos. Diversos estudios realizados en cerdo blanco han puesto de manifiesto que la incorporación de fibra a la dieta tiene un efecto positivo sobre el bienestar, la salud y el comportamiento del animal, contribuyendo a reducir la incidencia de enfermedades entéricas y las estereotipias (de Leeuw *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 2001) mientras que la calidad de la carne no se ha visto mermada (Joven *et al.*, 2014).

El objetivo de este estudio es analizar si piensos con alto contenido en fibra, suministrados en fase de recría a cerdos ibéricos cruzados de acabado en cebo, podrían influir sobre la calidad final de la carne, analizando el efecto de la dieta sobre caracteres altamente relacionados con atributos de calidad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 26 cerdos (machos castrados) de cruce Duroc x Ibérico Torbiscal, divididos aleatoriamente en dos lotes con dieta de recría diferencial al alcanzar los 25 kg de peso vivo: C: dieta control (n=13) para la fase de crecimiento de cerdos ibéricos cruzados (3.101 kcal/kg EM, 16,5% PB, 4,0% fibra y 0,83% Lys total); AF: dieta alta en fibra basada en subproductos (n=13), de pienso con el subproducto alperujo como base (45% en la fórmula) y un 10% de paja de cereal, con la misma proteína que el pienso control y un 70% de la energía (1.651 kcal/kg EM, 13,1% PB, 14,3% fibra y 0,55% Lys total). Estos piensos se han suministrado *ad libitum* durante toda la recría. Se sacrificaron 9 ejemplares (5 C y 4 AF) al acabar la recría (90 kg de peso vivo) y el resto (8 C y 9 AF) se sacrificaron a peso comercial (160 kg, final del cebo), efectuando todo el cebo con dieta convencional (3.090 kcal/kg EM, 13,6% PB, 4,0% fibra y 0,72% Lys total). En el momento del sacrificio se recogieron muestras de lomo (*Longissimus thoracis et lumborum*) de cada animal, siendo envasada al vacío y congelada (-20°C) una porción de unos 10-12 cm longitudinales tomada del primer tercio anterior del músculo. También se midió el pH (pH-metro Hanna HI 99163) a los 45 min en la canal (pH45) y a las 24 h del sacrificio en otra porción de lomo (pH24).

La pérdida de agua por descongelación (PD) se calculó como la diferencia de peso de la muestra antes y después del descongelado (g agua/100 g carne). La pérdida de agua por cocinado (PC) se obtuvo cocinando mediante inmersión en un baño de agua a 70°C durante 1h (Combes *et al.*, 2004) las muestras ya descongeladas y envasadas de nuevo al vacío (g agua/100 g carne) y se calcularon las pérdidas de manera análoga a las pérdidas por descongelado. Antes del cocinado se separó un pequeño filete que se dejó oxigenar en contacto con el aire durante 15 min para realizar mediciones de color en el sistema CIELab. Se midieron los valores de luminosidad (L\*), verde-rojo (a\*) y azul-amarillo (b\*), usando un colorímetro por reflectancia (Minolta CR-400, iluminante D65). Por último, las porciones

cocinadas se utilizaron para análisis de resistencia al corte (medida como Sf, *shear force*, en kg) por ensayo Warner-Bratzler (texturómetro TA.XT Plus, Stable Microsystems) (Honikel, 1997). Para este ensayo se cortaron de 6 a 8 repeticiones por muestra en forma de prisma cuadrangular de 1 x 1 x 3 cm<sup>3</sup>, de forma que las fibras quedaran perpendiculares a la dirección del corte.

Los datos de estos 8 parámetros (pH45, pH24, PD, PC, Sf, L\*, a\* y b\*) se procesaron utilizando el software R-Studio (v. 0.99.902). Las diferencias entre dietas y pesos fueron analizadas mediante análisis de varianza (ANOVA) utilizando el siguiente modelo de efectos fijos:

$$y=P+D+(P*D)+e$$

Donde *P* es el peso del animal con dos niveles (90 y 160kg), *D* es la dieta del animal y consta de dos niveles (Control y Alta Fibra) y *P\*D* es la interacción entre ambos efectos. Los análisis fueron llevados a cabo con las funciones *lm* y *anova*, y con las librerías *dplyr*, *tidyr* y *lsmmeans* de R.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 presenta las medias estimadas de los parámetros medidos para cada serie de sacrificio y lote de alimentación, así como la significación estadística de los ANOVA.

Entre grupos de peso de sacrificio se encontraron diferencias significativas en el color (a\* y b\*), siendo las carnes del grupo de 160 kg más rojas ( $p=0,045$ ) y más amarillas ( $p=0,038$ ), así como en pH45, menor en el grupo de 160 kg ( $p=0,013$ ). También se observaron diferencias sugestivas en los valores medios de PC y resistencia al corte (Sf) entre ambos grupos de peso, siendo ambos parámetros menores en el grupo de 160 kg ( $p < 0,1$ ). Por último, las pérdidas de agua por descongelado (PD) resultaron significativamente mayores en el grupo de 160 kg ( $p=0,003$ ). Estas variaciones en los parámetros de calidad con la edad de sacrificio ya se han reportado en otros trabajos, tanto para color de la carne (Čandek-Potokar *et al.*, 1998; Mayoral *et al.*, 1999) como para la capacidad de retención de agua, aunque en este último aspecto existen resultados dispares en función del tipo de medida utilizada. Sí concuerda con lo obtenido por Virgili *et al.* (2003) en pérdidas por cocinado.

Al comparar grupos de dieta (C y AF) se observó una mayor pérdida de agua por descongelado en el grupo AF ( $p=0,001$ ). También se observó un efecto casi significativo de la interacción ( $p=0,055$ ), por lo que los lomos de animales más viejos y alimentados con dieta AF tendrían mayores PD que animales jóvenes alimentados con dieta control. Este efecto de la dieta rica en fibra en PD no fue detectado en cerdos cruzados Duroc x (Landrace x Large White) por Joven *et al.* (2014), lo cual podría sugerir un efecto diferencial en PD debido a la raza. De este análisis se puede concluir que una dieta alta en fibra suministrada en fase de recría a cerdos ibéricos cruzados no afecta significativamente a estos caracteres de calidad de carne estudiados, aunque podría tener influencia en la capacidad de retención de agua. Sin embargo, Gispert *et al.* (2016) en un estudio sensorial de lomos cocinados procedentes de los mismos animales implicados en el presente trabajo, concluyeron que los cerdos alimentados con alta fibra tenían una menor aceptabilidad general por parte del consumidor, siendo además su terneza también significativamente menor. Por ello se pretende profundizar en los resultados obtenidos hasta ahora mediante el análisis de otros caracteres de calidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Čandek-Potokar, M. *et al.*, 1998. *Meat Sci.*, 48(3–4), 287–300. • Combes, S. *et al.*, 2004. *Meat Sci.*, 66(1), 91–96. • de Leeuw, J. A. *et al.*, 2008. *Proc. Nutr. Soc.*, 67(4), 334–442. • de Miguel, Á. *et al.*, 2015. *Ecological Indicators* (Vol. 57). • Gispert, M. *et al.*, 2016. *EEAP, Belfast (UK)*. • Hendy, C. R. C. *et al.*, 1995. • Rome: Food and Agriculture Organization (FAO). • Honikel, K. O. 1997. *Food Chem.*, 59(4), 573–582. • Joven, M. *et al.*, 2014. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 197, 185–193. • Mayoral, A. I. *et al.*, 1999. *Meat Sci.*, 52(3), 315–324. • Molina-Alcaide, E. *et al.*, 2010. *J. Dairy Sci.*, 93(5), 2076–2087. • Virgili, R. *et al.*, 2003. *J. Anim. Sci.*, 81(10), 2448–2456. • Williams, B. A., *et al.*, 2001. *Nutr. Res. Rev.*, 14(2), 207–228.



**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto RTA2013-00063-C03-01. Los autores agradecen su colaboración a Ibéricos Puros de Extremadura S.L. y al matadero de Jamones y Paletas del Sur S.A. (Mazafra).

**Tabla 1.** Comparación entre dietas control (C) y alta fibra (AF): Medias mínimo-cuadráticas (LSM), error estándar de la media (SEM) y valores de *p* de los ANOVAS para PD, PC, Sf, L\*, a\*, b\*, pH45 y pH24.

Variable	LSM				SEM	ANOVA		
	Peso		Dieta			PESO	DIETA	PESO:DIETA
	90	160	C	AF		<i>p</i>	<i>p</i>	interacción
% PD	5,12	7,36	5,14	7,34	2,53	0,003	0,001	0,055
% PC	24,62	22,40	22,31	24,71	2,91	0,080	0,090	0,090
Sf (kg)	5,67	4,59	5,51	4,76	1,68	0,093	0,106	0,185
L*	44,18	45,68	44,11	45,75	2,69	0,128	0,057	0,339
a*	5,56	6,58	6,28	5,86	1,17	0,045	0,480	0,450
b*	5,29	5,99	5,56	5,72	0,83	0,038	0,395	0,288
pH 45'	6,52	6,27	6,39	6,40	0,24	0,013	0,895	0,588
pH 24h	5,60	5,61	5,62	5,60	0,07	0,788	0,165	0,130

#### USE OF AGRO-INDUSTRIAL BY-PRODUCTS IN THE DIET OF IBERIAN CROSSBRED PIGS AND THEIR INFLUENCE ON MEAT QUALITY CHARACTERS

**ABSTRACT:** During the last years, the high growing of the livestock production sector has caused a higher demand on raw material in order to feed animals. This higher demand has environmental consequences and a more sustainable strategy is required for livestock production. Some agro-industrial by-products such as olive cake may be beneficial without a decrease in meat quality. Here, we study the effect of 2 different dietary systems given to Iberian x Duroc crossbred pigs towards several meat quality traits. A control standard diet group (C) is compared with a high-fibre olive cake-based diet group (AF). The traits measured in *Longissimus dorsi* muscle for every individual were: thawing (PD) and cooking water losses (PC), shear force (Sf), luminosity (L\*), redness (a\*) and yellowness (b\*) colours, and pH. PD, colour (a\* and b\*) and initial pH measures were higher for 160 kg group ( $p < 0.01$ ), whereas no significant differences were found for PC, Sf and L\*. In addition, no differences were observed for PC, Sf, colour or pH measures between diet groups, but PDs were found significantly higher in AF diet ( $p < 0.01$ ). Overall meat quality seems not to be influenced by inclusion of olive cake in pig's diet, but other studies have demonstrated that high fibre diets may decrease the acceptability of loins. More quality traits are being analysed to deepen in these results.

**Keywords:** olive cake; high fibre; meat quality; Iberian pig

## PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA CARNE EN CERDOS IBÉRICOS MACHOS Y HEMBRAS INMUNOCASTRADOS, ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA

Nieto, R., Palma-Granados, P., Lara, L., Fernández-Fígares, I., Haro, A., Lachica, M. y Seiquer, I.

Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Camino del Jueves, 18100, Armilla, Granada, España.

rosa.nieto@eez.csic.es

### INTRODUCCIÓN

La castración quirúrgica de los machos es una práctica ancestral en producción porcina, realizada con la finalidad de reducir el comportamiento agresivo de los animales y evitar el olor desagradable de la carne debido a las hormonas sexuales. Su empleo ha suscitado recientemente ciertas reservas, sobre todo entre los consumidores europeos cada vez más preocupados por el bienestar de los animales de producción. Una alternativa válida a la castración tradicional es la inmunocastración, en la que a través de una vacuna contra la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), se suprime la producción de hormonas sexuales en machos (Batorek et al. 2012) y el ciclo ovárico en hembras (Oliver et al., 2003), consiguiendo los mismos efectos que la castración tradicional con una mejora sustancial del bienestar animal. Además, la inmunocastración parece mejorar los parámetros productivos del animal (Dunshea et al., 2001, Millet et al., 2011). Ahora bien, los efectos sobre la calidad de la carne son controvertidos (Zamaratskaia y Rasmussen, 2015) y han sido escasamente estudiados en el cerdo Ibérico (Martinez-Macipe et al., 2016), una raza eminentemente grasa y de crecimiento lento, cuyos productos son enormemente apreciados por su calidad. El objetivo de este estudio fue analizar los efectos de la inmunocastración en indicadores de calidad de la carne (pH, color y capacidad de retención de agua) de cerdos Ibéricos machos y hembras, alimentados con dietas conteniendo tres niveles de proteína.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 54 cerdos Ibéricos puros (estirpe Silvela) distribuidos en tres grupos (n=18 cada uno): machos inmunocastrados (MI), hembras inmunocastradas (HI) y machos castrados quirúrgicamente (MC). La castración quirúrgica se realizó en la primera semana de vida. Los cerdos, proporcionados por Sánchez Romero Carvajal Jabugo, S.A., consumieron *ad libitum* una dieta comercial (170 g proteína, 1,1 g Lys y 13 MJ EM/kg dieta) hasta los 40 kg de peso (4,3 meses de edad), momento en el que los grupos MI y HI recibieron la primera dosis de la vacuna contra GnRH, IMPROVAC® (Zoetis, Madrid). Desde entonces, los animales fueron alojados en parques individuales (2m<sup>2</sup>) en salas con ambiente controlado (21±1°C) y se alimentaron con tres dietas isoenergéticas de diferente contenido proteico (160, 140 y 120 g proteína y 14 MJ EM/kg MS, n=6 por grupo) en un diseño factorial 3 × 3. El nivel de alimentación se restringió al 90% de la ingesta *ad libitum* de cerdos Ibéricos castrados quirúrgicamente, ajustando dicha ingesta semanalmente en función del peso de los animales (Nieto et al., 2012). Pasadas 7 semanas, cuando los animales tenían 6 meses de edad y 70-80 kg de peso, se les administró la segunda dosis de la vacuna. Alcanzados los 100 kg, los cerdos fueron sacrificados mediante desangrado previa electronarcosis. El ensayo se realizó en dos réplicas. Los parámetros relacionados con la calidad de la carne se obtuvieron en los músculos *Longissimus lumborum* (LL) y *Gluteus medius* (GM) de la semicanal derecha. A los 30 min *post-mortem*, se midió el pH (pH<sub>1</sub>) en ambos músculos (en LL a nivel de la primera vértebra lumbar) con un pHmetro portátil HI 99163 dotado de un electrodo de penetración (Hanna instruments, Rumanía), medidas que se repitieron tras 24h a 4°C (pH<sub>2</sub>). Además, a las 24h *post-mortem*, una vez separados los músculos de la semicanal, se obtuvieron por triplicado las coordenadas de color CIE Lab (L\*, a\*, b\*) con un colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Corp., Japón) después de 15 min de aireado a 4°C, y se calculó el índice Croma (C\*), que indica la saturación, y el ángulo hue (H\*), que indica el tono o matiz. Se tomaron muestras por duplicado del LL para determinar las pérdidas de agua por goteo, que se calcularon (en %) tras 24 y 48h a 4°C.

Para el tratamiento estadístico de los resultados las réplicas de ensayo se tuvieron en cuenta en un análisis previo, pero no ejercieron ningún efecto significativo sobre las variables estudiadas, por lo que el análisis definitivo de los datos se llevó a cabo mediante

un ANOVA de dos vías, que incluyó el grupo (MC, MI y HI) y la dieta como factores, y su interacción, seguido del test LSD para establecer diferencias significativas (al nivel del 5%). Las relaciones entre las variables se evaluaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Los cálculos se realizaron con el StatGraphics Centurion XV, versión 15.2.06, (StatPoint Inc. Warrenton, Virginia, EEUU)

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se muestran en la Tabla 1. Los valores de pH en los músculos fueron muy similares en los tres grupos, tanto a los 30 min como a las 24 h después del sacrificio, y tampoco hubo diferencias debidas a la dieta en ningún caso. Las cifras de pH son muy parecidas a las que se describen en la bibliografía, tanto en cerdos de razas magras (Lebret et al., 2006) como en cerdos Ibéricos (Martinez-Macipe et al., 2016). El pH experimentó un descenso en torno al 10-12 % en las primeras 24h *post-mortem*, sin diferencias entre los grupos.

Los músculos mostraron valores diferentes en el color instrumental, ya que la luminosidad ( $L^*$ ) y el tono ( $H^*$ ) fueron mayores en el *LL*, mientras que el *GM* mostró matices más cercanos al rojo ( $a^*$ ) y al amarillo ( $b^*$ ) y un color más intenso ( $C^*$ ). La inmunocastración provocó diferencias significativas en el color de la carne en los machos, ya que en el grupo MI se observaron valores inferiores de  $a^*$  y  $C^*$  comparando con los grupos MC y HI, que a su vez fueron similares. Además, las pérdidas de agua por goteo fueron significativamente más elevadas en los músculos del grupo MI que en los otros grupos. Es decir, los músculos de los machos inmunocastrados fueron menos rojos, de color menos intenso y con menor capacidad de retención de agua que los del resto de los animales del estudio. Otros autores, sin embargo, no han encontrado diferencias en el color de los músculos de porcino Ibérico debidas a la inmunocastración (Martinez-Macipe et al., 2016), aunque en este caso los animales eran de una variedad distinta (línea Valdesequera) y tenían una edad y peso de sacrificio superior a los de este estudio (155 kg).

El nivel de proteína de la dieta afectó a los valores de  $a^*$  y  $C^*$  de los músculos, de manera significativa en el *GM* y en forma de clara tendencia en el *LL*. Parece ser, por tanto, que la reducción de la concentración proteica de la dieta podría estar relacionada con un aumento del matiz rojo y de la intensidad del color en los músculos.

La acidificación de los músculos *post-mortem* es uno de los cambios fundamentales en relación con la calidad de la carne, y su extensión influye particularmente en el color y en la capacidad de retención de agua. En el presente estudio, se observaron relaciones significativas negativas ( $p < 0,05$ ) entre la caída de pH y la coordenada  $b^*$  en ambos músculos, y en el *LL* también con el valor de  $C^*$ . Además, la mayor pérdida de agua se relacionó con valores inferiores de pH final ( $p = 0,06$ ).

Según nuestros resultados, la inmunocastración indujo ciertos cambios en alguno de los parámetros de calidad evaluados, pero afectó de manera diferente a los machos y a las hembras. Este estudio, que forma parte de un amplio proyecto, nos dará la oportunidad de indagar en dichos cambios y en los factores implicados en ellos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Batorek, N., et al., 2012. *Animal* 6: 1330-1338. • Dunshea, F R., et al., 2001. *J. Anim. Sci.* 79: 2524-2535. • Lebret, B., et al., 2006. *J. Anim. Sci.* 84:2436-2447. • Martinez-Macipe, M., et al., 2016. *Meat Sci.* 111: 116-121. • Millet et al., 2011. *Animal* 5: 1119-1123. • Nieto et al, 2012. *J. Anim. Sci.* 90: 3809-3820. • Oliver et al., 2003. *J. Anim. Sci.* 81:1959–1966. • Zamaratskaia y Rasmussen, 2015. *Proc. Food. Sci.* 5: 324-327.

**Agradecimientos:** Financiado por el programa de la UE de Investigación e Innovación Horizonte 2020. Proyecto referencia 634476 Acrónimo: TREASURE. El contenido de este trabajo refleja sólo la opinión de sus autores. La Agencia europea no es responsable del uso que se haga de la información aquí expuesta. Nuestro agradecimiento a la empresa Sánchez Romero Carvajal Jabugo, S.A. por la provisión de animales experimentales de pura raza Ibérica.

**Tabla 1.** Parámetros de calidad en músculos de cerdos Ibéricos sacrificados a los 100 kg de peso, alimentados con dietas de distinto contenido proteico.

	Grupo <sup>1</sup>			Dieta <sup>2</sup>			ESM	valor de p <sup>3</sup>	
	MC	MI	HI	1	2	3		Grupo	Dieta
<b>LL</b>									
pH <sub>30 min</sub>	6,33	6,28	6,27	6,34	6,29	6,27	0,027	ns	ns
pH <sub>24 h</sub>	5,68	5,61	5,62	5,68	5,61	5,61	0,017	ns	ns
caída pH (%)	10,3	10,8	10,5	10,4	10,7	10,4	0,348	ns	ns
L*	43,2	44,0	43,0	43,1	44,0	43,0	0,350	ns	ns
a*	10,0 <sup>b</sup>	8,56 <sup>a</sup>	9,65 <sup>b</sup>	8,82	9,44	9,96	0,189	<0,01	0,058
b*	5,16	4,65	5,12	4,74	5,00	5,18	0,116	ns	ns
C*	11,3 <sup>b</sup>	9,75 <sup>a</sup>	10,9 <sup>b</sup>	10,0	10,7	11,2	0,212	<0,05	0,078
H*	27,2	28,5	28,0	28,3	28,0	27,5	0,355	ns	ns
CRA <sup>4</sup> 24h (%)	1,88 <sup>a</sup>	2,70 <sup>b</sup>	1,55 <sup>a</sup>	2,05	2,12	2,06	0,077	<0,001	ns
CRA 48h (%)	2,84 <sup>a</sup>	4,06 <sup>b</sup>	2,8 <sup>a</sup>	3,29	3,33	3,15	0,130	<0,001	ns
<b>GM</b>									
pH <sub>30 min</sub>	6,31	6,34	6,38	6,43	6,32	6,29	0,030	ns	ns
pH <sub>24 h</sub>	5,64	5,60	5,58	5,65	5,58	5,60	0,013	ns	ns
caída pH (%)	10,6	11,6	12,6	12,1	11,6	11,0	0,388	ns	ns
L*	40,7 <sup>ab</sup>	41,6 <sup>b</sup>	38,6 <sup>a</sup>	39,9	40,9	40,3	0,467	<0,05	ns
a*	12,7 <sup>b</sup>	10,7 <sup>a</sup>	13,6 <sup>b</sup>	11,6 <sup>a</sup>	11,6 <sup>a</sup>	13,8 <sup>b</sup>	0,348	<0,01	<0,05
b*	6,08	5,51	6,28	5,61	5,80	6,43	0,138	0,063	0,057
C*	14,1 <sup>b</sup>	12,1 <sup>a</sup>	15,1 <sup>b</sup>	12,9 <sup>a</sup>	13,0 <sup>a</sup>	15,3 <sup>b</sup>	0,352	<0,01	<0,05
H*	25,5	27,4	25,4	26,1	26,7	25,5	0,492	ns	ns

<sup>1</sup>MC, machos castrados quirúrgicamente; MI, machos inmunocastrados; HI, hembras inmunocastradas. <sup>2</sup>Dieta 1, 160g proteína bruta/kg; dieta 2, 140 proteína bruta/kg; dieta 3, 120g proteína bruta/kg. <sup>3</sup>No se observó interacción Grupo × Dieta en ningún caso. <sup>4</sup>CRA, capacidad de retención de agua, expresada como pérdidas de agua por goteo. Superíndices distintos indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

## MEAT QUALITY TRAITS IN MALE AND FEMALE IMUNOCASTRATED IBERIAN PIGS, FED DIETS WITH DIFFERENT PROTEIN LEVEL

**ABSTRACT:** Immunocastration is a useful strategy to prevent sexual development and boar taint in pigs, preserving animal welfare. Effects on pig performance have been described, but influence on meat quality has been scarcely studied, particularly in Iberian pigs. The aim of this study was to examine meat quality traits in pure Iberian pigs of 3 sexes: surgically castrated males (CM), immunocastrated males (IM) and immunocastrated females (IF) (54 pigs, n=18 of each sex). Animals were fed 3 isoenergetic diets with different protein concentration: 160, 140 and 120 g CP/kg DM (n=6/group). Pigs were vaccinated against gonadotrophin releasing factor at 4.3 (40 kg) and 6 months of age (70-80 kg). At 100 kg BW pigs were slaughtered and quality parameters in *Longissimus lumborum* (LL) and *gluteus medius* (GM) were determined. No effect of sex or dietary protein was found in pH values (30 min and 24h *postmortem*). Immunocastration affected instrumental colour and drip losses of meat in a different manner to males or females. Muscles of IM pigs had lesser a\* (redness) and C\* (saturation) values, and higher drip losses, than muscles of CM and IF, which in turn were similar. Some effects of dietary protein concentration on meat colour were also observed.

**Keywords:** Iberian pigs, immunocastration, meat quality.

## **STRESS-RELAXATION TEST COMO MÉTODO PARA MEDIR TEXTURA EN LOMO CURADO**

Fernández-Barroso, M.A.<sup>1</sup>, López-García, A., Caraballo, C., García-Casco, J. y Muñoz, M.

<sup>1</sup>Centro de I+D en Cerdo Ibérico, INIA, Crta. EX101 km 4,7. 06300, Zafra, España.

fernandez.miguel@inia.es

### **INTRODUCCIÓN**

La elevada calidad de los productos procedentes del cerdo ibérico implica un alto nivel de aceptación por parte del consumidor (Ventanas et al., 2005) y se traduce en un importante valor económico de sus piezas nobles, por lo que los caracteres de calidad de la carne deben ser tenidos en cuenta a la hora de diseñar un programa de mejora para la raza Ibérica (Silió, 2000). Durante la curación de las piezas nobles de cerdo ibérico, determinados procesos pueden producir efectos adversos dando lugar a texturas indeseables. Así por ejemplo, una excesiva proteólisis o variaciones en el tiempo de salado y cantidad de sal utilizada durante la curación, han sido asociados en diversos estudios a carnes con texturas excesivamente blandas y pastosas (Parolari et al., 1994; Arnau et al., 1998). Desde el punto de vista de la materia prima, varias investigaciones relacionan la presencia o ausencia de determinados polimorfismos con la variación de la textura en carne de cerdo Ibérico (Alves et al., 2016).

Dada la importancia de poder disponer de manera rutinaria de medidas instrumentales para un programa de mejora, el objetivo de este trabajo se ha centrado en la comprobación de la existencias de correlaciones en muestras de lomo curado (*Longissimus dorsi*) de cerdos Ibéricos de montanera entre parámetros de textura obtenidos mediante un test de compresión-relajación en texturómetro, con atributos de calidad (dureza, fibrosidad, jugosidad y veteado) medidos por un panel de catadores.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizaron determinaciones de textura instrumental y análisis sensorial en muestras de 90 lomos curados procedentes de cerdos Ibéricos puros de montanera, nacidos y cebados en la misma explotación, homogéneos en cuanto a su origen ganadero, con misma edad y manejo y sacrificados en dos lotes de producción. Todos los lomos sufrieron idéntico proceso de curación.

La prueba de textura instrumental se realizó mediante la técnica de Stress-Relaxation Test (SR Test) con texturómetro TA.TXplus (Stable micro systems, U.K.), con célula de carga de 30 kg y sonda cilíndrica P/50 de 50 mm de diámetro. Se prepararon de 4 a 8 cubos de 1,5 x 1,5 x 1,5 cm por muestra que fueron comprimidos un 25% de su altura original mediante una sola compresión, colocando la muestra con las fibras musculares en perpendicular a la dirección del movimiento vertical de la sonda. La velocidad del ensayo fue de 1 mm/s a un tiempo de relajación de 60 s, en una ligera modificación del método propuesto por Morales et al. (2007). Se midió fuerza frente a tiempo después de la compresión, a una velocidad de captura de datos de 250 puntos/s durante 60 s.

A continuación, se realizó un análisis sensorial cuantitativo-descriptivo en una sala adaptada para el análisis siguiendo indicaciones de la Norma EN ISO 8589:2010/A1:2014. El entrenamiento previo de los catadores se realizó siguiendo las directrices marcadas por la Norma EN ISO 8586:2012. Se organizaron un total de 23 sesiones, evaluándose 4 muestras por sesión. Las muestras de lomo curado se prepararon en lonchas de 2 cm de grosor, se codificaron individual y aleatoriamente mediante un código de 3 cifras obtenido con el programa RStudio (V. 0.99.902). Se sirvieron de forma individual en un plato de color blanco mate con un vaso de agua para enjuagar la boca entre muestra y muestra. En cada sesión, un panel de once catadores entrenados evaluaban los atributos de textura previamente seleccionados: dureza, fibrosidad y jugosidad, mediante una escala horizontal no estructurada de 10 cm (0 nada, 10 mucho) (Lorido et al., 2016). Además, en la misma loncha, se efectuó la medida del nivel de veteado mediante un patrón visual escalado de 0 a 9 (0 nada veteado, 9 muy veteado). Para el análisis estadístico de los resultados, las evaluaciones de los cuatro caracteres sensoriales se corrigieron previamente por la estima del efecto catador obtenida mediante un modelo lineal. A continuación se calcularon las correlaciones de Pearson entre las medias de las evaluaciones corregidas en cada lomo y

con la determinación instrumental de textura. Estos análisis se realizaron con el programa RStudio (V. 0.99.902).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 1. Las correlaciones entre los atributos medidos sensorialmente fueron elevadas y positivas entre dureza y fibrosidad ( $r = 0.71$ ), negativa entre dureza y jugosidad ( $r = -0.62$ ) y también negativa aunque menos intensa entre jugosidad y fibrosidad ( $r = -0.46$ ), dando mayor puntuación al atributo de jugosidad en las muestras menos duras. Por otro lado, la jugosidad está relacionada con el nivel de veteado ( $r = 0,62$ ), confirmando trabajos de diversos autores que mostraron esta relación entre ambos caracteres en productos Ibéricos curados (Muriel et al., 2004, Ventanas et al., 2007). La correlación del veteado es negativa pero de menor intensidad con dureza y fibrosidad.

Respecto a las correlaciones entre los atributos sensoriales y la fuerza inicial de compresión (F0) instrumental, se observó una moderada correlación con dureza ( $r = 0.67$ ) y fibrosidad ( $r = 0.56$ ). Así mismo, existe cierta correlación negativa entre F0 y jugosidad ( $r = -0.46$ ), confirmando las relaciones existentes entre las medidas sensoriales. No hay apenas correlación entre F0 y veteado.

Lo resultados obtenidos en productos curados de cerdos Ibéricos son similares a los descritos en otros estudios, donde se relacionan altos valores F0 con muestras más duras y bajos valores F0 con muestras más blandas en productos curados de razas porcinas de capa blanca (Morales et al., 2007; Gou, et al., 2008). Morales et al. (2008) también encontraron correlaciones entre F0 y dureza y fibrosidad mediante un análisis de componentes principales (PCA). Por tanto, la medida de textura instrumental SR Test podría ser un buen predictor de dureza y fibrosidad en sustitución de los valores obtenidos en un análisis sensorial, más complejo en su organización y que requiere concertar muchas sesiones que alargan en exceso la obtención de resultados.

Actualmente se están realizando estudios asociados a programas de selección en cerdos ibéricos que además de incluir en las evaluaciones genéticas los caracteres tradicionales productivos y de calidad (ganancia media diaria, porcentaje de piezas nobles sobre la canal, porcentaje de grasa intramuscular), contemplan trabajos de búsquedas de genes candidatos para otros caracteres de calidad de interés, más novedosos pero de costosa medición (textura de carne cocinada o curada, color y contenido en pigmentos, capacidad de retención de agua) (Muñoz et al., 2016). Esta búsqueda requiere el registro previo de información en un elevado número de ejemplares. Por ello, la posibilidad de medir la textura en producto curado mediante el test instrumental SR simplificaría estos trabajos e incluso permitiría su potencial inclusión en un índice de selección convencional como medida de calidad de carne y aceptabilidad por el consumidor.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, E. et al. 2016. IX Int. Sym. Med. Pig (Portalegre). • Arnau, J. et al. 1998. Jour. of Sci. Food & Agri. 77: 387–392. • Gou, P. et al. 2008. Meat Sci. 80: 1333–1339 • Lorigo L. et al. 2016. Food Chem. 196: 1310–1314. • Morales, R. et al. 2007. Meat Sci. 76: 536–542. • Morales, R. et al. 2008. Meat Sci. 80: 231–238 • Muñoz, M. et al. 2016. IX Inter. Sym. Med. Pig (Portalegre). • Muriel, E. et al. 2004. Food Sci. and Tec. Int. 10(2): 117–123. • Parolari, G. et al. 1994. Meat Sci. 38: 117–122. • Silió L. (2000). Inter. Com. for Anim. Rec. (Roma) 511–520. • Ventanas, S. et al. 2007. Meat Sci. 77: 324–330. • Ventanas, S. et al. 2005. Rec. Res. Dev. in Agri. & Food Chem. 6: 27–53.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a los empleados de la Asociación Interprofesional del Cerdo Ibérico (ASICI) por su compromiso y colaboración durante las sesiones del panel de análisis sensorial.

**Tabla 1.** Correlaciones entre valores  $F_0$  del test de compresión SR, veteado, dureza, fibrosidad, jugosidad e intervalos de confianza al 95% entre paréntesis.

	Veteado	Dureza	Fibrosidad	Jugosidad
<b>Dureza</b>	- 0.37* (-0.54/-0.17)			
<b>Fibrosidad</b>	- 0.37* (-0.54/-0.18)	0.71** (0.59/0.80)		
<b>Jugosidad</b>	0.62** (0.47/0.73)	- 0.62** (-0.73/-0.47)	- 0.46** (-0.62/-0.28)	
<b><math>F_0</math></b>	- 0.23 (-0.42/-0.02)	0.67** (0.54/0.77)	0.56** (0.40/0.69)	- 0.46** (-0.61/-0.28)

\*\*  $p$ -value <  $10^{-4}$ ; \*  $p$ -value < 0.001;

### STRESS RELAXATION TEST AS METHOD TO ASSAY TEXTURE TRAITS IN IBERIAN DRY-CURED LOIN

**ABSTRACT:** The high quality of Iberian products, the consumer acceptance and their economic value are very important factors to take into account in a breeding program. From the point of view of meat, some studies link the presence or absence of determined polymorphisms with texture variations in Iberian pork. A texture instrumental analysis using a Stress Relaxation Test (SR) and a descriptive sensory analysis in samples of dry-cured Iberian loin (*Longissimus dorsi* muscle) were performed. Initial Force ( $F_0$ ) for instrumental texture and hardness, fibrousness, juiciness and marbling for sensory analysis were measured and the correlations between these parameters were estimated. Results showed high and moderate positive correlation values between  $F_0$  and hardness and fibrousness, marbling and juiciness and a negative correlation between hardness and juiciness. The high correlations between  $F_0$  and hardness pointed out  $F_0$  can be used as a predictor of hardness in dry-cured loins. The availability of  $F_0$  measured in a high number of samples should allow performing association analyses between this new quality trait and polymorphism in candidate genes, in order to include this molecular information in future breeding programs.

**Keywords:** stress relaxation test, texture, sensory traits, dry-cured loin.

## USO DE DIFERENTES TECNOLOGÍAS DE CONGELACIÓN PARA LA CONSERVACIÓN DE CARNE FRESCA DE LOMO DE CERDO IBÉRICO

García-Torres, S.<sup>1</sup>, Pérez-Blázquez, M.<sup>1</sup>, Martín-Tornero, E.<sup>1</sup>, López-Gajardo, A.<sup>1</sup>, Cabeza de Vaca, M.<sup>1</sup>, Viguera, J.<sup>2</sup>, Martín, D.<sup>2</sup>, Serrano, J.,<sup>3</sup> Romero-Fernández, M.P.<sup>1</sup>, Osorio, C.<sup>1</sup>, Prior, E.<sup>1</sup> y Tejerina, D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CICYTEX (Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura).  
A5, km 472. 06187 Guadajira (Badajoz)

<sup>2</sup>Imasde Agroalimentaria, Calle Nápoles, 3, 28224 Pozuelo de Alarcón, Madrid

<sup>3</sup>Señorío de Montanera, Ctra Rincón de Caya, Km 3,5, 06080 Badajoz

Email: garsus15@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN

Para la industria cárnica extremeña realizar mejoras y desarrollar nuevos procesos de congelación que permitan garantizar las características de calidad de sus productos, para poder abordar de nuevos mercados, especialmente el internacional. La carne de cerdo Ibérico tiene unas características singulares que la diferencian de otras carnes. La mayor parte de los productos del cerdo Ibérico se consumen como productos cárnicos curados (Tejerina et al., 2012a), aunque la carne fresca es cada día más demandada (Cava, Estévez, Ruíz, & Morcuende, 2003). Es ampliamente conocido que las principales características diferenciadoras de la carne de cerdo Ibérico son el perfil de ácidos grasos (Daza et al., 2005; Rey et al., 2006; Tejerina et al., 2012a) y el contenido en compuestos antioxidantes (González & Tejeda, 2007; Rey et al., 2006; Tejerina et al., 2012a), elementos que dependen de los sistemas de producción recogidos en la norma de calidad y por supuesto de las diferentes campañas de Montanera (Tejerina et al., 2012b). Dadas estas características es totalmente necesario para determinar el mejor método de congelación que asegure la calidad de los productos en destino tras largos tiempos de conservación. Existen parámetros importantes a tener en cuenta como son el estado oxidativo tras el periodo de conservación, el color de la carne tras la descongelación o las pérdidas de agua que además de tener una importante influencia en la jugosidad de la carne para los consumidores, repercute en la industria directamente al contemplarse como mermas en la carne tras la descongelación. El objetivo de este trabajo es evaluar diferentes tecnologías de congelación que conserven durante un largo periodo de tiempo la calidad del lomo fresco de cerdo Ibérico muy demandado por los consumidores, manteniendo sus características diferenciadoras en el punto de venta en mercados internacionales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo de congelación se realizó con piezas de lomo fresco de cerdo Ibérico. Tras el despiece las muestras se pesaron, se envasaron al vacío y se procedió a su congelación utilizando 4 sistemas de congelación diferentes: Pulsos electromagnéticos (PE), túnel (-35°C), N<sub>2</sub> (-16°C) y N<sub>2</sub> (-40°C). Se utilizaron 10 piezas para cada tratamiento, es decir, 80 muestras de lomo (10 piezas de lomo x 4 procesos de congelación x 2 tiempos de conservación). Tras la congelación según las diferentes tecnologías, las muestras se mantuvieron a -18°C durante 3 y 6 meses. Tras este tiempo, se procedió a su descongelación durante 24 h a 2-4°C. Sobre cada una de las muestras se determinaron los siguientes parámetros de calidad: porcentaje de mermas tras la congelación por diferencias de pesada; capacidad de retención de agua (CRA) por el método descrito por Irie y Swatland (1992) y expresada como g de agua / 100g de muestra; medida del color instrumental de acuerdo con la metodología descrita por Cassens et al., (1995); determinación de la textura mediante un texturómetro TX2 en el que se realizó, un test de ruptura (Warner-Bratler) sobre prismas de carne obtenida de cada muestra y tras su cocción en baño de agua caliente a 75°C durante el tiempo necesario en cada pieza para alcanzar una temperatura interna de 65°C. Se determinó el estado oxidativo de los lípidos mediante la medida del ácido tiobarbitúrico (TBA) por el método descrito por Salih et al., (1987). Los resultados se analizaron mediante el Análisis de la Varianza (ANOVA) en SPSS 15.0



(SPSS, 2006). Para las variables en las que se observaron diferencias significativas entre tratamientos, se aplicó un test de Tukey para comparación de medias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se puede observar en la tabla 1. Los diferentes sistemas de congelación no tuvieron incidencia sobre los parámetros de color excepto en el valor del Tono ( $H^*$ ) que resulta más alto en el lomo tratado con pulsos electromagnéticos (PE). Otros parámetros importantes a tener en cuenta desde el punto de vista de la industria y del consumidor final son las pérdidas de agua. Los parámetros de CRA y pérdidas por cocinado no estuvieron influenciadas por el tipo de tratamiento de congelación del lomo mientras que las pérdidas de agua por descongelación ( $p < 0,001$ ), es decir las mermas de la pieza de lomo, sí que dependen del sistema de congelación empleado. Así, las mayores pérdidas por descongelación se asocian con aquellas muestras de lomo congeladas en el sistema de túnel y fueron los pulsos electromagnéticos los que menores pérdidas mostraron. Tras 6 meses de congelación la CRA ( $p < 0,01$ ) fue mayor que en las piezas congeladas durante 3 meses. Por otro lado, fueron las muestras congeladas durante 3 meses las que tuvieron mayores pérdidas de agua por cocinado ( $p < 0,05$ ). El sistema de congelación no afectó al grado de oxidación de lípidos pero a pesar de que las muestras estaban envasadas a vacío y congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , sufrieron oxidaciones a lo largo del tiempo. El proceso de oxidación fue mayor en aquellas muestras que estuvieron congeladas por un periodo de tiempo mayor, 6 meses ( $p < 0,01$ ). Los valores obtenidos en la determinación del grado de oxidación de lípidos son acordes con los encontrados por otros autores para cerdo Ibérico (Tejerina et al., 2012) y aunque hay diferencias en el grado de oxidación entre 3 y 6 meses de conservación, ambos valores podemos considerarlos bajos. Varios autores han estudiado los valores de malondialdehído/kg de carne que pudieran ser percibidos por los consumidores como carne con sabor a rancio. Lanari et al., 1995 determinó que valores de TBARs de 0,5 mg MDA/kg de carne de cerdo, puede ser percibida como sabor a rancio. Otros autores apuntaron valores de 0,6 a 2,0 mg MDA/ kg de carne de ternera (Greene y Cumuza, 1981) o 2,28 mg MDA/gr de carne en ternera (Campo et al., 2006). El análisis de dureza, mostró que el tipo de congelación tuvo efecto en la dureza final de la carne ( $p < 0,01$ ) independientemente del tiempo en el que estuvieron congeladas ( $p \geq 0,05$ ). Así las muestras tratadas con el sistema de túnel, las que presentaron mayores valores de resistencia al corte frente a aquellos lomos congelados por las otras tecnologías. En cualquier caso, todos los valores de resistencia al corte de las muestras de lomo congelada, están por debajo de los valores encontrados para lomo fresco de cerdo Ibérico en otros estudios (Tejerina et al., 2012c).

En conclusión, el tipo de congelación afectó a parámetros importantes como la textura y las mermas, observándose los mayores valores en las piezas congeladas en túnel mientras que el tiempo de conservación (3 o 6 meses) afectó a parámetros de pérdidas de agua y oxidación de lípidos. Desde el punto de vista industrial, los resultados indican que entre los sistemas de congelación estudiados, exceptuando el de túnel, cualquiera de los procedimientos para congelar son válidos puesto que no provocan consecuencias importantes en la calidad de la carne de lomo, por lo que la elección de la tecnología para congelar, necesitaría de la valoración de otros parámetros como el coste del proceso. Mantener la carne congelada durante 6 meses afecta mínimamente a la calidad final, se produce mayor oxidación lipídica, pero los valores obtenidos de oxidación no se consideran perceptibles por el consumidor.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cava, R., Estévez, M., Ruíz, J., & Morcuende, D. 2003. *Meat Science*, 63, 533–541. Daza, A., Rey, A. I., Ruíz, J., & Lopez-Bote, C. 2005. *Meat Science*, 69, 151–163. González, E., & Tejada, J. F. 2007. *Animal*, 1(7), 1060–1067. Irie, M., & Swatland, H. J. 1992. *Food Research International*, 25, 21–30. Rey, A. I., Daza, A., López-Carrasco, C., & López-Bote, C. J. 2006. *Meat Science*, 73, 66–74. Salih AM, Smith DM, Price JF, Dawson LE. 1987. *Poultry Sci*, 66: 1483-1489. Tejerina, D., García-Torres, S., Cabeza de Vaca, M. Vázquez, F.M., Cava, R. 2012a. *Food Chemistry* 133: 293–299. Tejerina, D., García-Torres, S., Cabeza de Vaca, M. Vázquez, F.M., Cava, R. 2012b. *Meat Science* 90 (2012) 414–419. Tejerina, D., García-Torres, S., Cava, R., 2012c. *Livestock Science* 148: 46–51

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por FEDER-ININTERCONECTA (Proyecto CONEX), ayuda a Grupo de investigación (GR15171) TRADINNOVAL. Los autores quieren agradecer la participación del personal de la empresa “Señorío de Montanera” necesaria para el desarrollo de este proyecto.

**Tabla 1.** Efecto de la tecnología de congelación y el tiempo de conservación en congelación, sobre los parámetros de color instrumental, pérdidas de agua, oxidación lipídica y textura de la carne fresca de lomo de cerdo Ibérico

	Tipo de Congelación (1)				Tiempo (meses) (2)		EEM	Significación		
	N <sub>2</sub> (-16°C)	N <sub>2</sub> (-40°C)	P.E.	TÚNEL	3	6		1	2	1 x 2
<b>Color Instrumental (CIE-Lab)</b>										
Luminosidad (L*-valor)	44,65	44,12	48,70	47,04	44,73	47,53	0,679	ns	*	ns
Índice de rojo (a*-valor)	11,46	11,29	10,84	11,38	11,18	11,30	0,243	ns	ns	ns
Índice de amarillo (b*-valor)	4,41	3,71	4,90	4,05	4,04	4,50	0,191	ns	ns	*
Tono H°	22,48ab	19,08b	26,66a	20,36b	21,02	23,27	0,992	*	ns	*
Cromo C*	12,38	11,94	12,05	12,12	11,97	12,28	0,257	ns	ns	ns
<b>Pérdidas de agua (g agua/100 g músculo)</b>										
CRA	72,20	71,12	72,07	71,74	70,47	73,09	0,444	ns	**	ns
Pérdidas descongelación	2,92bc	3,45ab	2,32	4,08a	3,10	3,28	0,162	***	ns	ns
Pérdidas cocinado	21,70	23,06	20,99	23,11	23,14	21,29	0,375	ns	*	ns
<b>Estado oxidativo (mg MDA/Kg)</b>										
Oxidación Lipídica	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,002	ns	**	ns
<b>Dureza Instrumental (Kg/cm<sup>2</sup>)</b>										
Fuerza máxima	2,82b	3,41ab	2,90b	3,73a	3,27	3,16	0,102	**	ns	ns

P.E.: Pulsos electromagnéticos; EEM: error estándar de la media.

Estadísticos descriptivos expresados como medias. Los valores con las mismas letras (a, b, c) indican subconjuntos homogéneos para  $p = 0.05$  de acuerdo a HSD de test. Tukey ns: no significativo ( $p > 0,05$ ). \*\*\*  $p \leq 0,001$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*  $p \leq 0,05$ .

### USING OF DIFFERENT FREEZING TECHNOLOGIES FOR THE CONSERVATION OF IBERIAN PORK LOIN FRESH

**ABSTRACT:** Iberian pork contains unique characteristics that differentiate it from other meats. Although the most Iberian pork products are consumed as cured meat products demanded, the consumption of fresh meat is increasing. The main of this work was to evaluate different freezing technologies lead to preserve the quality of raw loin Iberian pork for a long time maintaining their differentiating characteristics at the time of sale in international markets. Under the industrial point of view, the results indicate that, any of the studied freezing procedures are valid, except process of tunnel, because do not cause significant changes in the quality of the meat. So the choice of freezing technology, will depend on other different parameters such as the cost of the freezing process. The highest oxidation of lipids levels occur after 6 months of frozen, but the values obtained from these oxidations are not considered perceptible by the consumer.

**Keywords:** Freezing process, conservation, quality meat, Iberian pork

**CALIDAD DE LA LECHE DE VACA EN UNA MUESTRA DE EXPLOTACIONES ECOLÓGICAS Y CONVENCIONALES DE GALICIA: I.- COMPOSICIÓN FÍSICOQUÍMICA**  
Botana, A.<sup>1</sup>, González, L.<sup>1</sup>, Dagnac, T.<sup>1</sup>, Resch, C.<sup>1</sup>, Pereira-Crespo, S.<sup>2</sup>, Fernández-Lorenzo, B.<sup>1</sup>, Lorenzana, R.<sup>2</sup>, Veiga M.<sup>1</sup>, Lema, I.<sup>1</sup> y Flores-Calvete, G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Galego de Calidade Alimentaria. Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (INGACAL-CIAM), Apdo. 10, 15080 A Coruña (España); <sup>2</sup>Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite (LIGAL). Mabegondo, 15318 Abegondo, A Coruña (España).  
adrian.botana.fernandez@xunta.es

### **INTRODUCCIÓN**

En Galicia coexisten diversos modelos de producción de leche de vaca, siendo predominante en las explotaciones de mayor tamaño el basado en el uso intensivo de concentrados de maíz y de hierba. Los sistemas que sustentan la alimentación del ganado en el consumo de pastos frescos durante el periodo de crecimiento activo de la hierba son más frecuentes en las explotaciones de menor dimensión, pudiendo encontrarse también en este segmento algunas granjas especializadas de mayor tamaño con suficiente base territorial. Todas estas explotaciones combinan el pastoreo en primavera y otoño con el uso de ensilados de hierba y en menor medida de maíz en verano e invierno y una parte minoritaria de las mismas sigue un modelo de producción ecológica. La elevada demanda de este tipo de leche, unido al diferencial de precio que pueden obtener los productores, ha motivado que el número de granjas de leche cuya producción está certificada por el Consejo Regulador de Agricultura Ecológica de Galicia (CRAEGA) o está en proceso de conversión al sistema ecológico se haya prácticamente doblado en el último año, no siendo ajeno a este hecho la crisis de precios que atraviesa el sector lácteo convencional (Xunta de Galicia, 2017). Hasta el momento, no existe información acerca de la calidad de la leche producida en explotaciones ecológicas y convencionales gallegas en situaciones de alimentación comparables. Con este propósito se abordó un estudio que analiza la composición de la leche de tanque en una muestra de explotaciones ecológicas y de explotaciones convencionales que basan la alimentación del ganado en las praderas, incluyendo dos situaciones de alimentación caracterizadas por el tipo de forraje predominante en la ración: pasto fresco (primavera-verano) o ensilados de hierba (resto del año). Se presenta en este trabajo la primera parte del estudio, que compara las características medias de la dietas y de la producción de leche de las explotaciones y la composición fisicoquímica de la leche en dicha muestra.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizó la información procedente de 38 explotaciones lecheras gallegas, que fueron seleccionadas en base a la característica común de utilizar la hierba de praderas y prados como base forrajera principal en la dieta del ganado vacuno lechero, en pastoreo y/o ensilado a lo largo del año. De las 38 explotaciones, 5 seguían un sistema de producción ecológico (ECO) y las 33 restantes un sistema de producción convencional (CON). Las explotaciones fueron visitadas en 5 ocasiones entre los meses de octubre de 2013 y septiembre de 2014. Durante la visita se cubrió un cuestionario en el que se incluía información detallada acerca de la composición de la dieta consumida por las vacas en lactación y se tomaron muestras de los alimentos que componían la ración y de la leche de tanque siguiendo el protocolo establecido por el Laboratorio Interprofesional Gallego de Análisis de la Leche (LIGAL). La composición de la dieta se expresó en forma de porcentaje de cada ingrediente (hierba fresca, ensilado de hierba, ensilado de maíz, forraje seco y concentrado) sobre la MS total consumida por las vacas, estimada por la expresión  $IMS = 0.372 \times PL4MG + 12$ , adaptada del NRC (2001), donde IMS son los kg de MS consumidos por vaca y día y PL4MG es la producción diaria de leche corregida al 4% de grasa expresada en kg por vaca. Las muestras de leche se analizaron en el LIGAL para su contenido en grasa, proteína, lactosa, extracto seco magro y urea determinándose también el punto crioscópico mediante los análisis de rutina FTMIR empleando un MiikoScan™ FT6000 (Foss Electric A/S, Hillerød, Denmark). Se obtuvieron un total de 190 observaciones con datos de composición de la ración y de la leche del tanque. Sobre los datos obtenidos de la composición de la ración se realizó un análisis de agrupamiento (PROC CLUSTER), paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2009), del cual se descartaron 72 observaciones de

explotaciones convencionales con alta presencia de ensilado de maíz. Se mantuvieron para el posterior análisis un total de 118 observaciones, de las cuales 20 eran de explotaciones ecológicas y 98 de convencionales, distinguiéndose dos conjuntos en función del forraje predominante en la ración, hierba verde (FV) o ensilado de hierba (SH). Para evaluar el efecto del sistema de producción y del tipo de dieta sobre la composición de la leche se realizó un análisis de varianza utilizando el modelo  $y = \mu + S + D + SxD + \varepsilon$  donde S= sistema de producción (ECO vs. CON) y D= tipo de dieta (FV vs. SH) mediante el procedimiento GLM de SAS, considerando D y S factores fijos.

**Tabla 1.** Efecto del sistema de producción, dieta ingerida e interacción del sistema y la dieta sobre la ingesta de MS y la composición media de la dieta.

	SISTEMA			DIETA			SxD
	ECO	CON	p	FV	SH	p	p
n	20	98		33	85		
IMS (kg vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup> )	21,1	22,3	*	21,2	22,4	*	NS
<b>Composición de la ración (% MSI)</b>							
Hierba fresca	33,6	16,8	*	48,2	8,6	***	NS
Ensilado de hierba	31,8	32,9	NS	13,7	40,1	***	NS
Ensilado de maíz	8,6	8,6	NS	8,8	8,6	NS	NS
Forraje seco	8,0	7,3	NS	6,6	7,7	NS	NS
Concentrado	18,0	34,4	***	22,8	35,0	***	NS

n: n° de observaciones; ECO: Ecológico; CON: Convencional; FV: Forraje verde; SH: Ensilado de hierba; SxD: Interacción sistema x dieta; IMS: Ingestión de materia seca; p: significación del test F en el ANOVA; NS: no significativo; \*\*: p<0,01; \*\*\*: p<0,001

**Tabla 2.** Efecto del sistema de producción, dieta ingerida e interacción del sistema y la dieta sobre la producción y la composición fisicoquímica de la leche de tanque.

	SISTEMA			DIETA			SxD
	ECO	CON	p	FV	SH	p	p
n	20	98		33	85		
Producción de leche (4%MG)	24,4	27,6	*	24,9	27,9	*	NS
<b>Composición FSQ de la leche (%)</b>							
Materia grasa	3,8	3,8	NS	3,9	3,8	NS	NS
Materia proteica	3,2	3,2	NS	3,2	3,2	NS	NS
Lactosa	4,7	4,7	NS	4,7	4,7	NS	NS
Extracto seco magro	8,6	8,7	NS	8,7	8,7	NS	NS
Urea (mg L <sup>-1</sup> )	186,3	211,4	NS	190,5	213,6	+	NS
Punto crioscópico (°C)	-0,518	-0,522	***	-0,521	-0,522	NS	*

n: n° de observaciones; ECO: Ecológico; CON: Convencional; FV: Forraje verde; SH: Ensilado de hierba; SxD: Interacción sistema x dieta; Producción de leche: Producción de leche corregida al 4%MG; FSQ: Fisicoquímica; p: significación del test F en el ANOVA; NS: no significativo; +: p<0,10; \*: p<0,05; \*\*\*: p<0,001

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados de ingesta de MS (IMS) y la composición media de la ración. La IMS fue significativamente inferior para las vacas del sistema ECO vs. CON (-1,2 kg vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>). La hierba fresca es el alimento principal en las dietas ECO donde su

aporte a la IMS total duplica a la de este mismo alimento en el sistema CON (33,6 vs. 16,8 % IMS). En este sistema el ingrediente principal es el concentrado cuyo valor medio (34,4 % IMS) prácticamente duplica al de las dietas ECO (18,0 % IMS). Los restantes ingredientes no presentan diferencias significativas, superando el ensilado de hierba el 30 % IMS en los dos sistemas, mientras el ensilado de maíz y el forraje seco tienen una contribución muy reducida e inferior al 10 %. Como es lógico, los forrajes mayoritarios en las dietas FV y SH son, respectivamente, la hierba fresca y el ensilado de hierba (48,2 y 40,1 % IMS). La inclusión de concentrado en la ración SH (35 % IMS) fue significativamente superior a la de FV (22,8 % IMS), reflejando en parte el mayor valor nutricional del pasto fresco. La proporción de ingredientes en las dietas FV y SH es independiente del sistema de producción como se evidencia de la no significación de la interacción entre ambos factores. Como se observa en la Tabla 2, la producción diaria de leche por vaca fue significativamente superior en el sistema CON comparado con ECO (27,6 vs. 24,4 kg) y en la dieta SH comparada con FV (27,9 vs. 24,9 kg). El consumo de concentrado por litro de leche producida en el sistema CON (0,278 kg), prácticamente duplica al del sistema ECO (0,156 kg). La composición de la leche no presenta diferencias significativas para ningún parámetro, excepto en el punto crioscópico, claramente más elevado en el sistema ECO (-0,518 vs. -0,522°C), lo que se relaciona con raciones con un alto ratio en forraje:concentrado (Demott *et al.*, 1969). El consumo de concentrado por litro de leche en la dieta FV (0,194 kg) es un 31% inferior al de SH (0,281 kg) mientras que la producción media diaria de leche por vaca en la primera dieta (24,9 kg) es un 11% inferior al de la segunda (24,9 kg). La composición de la leche es similar en las dos dietas, diferenciándose únicamente en el nivel de urea, que muestra una tendencia a ser superior en dietas SH (213,6 vs. 190,5 mg L<sup>-1</sup>). La interacción del sistema de producción con el tipo de dieta presenta diferencias significativas en el punto crioscópico, con una media muy alta (-0,516°C) para el tipo de dieta FV del sistema ECO en consonancia con el alto ratio forraje:concentrado (87:13) de este grupo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Demott, B.J., Hinton, S.A. & Montgomery, M.J. 1969. Influence of Some Management Practices and Season Upon Freezing Point of Milk. *J. Dairy Sci.* 50: 151-154.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Washington, DC: National Academy Press.
- SAS INSTITUTE 2009. SAS/Stat User's Guide, v.9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Xunta de Galicia. 2017. <http://www.xunta.gal/notas-de-prensa/-/nova/3156/crece-vacun-leite-ecoloxico-con-79-granxas-certificadas-ultimo-ano>

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por los proyectos RTA2012-00065-05-02 y FEADER 2016/59B. Adrián Botana Fernández es beneficiario de un contrato predoctoral FPI-INIA.

#### COWS' MILK QUALITY IN A SAMPLE OF ORGANIC AND CONVENTIONAL FARMS IN GALICIA: I.- MILK CHEMICAL COMPOSITION

**ABSTRACT:** A comparison between tank cows' milk composition in a sample of organic and conventional farms which based their feeding regime in fresh and ensiled herbage is presented in this paper. Data were obtained from a study in which 38 Galician dairy farms (5 organic and 33 conventional) were visited 5 times between October 2013 and September 2014. In each visit, data of the ingredients in the lactating cows' ration was recorded and samples were taken of feed ingredients and bulk tank milk. Diet composition was expressed in terms of the dry matter percentage of each ingredient in the ration's total dry matter. A total of 118 observations were selected after a cluster analysis, based on fresh herbage or herbage silage being the predominant forage in the ration. Compared with conventional farms, organic ones used more fresh forage, less concentrate and daily milk production per cow was lower. No differences were found in milk composition between both systems, except for freezing point, significantly higher in organic farms feeding high-fresh forage diets.

**Keywords:** dairy cows, milk composition, organic production.

**CALIDAD DE LA LECHE DE VACA EN UNA MUESTRA DE EXPLOTACIONES ECOLÓGICAS Y CONVENCIONALES DE GALICIA: II.- PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS**  
Botana, A.<sup>1</sup>, González, L.<sup>1</sup>, Dagnac, T.<sup>1</sup>, Resch, C.<sup>1</sup>, Pereira-Crespo, S.<sup>2</sup>, Fernández-Lorenzo, B.<sup>1</sup>, Lorenzana, R.<sup>2</sup>, Veiga M.<sup>1</sup>, Lema, I.<sup>1</sup> y Flores-Calvete, G.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Instituto Galego de Calidade Alimentaria. Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (INGACAL-CIAM), Apdo. 10, 15080 A Coruña (España); <sup>2</sup>Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite (LIGAL). Mabegondo, 15318 Abegondo, A Coruña (España).  
adrian.botana.fernandez@xunta.es

## INTRODUCCIÓN

Existen evidencias científicas acerca de que el consumo de lácteos ejerce una influencia positiva a largo plazo sobre la salud humana (Bauman y Lock, 2015) por lo que en la actualidad existe un renovado interés acerca del estudio de las relaciones entre la dieta y la composición de la leche. La fracción insaturada de los ácidos grasos (AG) es de interés por su potencial efecto positivo en la salud humana, al integrar, entre otros compuestos, AG considerados esenciales de las series omega-6 y omega-3 (Elwood, 2009). Numerosos autores han referido la fuerte influencia de la alimentación del ganado vacuno sobre la composición de la grasa de la leche y la relación positiva entre el consumo de forrajes frescos y la presencia de AG mono y poliinsaturados en la leche que son beneficiosos desde el punto de vista de la salud humana (Wyss y Collomb, 2010). La producción ecológica de leche de vacuno es vista por un cierto sector de los productores de Galicia, como una alternativa real a la situación de bajos precios de la leche que sufren en los últimos años las explotaciones que siguen un sistema convencional. Según Butler *et al.* (2011), los productos lácteos producidos en sistemas de producción ecológicos contienen cantidades mayores de AG beneficiosos para la salud humana que los producidos en sistemas convencionales, lo que se relaciona fundamentalmente con el tipo de alimentación seguido en cada tipo de sistema. En la actualidad no hay información suficiente acerca de la composición de AG de la leche de vaca producida en sistemas ecológicos y convencionales con sistemas de alimentación comparables.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la composición de ácidos grasos de la leche de tanque en una muestra de explotaciones ecológicas y de explotaciones convencionales que basan la alimentación del ganado en la hierba fresca o ensilada, en dos situaciones de alimentación caracterizadas por el tipo de forraje predominante en la ración: pasto fresco (primavera-verano) o ensilados de hierba (resto del año).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó la información procedente de 38 explotaciones lecheras gallegas, 5 de ellas ecológicas (ECO) y las 33 restantes en un sistema de producción convencional (CON). Fueron visitadas en 5 ocasiones entre los meses de octubre de 2013 y septiembre de 2014. Se obtuvieron datos de la composición de la dieta consumida por las vacas en lactación y se tomaron muestras de los alimentos que componían la ración y de la leche de tanque siguiendo el protocolo establecido por el Laboratorio Interprofesional Gallego de Análisis de la Leche (LIGAL). La grasa de la leche se extrajo siguiendo los estándares ISO 14156/2001 IDF 172 para la extracción de grasa y la metilación de los ésteres de AG se realizó según la norma ISO 15884/IDF 182. Posteriormente se determinó la composición de AG por cromatografía de gases (GC-FID) utilizando una columna capilar BPX70.

Se obtuvieron un total de 190 observaciones con datos de composición de la ración y de la leche del tanque. Tras un análisis de agrupamiento, se descartaron 72 observaciones de explotaciones convencionales con alta presencia de ensilado de maíz. Se mantuvieron para el posterior análisis un total de 118 observaciones, de las cuales 20 eran de explotaciones ecológicas y 98 de convencionales, distinguiéndose dos conjuntos en función del forraje predominante en la ración, hierba verde (FV) o ensilado de hierba (SH). Para evaluar el efecto del sistema de producción y del tipo de dieta sobre la composición en AG de la leche se realizó un análisis de varianza utilizando el modelo  $y = \mu + S + D + S \times D + \varepsilon$  donde S= sistema de producción (ECO vs. CON) y D= tipo de dieta (FV vs. SH) mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 2009), considerando D y S factores fijos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los valores medios más relevantes de la composición de los AG de la leche de tanque. Existen diferencias significativas en los grupos principales de AG, expresados como proporción sobre el total de AG (AGT), presentando la leche ECO un nivel mayor de AG saturados (69,92 vs. 67,79 % AGT) y menor de AG monoinsaturados (25,19 vs. 27,46 % AGT) comparada con la del sistema CON. La proporción de AG poliinsaturados no difiere entre los dos sistemas, pero si la distribución de sus principales componentes, ya que la proporción de ácido linoleico (LA, cabeza de la serie omega-6) en el sistema CON es un 17 % superior a lo observado en ECO (valores medios de 2,02 vs. 1,73 % AGT, respectivamente), mientras que, inversamente, la concentración de ácido alfa linoléico (ALA, cabeza de la serie omega-3) fue un 47% mayor en el sistema ECO (0,75 % AGT) comparado con el CON (0,51 % AGT). La relación omega 6/omega 3 es baja en los dos sistemas, aunque significativamente inferior en el ecológico (2,20 vs. 3,43). A este respecto, las recomendaciones dietéticas actuales indican que la relación entre los AG de las series omega-6 y omega-3 en la dieta de los países occidentales es demasiado alta, multiplicando por un factor de tres o superior el valor recomendado de 5 en una alimentación saludable (Haug *et al.*, 2007), para lo cual la leche de vacuno es uno de los alimentos no marinos con una relación más favorable y por lo tanto más útil con tal propósito. No se observaron diferencias significativas en la proporción de CLA (isómero *c9t11* del ácido linoleico conjugado), ni en la de su precursor, el ácido vaccénico (TVA), aunque se puede apreciar que en las dietas ECO son numéricamente superiores. Como es sabido, la leche junto con la carne de rumiantes, es la principal fuente de CLA *c9t11* en la dieta humana (Chilliard *et al.*, 2001), considerado beneficioso para la salud por su potencial efecto antiaterogénico, anticarcinogénico y anticolesterolémico, entre otros (Williams, 2000). Por otra parte, el TVA (C18:1*t11*) pertenece al grupo de los AG *trans* del ácido oleico, presentes en las grasas hidrogenadas, aunque con un perfil muy diferente al que tienen en la leche, siendo los isómeros mayoritarios en las dichas grasas el C18:1*t9* y C18:1*t10*, que se consideran perjudiciales para la salud humana (Krettek *et al.*, 2008), por lo que una alta relación C18:1*t11*/C18:1*t10* resulta más saludable. En este sentido, la relación *t11/t10* C18:1 es claramente más favorable en la leche del sistema ECO (8,24 vs. 4,33). Globalmente, los resultados anteriores corroboran las observaciones de los autores, entre los que se encuentran Ellis *et al.* (2006), que indican que la leche de vacas de explotaciones ecológicas muestra un perfil más favorable desde el punto de vista de la salud humana.

La influencia del tipo de dieta en el perfil de AG es comparativamente mucho menor que la observada para el sistema de producción. No se observan diferencias significativas para los grupos mayoritarios de AG entre la leche de las dietas FV y SH, si bien la leche de FV presenta una tendencia a una menor proporción de LA y mayor de ALA, comparada con SH, lo que se atribuye a una menor proporción de pastos frescos en este caso. El menor valor de la relación omega 6/omega 3 en FV comparada con SH, junto con un ratio superior de la relación *t11/t10* C18:1 (2,61 vs. 3,46 y 6,41 vs. 4,44 respectivamente) reafirman, en la línea apuntada por otros autores (por ejemplo Elgersma *et al.*, 2006) un mejor perfil de AG de la leche de vacas que se alimentan con dietas donde la hierba fresca es una parte importante de la ración.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bauman, D. & Lock, A. 2015. Milk Fat and Human Health. Opportunities and Challenges. 2nd Joint Meeting ASAS-AAPA.
- Butler, G., Stergiadis, S., Seal, C., Eyre, M. & Leifert, C. 2011. Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. *J. Dairy Sci.* 94: 24-36.
- Chilliard, Y., Ferlay, A. & Doreau, M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Prod. Sci.* 70: 31-48.
- Elgersma, A., Wever, A.C. & Nalecz-Tarwacka, T. 2006. Grazing versus indoor feeding: effects on milk quality. *Grassl. Sci. Eur.* 11: 419-427.
- Ellis, K.A., Innocent, D., Grove-White, D., Cripps, P. & McLean, W.G. 2006. Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Sci.* 89: 1938-1950.
- Elwood, P. 2009. How does eating dairy products impact health in the long run?. International Conference on Saturated Fat. Copenhagen, Dinamarca: European Dairy Association.
- Haug, A., Høstmark, A.T. & Harstad, O.M. 2007. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids Health Dis.* 6: 1-6.

• Internacional ISO 14156:2001/IDF 172. Milk and milk products – Extraction methods for lipids and liposoluble compounds. • Internacional ISO 15884:2002/IDF 182 Milk fat – Preparation of fatty acid methyl esters. • Krettek, A., Thorpenberg, S. & Bondjers, G. 2008. Trans fatty acids and health: a review of health hazards and existing legislation. Bruselas, Bélgica: Policy department economic and scientific policy. European Parliament. • SAS INSTITUTE 2009. SAS/Stat User's Guide, v.9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. • Williams, C.M. 2000. Dietary fatty acids and human health. Ann. Zootech. 49: 165-180. • Wyss, U. & Collomb, M. 2010. Fatty acid composition of different grassland species. Grassland Sci. Eur. 15: 631-633.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por los proyectos RTA2012-00065-05-02 y FEADER 2016/59B. Adrián Botana Fernández es beneficiario de un contrato predoctoral FPI-INIA.

**Tabla 1.** Efecto del sistema de producción, dieta ingerida e interacción del sistema y la dieta sobre el perfil de AG de la leche de tanque.

(% sobre AG totales)	SISTEMA			DIETA			SxD
	ECO	CON	p	FV	SH	p	p
n	20	98		33	85		
AGS	69,92	67,79	**	68,47	68,03	NS	NS
AGMI	25,19	27,46	***	26,77	27,20	NS	NS
AGPI	4,15	4,06	NS	4,06	4,08	NS	NS
LA	1,73	2,02	*	1,78	2,05	+	NS
ALA	0,75	0,51	***	0,63	0,52	+	NS
TVA	1,71	1,39	NS	1,63	1,38	NS	NS
CLA	0,93	0,80	NS	0,89	0,80	NS	NS
Omega 6/omega 3	2,20	3,43	***	2,61	3,46	*	NS
C18:1t11/C18:1t10	8,24	4,33	***	6,41	4,44	*	NS

n: nº de observaciones; ECO: Ecológico; CON: Convencional; FV: Forraje verde; SH: Ensilado de hierba; SxD: Interacción sistema x dieta; AGS: AG Saturados; AGMI: AG Monoinsaturados; AGPI: AG Poliinsaturados; LA: C18:2n6 (linoleico); ALA: C18:3n3 (alfa linolénico); TVA: C18:1t11 (vaccénico); CLA: C18:2 c9t11 (linoleico conjugado); Omega 6/Omega3: relación entre el total de AG de las series omega-6 y omega-3; C18:1t11/C18:1t10: relación entre el C18:1t11 y C18:1t10; p: significación del test F en el ANOVA; ns: no significativo; +: p<0,10; \*: p<0,05; \*\*: p<0,01; \*\*\*: p<0,001

#### COWS' MILK QUALITY IN A SAMPLE OF ORGANIC AND CONVENTIONAL FARMS IN GALICIA: II.- MILK FATTY ACIDS PROFILE

**ABSTRACT:** The aim of this study was to evaluate the fatty acid (FA) profile in bulk tank cows' milk in a sample of organic and conventional farms which based their feeding regime in fresh and ensiled herbage. Data were obtained from a study in which 38 Galician dairy farms (5 organic and 33 conventional) were visited 5 times in a year, recording diet composition and sampling feed ingredients and tank milk in each visit. A total of 118 observations were selected after a cluster analysis, based on fresh herbage or herbage silage being the predominant forage in the ration. Organic milk compared with conventional milk, showed a better FA profile, from the human health point of view. Milk FA from fresh pasture based diets showed a healthier profile compared with herbage silage based diets.

**Keywords:** dairy cows, fat composition, fresh pasture, grass silage.



## **RELACIÓN ENTRE MANEJO DE LA BASE TERRITORIAL, MODELOS DE DIETA Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE**

Villar, A.<sup>1</sup>, Doltra, J.<sup>1</sup>, Moros, R.<sup>1</sup>, Salcedo, G.<sup>2</sup>, Vázquez, I.<sup>1</sup> y Busqué J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria  
anavillar@cifacantabria.org <sup>2</sup>Dpto. de Calidad e Innovación. CIFP “La Granja”, 39792 Heras, Cantabria

### **INTRODUCCIÓN**

Las comunidades de la Cornisa Cantábrica comparten un clima similar caracterizado por su alta pluviometría y temperaturas suaves, lo que posibilita en gran parte de estas regiones la existencia de pastos gran parte del año. Actualmente coexisten una gran diversidad de sistemas de producción de leche, desde sistemas intensivos a sistemas de producción extensivos con mayor base territorial por animal y donde la alimentación del ganado está basada fundamentalmente en el pasto. Varios de los centros de investigación agraria de la cornisa cantábrica trabajamos coordinadamente en proyectos cuyo objetivo es poner en valor ante la industria y los consumidores la leche obtenida de vacas alimentadas con pasto, y forrajes obtenidos de estos pastos, frente a otro tipo de sistemas de producción. Para poder estimar la capacidad de producción de esa leche diferenciada producida en base a pastos es necesario conocer cómo se maneja el territorio, cómo se traduce ese manejo en las dietas de las vacas en lactación y su relación con el perfil de ácidos grasos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Encuesta inicial.- Entre octubre del 2013 y marzo de 2014, se llevó a cabo una encuesta en 40 explotaciones de leche de Cantabria, seleccionadas mediante muestreo aleatorio estratificado en función de la cuota lechera. Entre las preguntas incluidas en el formulario se incluyeron cuestiones sobre el manejo y el aprovechamiento de la base territorial y la alimentación de las vacas en lactación por estación del año.

Muestreo estacional y analítica.- Así mismo, de entre las 40 ganaderías encuestadas se seleccionaron 12 en las que se llevó a cabo un muestreo estacional, entre mayo de 2014 y marzo de 2015. Cada día de muestreo se tomaba una muestra de leche de tanque y se recogía información sobre la producción de leche y la ración suministrada a las vacas en lactación. La extracción de la grasa y la determinación del perfil de ácidos grasos de la leche fueron llevadas a cabo en el LIGAL (Laboratorio Interprofesional Lechero de Galicia).

Análisis estadístico.- La tipificación de las dietas se llevó a cabo mediante un análisis cluster de conglomerados jerárquicos usando el paquete estadístico SPSS v17.0. Al tratarse, la práctica totalidad de las variables incluidas en el análisis de clusterización, de porcentajes (porcentaje de materia seca de cada componente en la ración) se aplicó la transformación de Hellinger. Finalmente, con el objeto de completar la caracterización de cada tipo de dieta, se realizaron pruebas paramétricas (ANOVA), no paramétricas (Kruskal-Wallis) y pruebas *post hoc*, considerando como variables respuesta las variables que definían las raciones suministradas a las vacas.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El análisis cluster dio como resultado la agrupación de las 156 dietas en 3 modelos (Tabla 1): Tipo 1. “Forraje verde”, incluye 50 dietas en las que el 50% de la MS de la ración está compuesta por forraje verde. Tipo 2. “Dieta a base de ensilado de hierba y forrajes secos”, incluye 55 dietas, sin silo de maíz, en las que casi el 50% de la MS de la ración está compuesta a partes iguales por silo de hierba y forrajes secos. Tipo 3.

“Dieta a base de ensilado de maíz y ensilado de hierba”, incluye 51 dietas en las que el 40% de la MS de la ración está compuesta por ensilado (maíz (21,6%) + hierba (19,9%)).

**Tabla 1.** Descripción de los 3 modelos de dieta, salidos del análisis de agrupamiento, en función de las raciones suministradas a las vacas en lactación (% de MS) a lo largo del año (4 dietas) en las 40 explotaciones encuestadas

% MS de cada componente de la dieta	MODELO DE DIETA			Total dietas <sup>(4)</sup>
	1 FV	2 SH/FS	3 SM/SH	
Nº observaciones	50	55	51	156
% MS forraje verde <sup>(1)</sup>	50,30 a	7,28 b	0,67 c	18,91
% MS silo de hierba	6,24 c	22,93 a	19,94 b	16,60
% MS silo de maíz	4,96 b	0,00 c	21,62 a	8,66
% MS forraje seco <sup>(2)</sup>	0,94 c	24,00 a	13,82 b	13,28
% MS pienso <sup>(3)</sup>	37,56 b	45,79 a	43,95 a	42,55

FV=Forraje verde. SH=Silo de hierba. FS=Forraje seco. SM= Silo de maíz

<sup>(1)</sup> Consumido en pastoreo o en pesebre. <sup>(2)</sup> Incluye el heno, la alfalfa y otros forrajes deshidratados. <sup>(3)</sup> Incluye concentrados, harinas y todas aquellas materias primas con >87% MS. <sup>(4)</sup> Se eliminaron los datos de una de las explotaciones.

Respecto a la relación entre modelos de manejo del territorio y las raciones suministradas a las vacas se pudo observar que el 96% de las dietas del tipo 1 (forraje verde) corresponden a dietas de primavera, verano y otoño, y están asociadas en un 46% al modelo de pastoreo y en un 30% al modelo de manejo dirigido a corte para verde y ensilado de hierba. El 63,7% de las dietas del tipo 2, raciones a base de ensilado de hierba y forrajes secos, corresponde a dietas de otoño e invierno, asociadas tanto al modelo de manejo dirigido a la producción de forrajes conservados como al modelo asociado al pastoreo. Casi el 80% de las dietas tipo 3 (“Dieta a base de ensilado de maíz y ensilado de hierba”) están asociadas al modelo de manejo donde el cultivo de maíz representa más del 20% de la SAU, sin diferencias estacionales.

**Tabla 2.** Porcentaje de los distintos tipos de dieta encontrados por modelo de manejo del territorio

MODELO DE MANEJO DEL TERRITORIO <sup>(1)</sup>	MODELO DE DIETA		
	1 FV	2 SH/FS	3 SH/SM
	% dietas por modelo		
1. Pastoreo	46,0	56,4	3,9
2. Corte en verde + producción de silo de hierba	30,0	7,3	2,0
3. Prod. forrajes conservados: heno y silo de hierba	2,0	34,5	15,7
4. Cultivo de maíz (>20% de la SAU)	22,0	1,8	78,4

FV=Forraje verde. SH=Silo de hierba. FS=Forraje seco. SM= Silo de maíz

<sup>(1)</sup> Modelos obtenidos tras aplicación de ACP y clusterización a los datos de la encuesta.

En la tabla 3 se presentan los resultados del análisis de ácidos grasos llevado a cabo en las muestras de leche tomadas en las 12 explotaciones, recogidas durante un año, en una visita por explotación y por estación. En dicha tabla se puede observar que la dieta 1, donde el principal componente de la ración es el forraje verde presenta mayor contenido medio en isómeros CLA, un 27% más que la dieta 2 y un 66% más que la dieta con maíz. Las dietas 1 y 2, a base de forrajes obtenidos a partir del pasto, frente a la dieta 3, con mayor peso del ensilado de maíz, tienen mayor contenido medio en

omega 3 y en ácido vacénico, mayor relación del isómero *trans* 11 respecto al *trans* 10 del C18:1, y menor contenido en ácido palmítico, ácido graso hipercolesterolémico; todo lo cual se considera asociado a un perfil lipídico más cardiosaludable.

**Tabla 3.** Perfil de ácidos grasos de la leche en función de los modelos de dieta, datos muestreo estacional de 12 ganaderías.

Principales ácidos grasos analizados (g 100g <sup>-1</sup> )	MODELO DE DIETA			Total dietas
	1 FV	2 SH/FS	3 SM/SH	
Nº observaciones	22	13	13	48
Total saturados	67,16 a	67,46 a	68,90 a	67,71
Total monoinsaturados	28,18 a	27,68 a	26,81 a	27,67
Total poliinsaturados	3,93 a	4,17 a	3,67 a	3,92
Relación n6/n3	4,15 b	4,65 ab	5,10 a	4,55
Total isómeros CLA	0,88 a	0,69 b	0,53 c	0,74
Relación <i>trans</i> 11/ <i>trans</i> 10 C18:1	4,27 a	4,04 a	2,14 b	3,63
C16:0 (ác. Palmítico)	30,20 b	30,56 b	33,10 a	31,08
C18:1 t t 11 (ác vacénico)	1,43 a	1,15 a	0,75 b	1,17

FV=Forraje verde. SH=Silo de hierba. FS=Forraje seco. SM= Silo de maíz

### CONCLUSIONES

El modelo de manejo del territorio definido en función de la superficie dedicada a cada tipo de aprovechamiento influye en la dieta de las vacas a lo largo del año y éstas influyen decisivamente en el perfil de ácidos grasos de la leche. El estudio que se presenta pone de manifiesto el potencial de la metodología aplicada para, con un número más amplio de ganaderías y observaciones, poder inferir el perfil lipídico de la leche obtenida en una explotación en función de su manejo del territorio, así como dirigir los cambios de manejo que podrían contribuir a modificar ese perfil.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Villar, A., Moros, R., Doltra, J., Salcedo, G., Vázquez, I., Fernández, B. y Busqué, J. 2016. Innovación Sostenible en Pastos: hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático, 165-270.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen la colaboración de los ganaderos encuestados. Este trabajo se ha desarrollado dentro del proyecto RTA2012-0065-C05 financiado por el INIA.

### RELATIONSHIP BETWEEN MANAGEMENT OF THE TERRITORY, TYPE OF DIET AND MILK FATTY ACID PROFILE

From a detailed survey on 40 dairy farms in Cantabria a typification analysis was carried out; four groups of farms have been identified on the bases of management of the territory when using Cluster Analysis (Villar et al., 2016). Each model entails a different use of forage resources, resulting finally in different models of feeding of lactating cows. The grouping done on diets fed to cows in lactation throughout the year (spring, summer, autumn, winter) resulted in 3 models of diet: "Fresh herbage", where is more than 50% of the dry matter of the ration is composed of green fodder; "Conserved forage-based diet" and "Maize silage and grass silage-based diet". It was found a clear association between the model of territory management and rations and also between diet and fatty acid profile.

**Key words:** milk production systems, lactating cow diets, fatty acid composition

## PASTOREO DE VACAS LECHERAS EN PRADERAS DE TRÉBOL ENCARNADO VS TREBOL ASOCIADO A HIERBA: EFECTOS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE

Salcedo, G.<sup>1</sup>, Villar, A.<sup>2</sup> y Caloto, F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Calidad e Innovación. CIFP "La Granja", 39792 Heras, Cantabria

<sup>2</sup>Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria  
gregoriosalce@ono.com

### INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción animal basados en pastoreo han cambiando considerablemente en los últimos veinte años y pueden continuar evolucionando por la presión social y medioambiental (Lüscher *et al.*, 2014). Los factores mejor relacionados con el consumo y la producción animal en base a pastos son entre otros, los de su composición nutritiva (Mertens, 1994), condiciones medioambientales, factores de manejo y tipo de forraje (Holmes *et al.*, 1992). El consumo voluntario de leguminosas es del 10 al 15% superior que en las gramíneas de similar digestibilidad (INRA, 2007). La alternativa forrajera más utilizada en Cantabria es la formada por raigrás italiano y maíz, ambos para ensilado. Ambos forrajes presentan bajos contenidos de proteína, obligando a utilizar otras fuentes proteicas en los concentrados para satisfacer las necesidades nutritivas de las vacas lecheras. Son escasos los trabajos sobre la producción de leche en régimen de pastoreo con trébol encarnado, pero sí con mezcla de leguminosas anuales (Veiga *et al.*, 2016) y raigrás híbrido o asociado a triticale (Salcedo *et al.*, 2016). El objetivo de este trabajo fue comparar la producción y composición de la leche del pastoreo de trébol en siembra pura o asociado a pradera.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y dietas:** una superficie de 1,80 hectáreas (1,17 ha de *trifolium incarnatum* y 0,63 ha de pradera de *lolium perenne*), fue dividida en dos subparcelas de 0,90 ha denominadas (TB) y (TB/P), formada esta última superficie por trébol encarnado puro (0,45 ha) y colindante una pradera de raigrás inglés de igual superficie. Cada una de las dos subparcelas fueron aprovechadas a diente por 18 vacas Holstein-Friesian, distribuidas al azar en dos grupos iguales (n=9), siguiendo un diseño experimental factorial (2x2) dos forrajes verdes (TB y TB/P) por dos períodos de 14 días, 12 de adaptación a la dieta y los 2 últimos de control. Al inicio del experimento el rebaño lo componían 4 primíparas y 14 multíparas, con una producción media de 27,9±8 kg/día, 212±148 días de lactación; 3,32%±0,64 de grasa y 3,49%±0,34% de proteína. Las vacas realizaron el pastoreo de TB y TB/P de forma rotacional, en bandas, dividido mediante hilos electrificados y estaquillas móviles, desde el 20 de marzo al 16 de mayo del 2016, entre los ordeños de mañana (10:30 h 18:00 h) y el de tarde (20:00 h a 7:30 h). Después de cada ordeño las vacas fueron suplementadas con 3,5 y 3,6 kg MS y día de materia seca de ensilado de maíz y concentrado respectivamente. La composición media del ensilado de maíz y concentrado fue: 326-882 g MS kg<sup>-1</sup>, 84-171 g PB kg<sup>-1</sup> MS, 336-388 g de almidón kg<sup>-1</sup> MS y energía neta leche (ENL) de 1,45-1,8 Mcal kg<sup>-1</sup> MS respectivamente. La ingesta diaria de forraje fue estimada por diferencia entre los kilos de materia seca ofertada y rechazada, tomada a partir tres superficies al azar de 0,5 x 0,5 m. Ambas muestras fueron analizadas por su contenido en materia seca y principios nutritivos.

**Producción y análisis químicos de la leche:** la producción de leche fue registrada con un medidor Waikato MKV milk meter (Miling Systems, NZ). Una alícuota de cada ordeño fue depositada en contenedores estériles de 50 cc conteniendo 2-3 gotas de azidiol y conservándose en nevera hasta su posterior análisis. Los análisis de grasa, proteína, lactosa, magro y urea de la leche fueron realizados en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Cantabria. La producción de leche fue corregida al 4% graso según Gaines, (1928) y por el contenido de sólidos totales (Tyrril y Reid, 1965).

El gasto energético que representa la urea de la leche en Mcal fue estimado a partir de la ecuación propuesta por Tilucky et al. (2008)

**Análisis estadístico:** los resultados de la producción y composición química de la leche fueron analizados con el Modelo Lineal Mixto (SPSS 15.0), considerando el forraje (TB o TB/P) como efecto fijo y el período (1 y 2) y las vacas (1...18) como efectos aleatorios.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La sustitución parcial de trébol encarnado (TB) por hierba de pradera (TB/P) redujo significativamente un 29,7% el consumo de forraje verde ( $P < 0,001$ ), equivalente a 3,6 kg de materia seca vaca y día (Tabla 1), posiblemente debido a la diferencia de forraje verde ofertado (20 kg MS vaca y día en TB y 11 en TB/T), pese a esto, el consumo de fibra neutro detergente fue similar (Tabla 1). No obstante, la diferencia observada en la ingesta de materia seca del pasto entre TB y TB/P fue similar a la señalada por Dewhurst *et al.* (2003) de 2-3 kg en ensilados de trébol rojo o trébol blanco frente a los de raigrás. La ingesta de proteína bruta fue un 28,7% superior en TB ( $P < 0,001$ ), equivalentes a concentraciones sobre materia seca de 17,4% y 14,6% en TB y TB/P respectivamente, lo que se tradujo en una diferencia estadísticamente significativa entre los gramos de proteína bruta por Mcal de energía neta leche (Tabla 1), en ambos casos con valores próximos a 100-110 g nivel recomendado por Salcedo y Villar (2016) para las explotaciones lecheras de Cantabria. Posiblemente la menor digestibilidad en la dieta (72,8%) y la menor concentración de proteína en TB/P (Tabla 1), pudieran ser las causas de su menor relación.

**Tabla 1.** Producción y composición química de la leche

	TB	TB/P	et	P
<b>Ingesta de materia seca y nutrientes</b>				
Pasto, kg MS d <sup>-1</sup>	12,1	8,5	0,28	***
Ensilado maíz, kg MS d <sup>-1</sup>	5,2	5,1	0,02	ns
MS total, kg d <sup>-1</sup>	24,6	21	0,29	***
FND, kg d <sup>-1</sup>	9,3	9,1	0,16	ns
PB, kg d <sup>-1</sup>	4,3	3,0	0,08	***
MOD, kg d <sup>-1</sup>	20,1	15,3	0,21	***
ENL, Mcal d <sup>-1</sup>	34,1	31,6	0,36	***
G PB/Mcal ENL	125	97	1,9	***
<b>Producción de leche</b>				
Litros, L d <sup>-1</sup>	26,5	25,7	2,43	ns
FCM, L d <sup>-1</sup>	25,9	24,9	2,16	ns
Corregida por sólidos, L d <sup>-1</sup>	26,0	24,8	2,10	ns
<b>Composición química de la leche</b>				
Grasa bruta, %	3,90	3,86	0,15	ns
Proteína bruta, %	3,41	3,32	0,09	***
Grasa/Proteína	1,14	1,16	0,03	ns
Lactosa, %	4,84	4,80	0,06	*
Extracto seco magro, %	9,06	8,94	0,10	***
Urea, mg L <sup>-1</sup>	121	70	21	***
<b>Variación de peso vivo</b>				
Variación peso vivo (VPV), kg d <sup>-1</sup>	0,27	0,37	0,05	*
Leche VPV desde ENL, L d <sup>-1</sup>	1,87	2,64	0,38	*
Leche VPV desde PB, L d <sup>-1</sup>	1,53	2,09	0,11	*

TB: trébol encarnado; TB/P: trébol encarnado y pradera; FND: fibra neutro detergente; MOD: materia orgánica digestible; ENL: energía neta leche; FCM: leche corregida al 4% graso; et: error típico; P: \*  $P < 0,05$ ; \*\*\*  $P < 0,001$

La producción de leche, la corregida al 4% graso (FCM) y la corregida por sólidos, el porcentaje de grasa bruta y la relación grasa/proteína no fueron diferentes entre tratamientos (Tabla 1). Para la primera, los resultados son coincidentes con Veiga *et al.* (2016) en pastoreo. Desde el comienzo al final del experimento, la producción de leche se redujo un 6,4% en el conjunto de tratamiento y entre ellos un 4,6% en TB y un 8,9% en TB/P, equivalente a un descenso diario de 0,046 y 0,09 litros en TB y TB/P respectivamente. Pese a la ausencia de diferencias significativas, la producción fue numéricamente mayor en TB de 1,2 litros vaca y día, equivalente a 334 litros de leche

por hectárea. Aquella diferencia se encuentra dentro del rango de 1-3 kg señalado por Ribeiro-Filho *et al.* (2003) en experimentos de corta duración con ensilados de leguminosas frente a los de gramíneas. El mayor contenido de urea en TB (42%) es imputable al mayor consumo de proteína bruta (Salcedo y Villar 2016); sin embargo, los niveles medios fueron inferiores a los considerados por aquellos como óptimos en las condiciones de Cantabria. La eficiencia de la utilización del N (NUE) estimada como [(litros de leche \* % de PB leche)\*100]/ PB ingerida] en tanto por ciento fue inferior en TB (20,5%) respecto a 27,1% en TB/P. Entre tratamientos, las concentraciones de proteína bruta, sólidos no grasos y urea ( $P < 0,001$ ) y la lactosa ( $P < 0,05$ ) fueron superiores en TB. El cambio de peso vivo entre tratamientos fue de  $0,32 \text{ kg d}^{-1}$ , pero un 29,7% mayor en TB/P ( $P < 0,05$ ), posiblemente debido a la menor producción de leche o al mayor gasto energético empleado en eliminar urea (0,96 Mcal en TB frente a 0,21 en TB/P). La producción de leche atribuida a la variación de peso entre tratamientos fue superior en TB/T ( $P < 0,05$ ).

### CONCLUSIONES

La asociación trébol/pradera redujo casi un 30% el consumo de forraje fresco en pastoreo y un 14,6% el consumo de MS total de la dieta. La proteína de la leche fue casi una décima por litro superior en la dieta con trébol encarnado. La producción de la leche no aumentó significativamente, pero sí fue numéricamente superior en 1,2 litros vaca y día.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Dewhurst, R.J., Fisher, W.J., Weed, J.K.S. & Wilkins, R.J. 2003. *J. Dairy Sci.* 86, 2598–2611.
- Gaines, W.L. 1928. Illinois Agricultural Experimental Station Annual Report, pp 308.
- Holmes, C.W., Hoogendoorn, C.J., Ryan, M.P. & Chu, A.C.P. 1992. *Grass Forage Sci.* 47:309–315.
- Lüscher, A., Mueller-Harvey, I., Soussanam, J.F., Rees, R.M. & Peyraud, J.L. 2014. *Grass and Forage Sci.*, 69, 206–228.
- Mertens, D. R. 1994. *Forage Quality*, 450–493.
- Ribeiro-Filho, H.M., Delagarde, R. & Peyraud, J.L. 2005. *Anim. Feed Sci. Tech.* 119, 13– 27.
- Salcedo, G. & Villar, A. 2016. *Monografías Técnicas. Gobierno de Cantabria*.
- Salcedo, G., Villar, A. & Doltra, J. 2016. *Innovación Sostenible en Pastos: Hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático*.
- SSPS. 2006. SPSS for Windows. 15.0 Ed, SPSS Inc., Chicago (USA).
- Tylutki, T.P., Fox, D.G., Durbal, V.M., Tedeschi, L.O., Russell, J.B., Van Amburgh, M.E., Overton, T.R., Chase, L.E. & Pell, A.M. 2008. *Anim. Feed Sci. Technology* 143, 174–202.
- Tyrrel, H.F. & Reid, J.T. 1965. *J. Dairy Sci.* 48: 1215-1223.
- Veiga, M., Botana, A., Resch, C., Pereira-Crespo, S., Dagnac, T., Valladares, J., Díaz, N., Fernández-Lorenzo, B. & Flores-Calvete. 2016. *Innovación Sostenible en Pastos: hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático*, 235-240.

### GRAZING OF DAIRY COWS CRIMSON CLOVER PRAIRIES VS CLOVER ASSOCIATED TO GRASS: EFFECTS ON THE PRODUCTION AND CHEMICAL COMPOSITION OF MILK

**ABSTRACT:** An area of 1.81 hectares (1.17 ha of crimson clover and 0.63 ha of *lolium perenne*) was divided into two sub-plots of 0.90 ha (TB) and (TB / TP). Last surface for pure crimson clover (0.45 ha) and adjacent and *lolium perenne* meadow (0.45 ha). Two subplots were harvested by grazing by 18 Holstein-Friesian cows, randomly distributed in two equal groups ( $n = 9$ ), using a cross-experimental design (2x2) of two green forages (TB and TB / TP) for two 14-day periods, 12 for adaptation to diet and the last 2 for control. The results showed absence of differences in milk production; on the contrary, milk protein, lean dry extract and urea were higher in TB.

**Keywords:** Cantabria, dairy systems, harvests to the tooth, annual legumes

## PASTOREO DE VACAS LECHERAS EN PRADERAS DE TRÉBOL ENCARNADO VS TREBOL ASOCIADO A HIERBA: EFECTOS SOBRE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE

Salcedo, G.<sup>1</sup>, Villar, A.<sup>2</sup> y Caloto, F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dpto. de Calidad e Innovación. CIFP “La Granja”, 39792 Heras, Cantabria

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria  
gregoriosalce@ono.com

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad la rotación forrajera típica de Cantabria es la formada por raigrás italiano (invierno) con maíz (verano), pero deficiente en proteína, lo que hace interesante la utilización de forrajeras leguminosas de invierno, que contribuyan a reducir los inputs y minimizar el impacto ambiental asociado al uso de fertilizantes o a la compra de fuentes proteicas utilizadas en la alimentación del vacuno lechero. Las leguminosas, y especialmente los tréboles anuales como el alejandrino, persa, vesiculoso, migueliano y encarnado, son fuentes de proteína que pueden ser utilizadas tanto para ensilado (Botana *et al.*, 2016) como en pastoreo (Veiga *et al.*, 2016). Este experimento viene precedido de otro anterior, realizado por Salcedo *et al.* (2016), en donde se observaron aumentos significativos del CLA en la leche de vacas en régimen de pastoreo de triticale asociado a trébol encarnado respecto al triticale en siembra pura y con dietas suplementadas con maíz. En Galicia se observaron incrementos de la relación omega-6/omega-3 en la leche de vacas donde un 30-50% de la MS de la dieta estaba constituida por ensilado de maíz (Flores *et al.*, 2015); mientras que en otro trabajo, de este mismo grupo, se encuentra que esta relación disminuye cuando las vacas en pastoreo pasan de trébol violeta a raigrás inglés (Flores *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo fue comparar el perfil de ácidos grasos de la leche de vacas cuando se sustituye parcialmente el raigrás inglés por trébol encarnado en régimen de pastoreo en dietas suplementadas con ensilado de maíz.

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Animales y dietas:* 18 vacas Holstein-Friesian (4 primíparas y 14 múltiparas) del rebaño lechero del CIFP “La Granja” fueron distribuidas al azar en dos grupos iguales (n=9) según un diseño experimental factorial 2x2 definido por dos forrajes verdes aprovechados a diente (TB: trébol encarnado puro y TB/P: trébol encarnado y pradera, al 50% cada uno de la superficie de pasto) y dos periodos experimentales. Cada periodo tuvo una duración de 14 días, 12 de adaptación a la dieta y los 2 últimos de control. Al inicio del experimento las vacas se encontraban con 212±148 días de lactación; 27,9±8 kg leche, 3,32%±0,64 de grasa y 3,49%±0,34% de proteína. Las vacas realizaron el pastoreo de TB y TB/P de forma rotacional, en bandas, delimitándose las parcelas mediante hilos electrificados y estaquillas móviles, desde el 20 de marzo al 16 de mayo del 2016, durante 15 horas diarias, entre los dos ordeños (7:30 am a 18:00 pm y 20:00 pm a 7:30 am). Después de cada ordeño las vacas fueron suplementadas con 3,5 y 3,6 kg y día de materia seca de ensilado de maíz y concentrado. La determinación del perfil de ácidos grasos se llevó a cabo en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Cantabria. La extracción de la materia grasa se realizó según la norma Norma ISO 14156/FIL 172:2002 en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Cantabria. Para la preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de la materia grasa se siguió la Norma ISO 15884/FIL 182:2002 y la composición en ácidos grasos se determinó mediante cromatografía de gases según la Norma ISO 15885/FIL 184:2002. Los esterios metílicos de los AG se separaron y cuantificaron con un cromatógrafo de gases Agilent 7890 (Agilent Technologies), equipado con una columna capilar de silica fundida (Teknokroma TR-CN100) de 100 metros de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,20 µm de espesor de la fase estacionaria. El volumen de inyección fue de 1 µL a una relación 1:100, con helio a una presión constante de 37 psi como gas portador. La temperatura del inyector era de

260 °C; el programa de rampa de la temperatura del horno se iniciaba a 140° C durante 5 minutos, después se elevaba a razón de 4 °C por minuto hasta 240 °C durante 15 minutos. El detector es un detector FID a una temperatura de 300°C.

*Análisis estadístico:* los resultados del perfil de ácidos grasos de la leche fueron analizados con el Modelo Lineal Mixto (SPSS 15.0), considerando el forraje (TB o TB/P) como efecto fijo, el período (1 y 2) y las vacas (1...18) como efectos aleatorios.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración de los diferentes ácidos grasos de la leche se señalan en la Tabla 1. El contenido medio de ácidos grasos saturados (AGS) fue un 1,3% superior en la leche obtenida tras el pastoreo sobre trébol encarnado (TB) respecto a la asociación trébol encarnado y pradera. Similares incrementos (1,5%) fueron observados por Veiga *et al.* (2016) en la leche de vacas pastando una mezcla de tréboles anuales y raigrás híbrido respecto a la de raigrás inglés. A pesar de que el palmítico es el ácido graso saturado más abundante su contenido no difiere entre tratamientos (31,36±3,5% en TB y 31,31±3,9% en TB/P); mientras que los contenidos en los ácidos mirístico (C14:0) y láurico (C12:0) son significativamente más altos, así como la suma de C12:0, C14:0 y C16:0, ácidos considerados como colesterogénicos.

**Tabla 1.** Concentración de ácidos grasos de la leche

G 100 g de ácidos grasos		TB	TB/P	et	P
AGS		71,1	70,2	0,95	**
	C12:0 +C14:0 +C16:0	47,5	46,7	1,18	*
AGMI		24,11	25,16	0,92	***
	C18:1 (Ácido oleico)	18,63±3,2	19,85±3,7	1,0	***
	C18:1 t11 (TVA)	2,19	2,13	0,16	ns
AGPI		4,77	4,59	0,25	ns
LA		1,95	1,97	0,029	ns
ALA		0,678	0,551	0,13	***
CLA		0,898	0,835	0,072	*
Omega-3		0,712	0,591	0,04	***
Omega-6		2,109	2,14	0,08	ns
Omega-6/Omega-3		3,03	3,72	0,11	***
CLA, g L <sup>-1</sup>		0,352	0,315	0,117	ns
ALA, g L <sup>-1</sup>		0,264	0,208	0,06	***
Omega-3, g L <sup>-1</sup>		0,277	0,222	0,063	***

TB: trébol incarnatum; TB/P: trébol incarnatum más pradera; AGS: AG saturados; AGMI: AG Monoinsaturados; AGPI: AG Poliinsaturados; LA: C18:2n6 (ác. linoleico); ALA: C18:3n3 (ác. α-linolénico); TVA: C18:1t11 (ác. vacénico); CLA: (C18:2 (c9, t11+t9, c11) et: error típico; P: ns: no significativo; \*: P<0,05; \*\*: P<0,01; \*\*\*: P<0,001.

La concentración de monoinsaturados (AGMI) fue variable, con rangos de 18,5% a 29,8 en TB y de 17% a 33,3% en TB/P; sin embargo, la concentración media fue un 2,9% superior en TB/P (Tabla 1). La menor concentración de AGMI en TB es coincidente con Veiga *et al.* (2016), quienes observaron reducciones del 2,3% cuando las vacas pastan tréboles anuales asociado a raigrás híbrido respecto al pastoreo de raigrás inglés. El AGMI mayoritario fue el oleico que representó el 76,8±4,5% en TB y 78,5±3,7% en TB/P del total de los AGMI, con diferencias significativas entre dietas. El vacénico (TVA) es el segundo AGMI mayoritario, es un ácido graso de gran interés porque, pese a su posición *trans*, tiene efectos positivos sobre la salud humana y es precursor de CLA (Chilliard y Ferlay, 2004). Si bien no se encontraron diferencias significativas en el contenido medio de TVA entre dietas (Tabla 1), el valor medio obtenido en ambas dietas fue alto en comparación con los presentados por otros autores, así Flores *et al.* (2015) encuentran porcentajes medios de vacénico menores para las 7 dietas estudiadas, siendo el valor medio de 1,63% para la dieta constituida por un 48,2% de forraje verde y 22,8% de concentrado. Nielsen *et al.* (2006) relacionan un alto porcentaje de vacénico en leche con bajo nivel de concentrado en la dieta; otros autores como Castro-Hernández *et al.* (2014) también señalan aumentos de vacénico en la leche de 2,18% a 2,45% cuando reducen el consumo de



concentrado de 7,2 kg a 2,7 kg vaca y día e incrementan el consumo de pasto de 1,24 a 4,67 kg MS.

El porcentaje de poliinsaturados (AGPI) en la leche no fue diferente entre dietas. Como es usual, los AGPI mayoritarios fueron los pertenecientes a las familias n6 y n3 y el grupo de isómeros CLA. Estos tres ácidos grasos representaron el 74,6±9,7% en TB y el 74,3±7,5% en TB/P de los AGPI. Así mismo, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de LA entre tratamientos, sin embargo, la leche procedente de la dieta TB reflejó un 18,7% más de  $\alpha$ -linolénico, así como la producción de ALA y  $\Omega$ 3 por litro de leche se incrementó un 10,5% y un 21,2%, respectivamente (Tabla 1). La relación  $\Omega$ 6/ $\Omega$ 3 fue un 22% inferior en la dieta con trébol encarnado. El contenido medio en CLA fue un 7,1% superior en TB; mientras que la producción de CLA por litro de leche, aunque presentó un incremento de un 10,5%, no fue estadísticamente significativa entre tratamientos. La mayor concentración de CLA en dietas con trébol puede tener su origen en el mayor contenido en ácidos grasos de las leguminosas (Elgersma, 2015) o a través de la actividad de la  $\Delta^9$ -desaturasa sobre el ácido trans-11 vacénico en la glándula mamaria (Kraft *et al.*, 2003).

### CONCLUSIONES

La sustitución parcial de raigrás inglés por trébol encarnado en vacas suplementadas con ensilado de maíz a nivel de perfil de ácidos grasos se traduce en un claro incremento de las concentraciones de  $\alpha$ -linolénico y la suma de isómeros omega-3 y reduce la relación omega-6/omega-3 de la leche, sin reducción del contenido en ácidos grasos saturados.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Botana, A., Resch, C., González, L., Dagnac, T., Pereira-Crespo, S., Fernández-Lorenzo, B., Valladares, J., Veiga, M., Flores-Calvete, G. (2016). Innovación Sostenible en Pastos: Hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático, 241-246.
- Castro-Hernández, H., González-Martínez, F., Domínguez-Vara, I., Pinos-Rodríguez, J.M., Morales-Almaráz, E., Vieyra-Alberto, R. (2014). *Agrociencia* 48: 765-775.
- Chilliard, Y., Ferlay, A. (2004). *Reprod. Nutr. Dev.* 44:467-492.
- Elgersma, A. (2015). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117: 1345-1369.
- Flores G, Fernández-Lorenzo B, González-Arráez A, Valladares J, Dagnac T, Latorre A, Agruñá MJ, Pereira S, Díaz N, Giménez R, Rodríguez-Diz X (2011). *Pastos*, 41 (1): 79-99.
- Flores G, Fernández-Lorenzo B, Dagnac T, Resch C, Pereira-Crespo S, Lorenzana R, González L, Agruñá MJ, Barreal M, Veiga M, Botana A (2015). *AFRIGA* N° 118: 130-146.
- Kraft, J., Collomb, M., Möckel, P., Sieber, R., Jahreis, G (2003). *Lipids* 38: 657-664.
- Nielsen, T.S., Straarup, E.M., Vestergaard, M., Sejrsen, K. (2006). *Repr. Nutr. Dev.* 46: 699-712.
- Salcedo, G., Villar, A., Doltra, J. 2016. *Innovación Sostenible en Pastos: Hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático*, 227-233.
- Veiga, M., Botana, A., Resch, C., Pereira-Crespo, S., Dagnac, T., Valladares, J., Díaz, N., Fernández-Lorenzo, B., Flores-Calvete, G. (2016). *Innovación Sostenible en Pastos: Hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático*, 235-240.

### GRAZING OF DAIRY COWS CRIMSON CLOVER PRAIRIES VS ASSOCIATED TO GRASS: EFFECTS ON MILK FATTY ACIDS

**ABSTRACT:** 18 Holstein-Friesian cows (4 primiparous and 14 multiparous) from the CIFP dairy herd "La Granja" were randomly distributed in two equal groups (n = 9) following a "crossed" experimental design (2x2) two green fodder harvested to the tooth (TB: pure crimson clover and TB / P: crimson clover and lolium perenne meadow at 50% of the surface each) for two 14 day periods, 12 diet adaptation and the last 2 control periods. The results showed substantial improvements in the concentrations and production per liter of milk from CLA, ALA and omega-3 when cows graze pure clover compared to the pasture associated.

**Key words:** Cantrabria, anual legumes, grazing, fatty acids

## **CARACTERIZACIÓN DE LAS VACAS DE DESVIEJE DE RAZA FRISONA SACRIFICADAS EN CANTABRIA**

Serrano, E. \*, Moros R. y Busqué, J.

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA), D.G. Desarrollo Rural, Gobierno de Cantabria. C/Héroes 2 de mayo, 27, 39600, Muriedas, Cantabria.

\* emmaserrano@cifacantabria.org

### **INTRODUCCIÓN**

Las renovaciones de vacas que se efectúan en las explotaciones de leche originan recurrentemente un gran número de animales cuyo destino es el matadero. En estas explotaciones, nos encontramos con tasas de reposición altas, eliminación de animales jóvenes por infertilidad (Fouz et al., 2014), y una disminución del margen económico por litro de leche (Sineiro et al., 2012). La obtención del máximo valor añadido de este producto implicaría que los animales se sacrificasen con un peso vivo y engrasamiento adecuados (Serrano, 2016). Cantabria contaba en el año 2014 con un censo de 54.496 vacas lecheras (1,05% del censo nacional) (MAGRAMA, 2017) y sería, con 10,2 vacas/km<sup>2</sup>, la 2ª comunidad autónoma en densidad de vacas lecheras (media nacional 1,7 vacas lecheras/km<sup>2</sup>).

El objetivo de este trabajo es analizar el número de vacas de raza Frisona sacrificadas en Cantabria, la edad de sacrificio y las características de la canal (peso, conformación y engrasamiento).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron los registros de matanza de los tres mataderos operativos en Cantabria en el año 2014. Del total de canales registradas se seleccionaron las pertenecientes a la categoría "D: Canales de hembras que hayan parido" (Reglamento (CE) 1308/2013). De dichas canales se recogió la información correspondiente al código de identificación del animal del Sistema de Trazabilidad Animal (SITRAN), fecha de nacimiento, fecha de sacrificio, peso de la canal fría, nota de conformación y nota de engrasamiento (Reglamento (CE) 1308/2013). Las notas de conformación (S, E, U, R, O, P) y las notas de engrasamiento (1-5) se registraron dividiendo cada clase en tres subclases. La base de datos obtenida se cruzó con la información disponible en SITRAN para discriminar las canales correspondientes a hembras de raza Frisona. Se calculó la edad de sacrificio como la diferencia entre la fecha de nacimiento y la de sacrificio y se establecieron 4 grupos de edad ( $\leq$  a 3 años;  $>$  de 3 y  $\leq$  a 5 años;  $>$  de 5 y  $\leq$  a 9 años;  $>$  de 9 años). A cada subclase de conformación se le asignó un número en una escala de 1 a 18 ( $S^+=18$  y  $P^+=1$ ) y a cada subclase de engrasamiento en una escala de 1 a 15 ( $5^+=15$  y  $1^+=1$ ). Los valores de peso de la canal fría, nota de conformación y nota de engrasamiento de los cuatro grupos de edad se compararon mediante un ANOVA utilizando el programa SPSS 17.0.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el año 2014 se sacrificaron en los mataderos de Cantabria 7.232 vacas frisonas. En la Tabla 1 se puede ver la clasificación por conformación y engrasamiento y el peso medio de la canal por categoría. El 31% de las canales presentaron una nota de engrasamiento de 1 y el 36% una nota de conformación de P-. Minchin et al. (2009) sitúan, según las exigencias del mercado en Irlanda, el objetivo del cebo de vacas frisonas en la obtención de canales con un peso  $\geq 270$  kg, una conformación  $\geq P+$  y un engrasamiento  $\geq 3$ . Considerando la información recogida en la Tabla 1, sólo el 18% de las canales cumplieron estos requisitos. En España existe un mercado de chuleteros de vaca frisona destinados fundamentalmente a restauración en el que se buscan canales con notas de conformación y engrasamiento más elevadas, p.e. conformación  $\geq O$  y engrasamiento  $\geq 4$  (Moreno et al. 2012) o conformación  $\geq R$  y engrasamiento  $\geq 3$  (Franco et al. 2009). Menos del 1,5% de las canales registradas cumplirían el primer criterio y menos del 0,5% el segundo (Tabla 1). Existe otra vía de comercialización de canales de vacas de desvieje que sería el abastecimiento de centros de restauración colectiva, parte de los lineales de grandes superficies y exportación a países con mayor consumo de vacuno mayor (p.e. Francia). En esta vía de comercialización se buscan canales con un peso mínimo en torno a 250 kg y con un engrasamiento más moderado, entre 2 y 3 (Información propia no publicada). Menos del 40% de las canales producidas en 2014 se ajustaría a estos requisitos (Tabla 1).

**Tabla 1. Clasificación por conformación y engrasamiento (Reglamento (CE) 1308/2013) del total de vacas de desvieje de raza Frisona sacrificadas en Cantabria en el año 2014 y peso medio de la canal fría (Pc) por categoría.**

Conformación	Engrasamiento											Total			
	1	1+	2-	2	2+	3-	3	3+	4-	4	4+		5-	5	5+
P- N (%)	1676 (23,2)	449 (6,2)	154 (2,1)	295 (4,1)	15 (0,2)	18 (0,2)	20 (0,3)	-	-	-	-	-	-	-	2627 (36,3)
Pc	227	253	263	269	297	297	337	-	-	-	-	-	-	-	240
P N (%)	527 (7,3)	289 (4,0)	236 (3,3)	751 (10,4)	174 (2,4)	92 (1,3)	541 (7,5)	87 (1,2)	7 (0,1)	46 (0,6)	-	-	-	-	2750 (38,0)
Pc	222	246	257	291	311	317	333	352	352	384	-	-	-	-	284
P+ N (%)	12 (0,2)	47 (0,6)	82 (1,1)	81 (1,1)	41 (0,6)	22 (0,3)	154 (2,1)	102 (1,4)	26 (0,4)	59 (0,8)	-	-	1 (0,01)	-	627 (8,7)
Pc	227	247	271	299	316	343	353	375	384	396	-	-	494	-	331
O- N (%)	-	5 (0,07)	19 (0,3)	43 (0,6)	11 (0,2)	15 (0,2)	114 (1,6)	48 (0,7)	19 (0,3)	67 (0,9)	-	-	2 (0,02)	-	343 (4,7)
Pc	-	285	277	294	328	341	340	389	400	404	-	-	471	-	353
O N (%)	-	6 (0,1)	14 (0,2)	66 (0,9)	28 (0,4)	21 (0,3)	500 (6,9)	84 (1,2)	25 (0,3)	66 (0,9)	-	-	5 (0,07)	-	815 (11,3)
Pc	-	286	296	313	330	343	354	400	431	427	-	-	427	-	361
O+ N (%)	-	-	-	1 (0,01)	2 (0,02)	-	19 (0,3)	8 (0,1)	4 (0,06)	5 (0,07)	-	-	1 (0,01)	-	40 (0,6)
Pc	-	-	-	251	349	-	371	392	400	405	-	-	399	-	379
R- N (%)	-	-	-	-	-	-	9 (0,12)	2 (0,02)	-	1 (0,01)	-	-	-	-	12 (0,2)
Pc	-	-	-	-	-	-	367	370	313	-	-	-	-	-	363
R N (%)	-	-	-	2 (0,02)	1 (0,01)	-	10 (0,1)	1 (0,01)	-	-	-	-	-	-	14 (0,2)
Pc	-	-	-	386	417	-	363	464	-	-	-	-	-	-	377
R+ N (%)	-	-	-	-	-	-	-	2 (0,02)	-	-	-	-	-	-	2 (0,02)
Pc	-	-	-	-	-	-	-	345	-	-	-	-	-	-	345
U- N (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
U N (%)	-	-	-	1 (0,01)	-	-	1 (0,01)	-	-	-	-	-	-	-	2 (0,02)
Pc	-	-	-	414	-	-	418	-	-	-	-	-	-	-	416
U+ N (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total N (%)	2215 (30,6)	796 (11,0)	505 (7,0)	1240 (17,1)	272 (3,8)	168 (2,3)	1368 (18,9)	334 (4,6)	81 (1,1)	244 (3,4)	-	-	9 (0,1)	-	7232
Pc	225	251	263	288	315	323	345	378	400	404	-	-	441	-	285

Uno de los factores con mayor influencia sobre los rendimientos productivos, la calidad de la canal y la calidad sensorial de la carne de vacas de desvieje es la edad (Cabaraux et al., 2005). En la Tabla 2 se puede ver que un 10% de las vacas sacrificadas tenía 3 años o menos, un 32% entre 3 y 5 años, un 47% entre 5 y 9 años y un 11% tenía más de 9 años. Se observó un efecto significativo ( $p \leq 0,05$ ) de la edad sobre el peso de la canal, la conformación y el engrasamiento. Se observó un incremento del peso de la canal con la edad ( $p \leq 0,05$ ) desde los 3 hasta los 9 años, pero el grupo de vacas mayores de 9 años presentó valores de peso de canal inferiores al grupo de entre 5 y 9 años ( $p \leq 0,05$ ). En el caso de la conformación y el engrasamiento, los valores van disminuyendo con la edad desde el grupo de tres años al grupo de entre 5 y 9 años ( $p \leq 0,05$ ) y no se observan diferencias ( $p > 0,05$ ) entre este grupo y el grupo de vacas de más de 9 años. Bastien y Brouard-Jabet (2000) registraron las características de la canal de 115.340 vacas Holstein sacrificadas en Francia. Observaron que un 45% tenía menos de 5-6 años y un 89% menos de 8-9 años, que el peso de las canales se incrementaba hasta los 7 años de edad y que luego disminuía y se iniciaba un descenso en la conformación y el engrasamiento. Los resultados obtenidos indican que la mayoría de las vacas de desvieje producidas en Cantabria se envían al matadero sin alcanzar una condición corporal que de lugar a unas características de la canal que permitan maximizar el valor añadido de este producto. La edad de los animales podría ser un factor importante a considerar en la organización de sistemas de acabado. La puesta a punto de protocolos de acabado que permitan mejorar el valor añadido de las canales minimizando los costes, se revela como una oportunidad para los ganaderos que sacrifican sus vacas en los mataderos de Cantabria.

**Tabla 2.** Efecto de la edad de sacrificio sobre el peso de la canal y las notas de conformación y engrasamiento (Reglamento (CE) 1308/2013).

	Edad de sacrificio				E.S.	P
	≤ 3 años	>3 y ≤ 5 años	>5 y ≤ 9 años	> 9 años		
Nº de vacas	694	2.353	3.393	792	-	-
Peso canal (kg)	275 <sup>c</sup>	284 <sup>b</sup>	289 <sup>a</sup>	280 <sup>bc</sup>	0,78	<0,001
Conformación (escala 1-18)	3,0 <sup>a</sup>	2,3 <sup>b</sup>	2,0 <sup>c</sup>	2,1 <sup>c</sup>	0,02	<0,001
Engrasamiento (escala 1-15)	5,8 <sup>a</sup>	5,1 <sup>b</sup>	4,7 <sup>c</sup>	4,5 <sup>c</sup>	0,03	<0,001

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bastien & Brouard-Jabet 2000. Renc., Rech., Rum. 7: 269
- Cabaraux J.F. et al. 2005. INRA Prod. Anim. 18: 37-48.
- Fouz R. et al. 2014. ITEA 110: 171-186.
- Franco D. et al. 2009. Meat Sci. 83: 484-491.
- MAGRAMA (2017) [www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/ganaderia/encuestas-ganaderas/#para5](http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/ganaderia/encuestas-ganaderas/#para5)
- Minchin W. et al. 2009. Meat Sci. 81: 93-101.
- Moreno et al. 2012
- Serrano E. 2016. ITEA 112: 162-184.
- Sineiro et al. 2012. Pastos 42: 67-92

**Agradecimientos:** Nuevo Matadero de Reinosa S.R.L., Matadero Municipal de Torrelavega y Gestión Cárnica del Norte S.A., Víctor Tocino (D.G. de Ganadería).

### CHARACTERIZATION OF FRISIAN CULL COWS PRODUCTION IN CANTABRIA

**ABSTRACT:** Using data from the three slaughterhouses located in Cantabria and information from the Integrated System of Animal Traceability, the number of Frisian cows slaughtered (number of carcasses of female animals that have calved) in Cantabria in 2014, their slaughter age and their carcass characteristics (cold weight, conformation and fatness scores) were analysed. Fatness score of 31% of carcasses was 1 and conformation score of 36% of them was P-. Slaughter age affected ( $p \leq 0.05$ ) carcass weight, conformation and fatness scores. Most of Frisian cull cows produced in Cantabria in 2014 were slaughtered without reaching a body condition enough to optimize carcass characteristics.

**Keywords:** cull cows, Frisian, carcass, age

## **EFECTO DE LA EDAD DE SACRIFICIO DE MACHOS DE RAZA CACHENA SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL**

García-Fontán, M.C.<sup>1\*</sup>; Moreno, T.<sup>1</sup>, Llena, J.<sup>2</sup>, Lorenzo, J.M.<sup>1</sup> y García, G.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro Tecnológico de la Carne. Avda. Galicia nº 4-Parque Tecnológico de Galicia 32900. Ourense.

<sup>2</sup> Grupo COREN. Lamablanca-Coeses. 27181 Lugo.

\*caminogarcia@ceteca.net

### **INTRODUCCIÓN**

En Galicia hay un censo de 3.746 animales de raza Cachena, de los cuales 3.242 se corresponden con hembras y 504 con machos (MAGRAMA, 2015). Este bajo censo hace que se encuentren al borde de la desaparición y catalogadas como Raza Autóctona en Peligro de Extinción (Real Decreto 2129/2008).

Pese a que un aspecto importante en la conservación de una raza es conseguir la comercialización de productos diferenciados, asociados a ella y valorados por los consumidores (Gandini y Oldenbroek, 2007), son muy pocos los animales de raza Cachena que son terminados y comercializados como tal. A pesar de que en España, la carne de vacuno procedente de animales sacrificados en torno a los 12 meses de edad representa el 35% del consumo total de carne de vacuno; es sabido que la deposición de grasa en la canal, y en particular la deposición de grasa subcutánea, se incrementa con la edad de sacrificio; por tanto, es preciso tener en cuenta que a medida que aumenta la edad, mejora la calidad de la canal y se incrementa el nivel de grasa intramuscular (factores especialmente importantes en los animales con acabados en pastoreo). Aumentar la edad de sacrificio en un sistema de producción semi-extensivo en los terneros Cachenos podría constituir, por lo tanto, una estrategia productiva en esta raza.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **I: Animales**

Se emplearon 32 machos castrados de raza Cachena (8 por cada lote) que se destetaron a los 7-8 meses y permanecieron en la pradera hasta los últimos 5 meses de edad, momento en el fueron estabulados y cebados con pienso comercial y silo de hierba. Para estudiar el efecto de la edad de sacrificio se establecieron 4 lotes: Lote A (sacrificio a los 16 meses), Lote B (29 meses), Lote C (38 meses) y Lote D (52 meses).

#### **II: Calidad canal**

Alcanzada la edad de sacrificio, los animales se pesaron en la explotación (peso vivo) y fueron trasladados hasta el matadero municipal de Ourense. Tras el sacrificio se tomó el peso de la canal caliente (PCC) y de la media canal izquierda y derecha. Se midió el pH entre la 1ª y 2ª vértebra lumbar justo después del faenado y a los 45 minutos. Transcurridas 24 horas tras el sacrificio y tras permanecer en refrigeración a 4°C, se pesaron las canales frías (PCF) y las medias canales izquierdas fueron trasladadas a la planta piloto del Centro Tecnológico de la carne donde se procedió a realizar las medidas morfométricas que aparecen recogidas en la tabla 1, junto con el ICC (índice compacidad de la canal) y el ILTP (índice longitudinal transversal de la pierna). Las canales fueron clasificadas por personal experto en el matadero, según la norma SEUROP (Reglamentos CEE Nº 1208/81; 2930/81, 2237/91 y Real Decreto Nº 225/08)

#### **III: Análisis estadístico**

Se llevó a cabo mediante el programa estadístico SPSS (versión 19.0, EEUU). Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para estudiar el efecto de la edad de sacrificio sobre las características de la canal. La separación de medias cuadráticas se realizó mediante un test de Duncan, realizado a un nivel de significación  $\alpha < 0,05$ .

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 observamos, que como era de esperar, tanto el peso canal, conformación y las medidas morfométricas, aumentaron de un modo significativo ( $P < 0,001$ ) con la edad de sacrificio. El análisis estadístico también mostró diferencias significativas ( $P < 0,001$ )

para el peso canal caliente y peso canal fría observándose los valores más altos en los animales sacrificados a mayor edad (284,25 y 258,67 kg, respectivamente).

**Tabla 1. Influencia de la edad de sacrificio sobre las medidas morfométricas de las canales de machos de raza Cachena.**

CALIDAD CANAL	LOTES				Sig
	A (n = 8)	B (n = 8)	C (n = 8)	D (n = 8)	
Peso vivo (kg)	271,86(9,41) <sup>a</sup>	359,45(45,52) <sup>b</sup>	457,20(50,05)	501,33(23,94)	***
Peso canal caliente (Kg)	137,85(5,66) <sup>a</sup>	190,50(24,99) <sup>b</sup>	239,00(25,41) <sup>c</sup>	284,25(13,89) <sup>d</sup>	***
Peso canal fría (Kg)	132,43(5,76) <sup>a</sup>	178,09(24,94) <sup>b</sup>	232,60(26,88) <sup>c</sup>	258,67(13,63) <sup>d</sup>	***
Rendimiento canal (%)	51,29(0,60) <sup>b</sup>	50,53(1,07) <sup>b</sup>	49,14(0,57) <sup>a</sup>	48,41±0,68 <sup>a</sup>	***
pH0	7,05(0,19) <sup>b</sup>	6,79(0,23) <sup>a</sup>	7,08(0,26) <sup>b</sup>	6,74(0,11) <sup>a</sup>	**
pH45	6,49(0,15)	6,57(0,16)	6,18(0,39)	6,41(0,46)	ns
Conformación	2,00(0,00) <sup>a</sup>	2,18(0,41) <sup>a</sup>	2,80±0,45 <sup>b</sup>	2,67±0,52 <sup>b</sup>	**
Estado engrasamiento	2,42(0,53) <sup>a</sup>	3,00(0,00) <sup>b</sup>	3,00(0,00) <sup>b</sup>	3,00(0,00) <sup>b</sup>	***
<b>Medidas morfométricas (cm)</b>					
Longitud canal	105,93(2,17) <sup>a</sup>	113,00(4,23) <sup>b</sup>	120,30(6,76) <sup>c</sup>	123,92(1,11) <sup>c</sup>	***
Longitud pierna	69,14(2,01) <sup>a</sup>	73,40(2,59) <sup>b</sup>	78,10(3,02) <sup>c</sup>	80,00(1,92) <sup>c</sup>	***
Profundidad media pierna	18,64(0,63) <sup>a</sup>	20,54(1,17) <sup>b</sup>	22,30(1,35) <sup>c</sup>	24,08(0,80) <sup>d</sup>	***
Perímetro máxima pierna	84,21(2,13) <sup>a</sup>	91,77(3,34) <sup>b</sup>	94,00(6,57) <sup>b</sup>	102,42(3,10) <sup>c</sup>	***
Espesor grasa	0,43(0,14) <sup>a</sup>	0,69(0,17) <sup>b</sup>	1,00(0,31) <sup>c</sup>	1,06(0,14) <sup>c</sup>	***
Espesor canal centro	2,00(0,11) <sup>a</sup>	3,25(0,69) <sup>b</sup>	3,26(0,62) <sup>b</sup>	3,65(0,58) <sup>b</sup>	***
Espesor canal falda	3,07(0,53) <sup>a</sup>	4,50(0,77) <sup>b</sup>	5,22(1,01) <sup>bc</sup>	5,38(0,61) <sup>c</sup>	***
Espesor canal lomo	2,51(0,39) <sup>a</sup>	3,30(0,65) <sup>b</sup>	4,18(0,43) <sup>c</sup>	4,25(0,82) <sup>c</sup>	***
Profundidad exterior pecho	56,43(2,09) <sup>a</sup>	62,63(2,16) <sup>b</sup>	66,90(2,27) <sup>c</sup>	71,83(0,68) <sup>d</sup>	***
Profundidad interior pecho	36,14(1,70) <sup>a</sup>	42,81(3,65) <sup>b</sup>	44,10(1,59) <sup>b</sup>	54,67(2,50) <sup>c</sup>	***
ICC	1,24(0,03) <sup>a</sup>	1,57(0,18) <sup>b</sup>	1,92(0,12) <sup>c</sup>	2,08(0,09) <sup>d</sup>	***
ILTP	3,71(0,17) <sup>b</sup>	3,58(0,17) <sup>b</sup>	3,51(0,31) <sup>ab</sup>	3,32(0,17) <sup>a</sup>	*

a-d Valores con distintos superíndices para cada una de las edades de sacrificio fueron significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). Niveles de significación: \*\*\* ( $P < 0,001$ ), \* ( $P < 0,05$ ). ‡ Los valores entre paréntesis indican el error estándar. ICC: Índice compacidad canal; ILTP: Índice longitudinal transversal de la pierna. Lotes: A: animales sacrificados con 16 meses de edad; B: animales sacrificados con 29 meses de edad; C: animales sacrificados con 38 meses de edad; D: animales sacrificados con 52 meses de edad

Con respecto al rendimiento canal, la edad de sacrificio también reflejó un efecto significativo ( $P < 0,001$ ) observándose mayores rendimientos en animales más jóvenes (51,3% para animales sacrificados a los 16 meses vs. 48,1% para los de 52 meses). Estos resultados fueron superiores a los observados por Franco et al. (2010) que encontraron valores de rendimiento de canal en raza Cachena en torno al 47,5%, pero inferiores a los descritos por Simoes et al. (2005) en razas Portuguesas de tamaño similar como la Arouquesa (53%), Barrosa (54%), Maronesa (55%) y Mertolenga (56%) sacrificados con un peso vivo de 300 kg; y para razas de mayor formato como la Alentejana (55%), Mirandesa (58%) y la Marinhoa (58%) sacrificados a 400 Kg.

La conformación, que se evaluó atendiendo al desarrollo de los perfiles de la canal y, en particular, de las partes esenciales de la misma (pierna, lomos y espalda), aumentó significativamente ( $P < 0,01$ ) con la edad de sacrificio, mostrando valores de 2,0 para los animales sacrificados con 16 meses y de 2,67 para los animales sacrificados a los 52

meses. Estos resultados coinciden con lo publicado previamente por Chambaz et al. (2003) quienes observaron que el estado de conformación aumentaba con la edad de sacrificio.

El estado de engrasamiento se realiza basándose en la cantidad y distribución de la grasa de cobertura, estimándose que es un parámetro muy apropiado para calificar la adiposidad de la canal en términos de calidad. En nuestro estudio, los animales sacrificados a 16 meses presentaron valores significativamente ( $P < 0,01$ ) más bajos que los observados para las otras tres edades de sacrificio que no presentaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre ellas. En este sentido, numerosos investigadores, han afirmado que una escala de 1 (magro) a 5 (muy graso) es demasiado restrictiva para valorar un factor que presenta una variabilidad tan amplia. Sin embargo, Chambaz et al., (2003) y Lucero-Borja et al. (2014), han observado que el estado de engrasamiento sí aumentaba con el peso de la canal y la edad de sacrificio.

Los valores de pH tras el sacrificio mostraron diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) entre los diferentes grupos. Estas diferencias en los valores de pH podrían ser debidas a que los animales no fueron sacrificados todos en las mismas condiciones (transporte, época del año, ayuno, etc.) lo que puede conducir a valores de pH diferentes. Sin embargo, tras 45 minutos tras el sacrificio, los valores de pH45 no reflejaron diferencias significativas entre los 4 grupos de edad estudiados, oscilando los valores entre 6,18 y 6,57.

En cuanto a las medidas morfométricas, las variables relacionadas con el volumen, perímetro y espesor de la pierna, la profundidad exterior e interior del pecho y el índice de compactidad de la canal, se incrementaron de un modo significativo ( $P < 0,001$ ) con la edad de sacrificio, coincidiendo esta tendencia con la descrita por diversos autores (Araujo et al., 2016, Franco et al., 2010, Carballo et al., 2004).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS)

•Araujo, J.P., Lorenzo, J.M., Cerqueira, J., Vazquez, J.A., Pires, P., Cantalapiedra, J., Franco, D. (2016). *Anim. Prod. Sci*, 56: 2086-2092 •Carballo, J.A., Oliete, B., Moreno, T., Sánchez, L., Monserrat, L. (2004). *Arch Zootec*, 53: 119-128. •Chambaz, A., Scheeder, M. R. L., Kreuzer, M., Dufey, P. A. (2003). *Meat Sci*, 63: 491-500. •Gandini, G. y K. Oldenbroek. (2007). *Utilisation and Conservation of Farm Animal Genetic Resources*. K. Oldenbroek, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands. •Franco, D., Fernández, M., Justo, J.R., Lorenzo, J.M., González, L., Rivero, C.J., Lama, J., García Fontán, M.C. Bispo, E., Carracedo, S., Moreno, T. (2010). *56rd ICOMST*. Jeju (Korea). •Lucero-Borja, J., Pouzo, L.B., de la Torre, M.S., Langman, L., Carduza, F., Corva, P.M., Pavan, E. (2014). *Livest. Sci*, 163: 140-149. •REAL DECRETO N° 2129/2008, de 26 de diciembre, por el que se establece el Programa nacional de conservación, mejora y fomento de las razas ganaderas. •Simoës, J.A., Mira, J.F.F, Lemos, J.P.C., Mendes, I.A. (2005). *Livest Prod Sci*, 96: 157-163. •Varela, A. (2002). Estudio de las variables que afectan a la producción del tipo cebón. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte del proyecto MR331A financiado por FEADER y la Consellería de Medio Rural (Xunta de Galicia).

**EFFECT OF SLAUGHTER AGE ON CARCASS QUALITY FROM CACHENA BREED**  
**ABSTRACT:** The effect of slaughter age (16, 29, 38 and 52 months of age) on carcass quality from Cachena breed bovine animals was studied. 32 animals have been used (8 for each group) for studying on the right half carcasses characteristics. Increasing the animals slaughter age increases the conformation and fatness score. Regarding the morphometric parameters, older animals (38 and 52 months of age) showed increases on the leg lengths, thicknesses and depths measurements, and also on the compactness indexes compared to younger animals (16 and 29 months of age).

**Keywords:** Cachena breed, Carcass quality, morphometrics parameters

## CARACTERIZACIÓN DE CANALES DE TERNEROS FRISONES Y PIRENAICOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS DE IMAGEN

Mendizabal, J.A.<sup>1</sup>, Albertí, P.<sup>2</sup>, Martínez del Pino, L.<sup>1</sup>, Urrutia, O.<sup>1</sup>, Gómez, I.<sup>3</sup>, Arana, A.<sup>1</sup>, Beriain, M.J.<sup>1</sup> y Purroy, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigación Is-Food. ETSIA. Universidad Pública de Navarra. 31006 Pamplona. jamendi@unavarra.es

<sup>2</sup>CITA. Gobierno de Aragón. Avenida de Montañana 930, 50059 Zaragoza.

<sup>3</sup>Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Burgos.

### INTRODUCCIÓN

El método europeo oficial de clasificación de canales bovinas (reglamento CEE 1026/91) establece como criterios fundamentales de calidad la conformación y el engrasamiento. Son los clasificadores oficiales los que asignan una nota de conformación (escala S-E-U-R-O-P) y otra de engrasamiento (escala 1-5) a las canales bovinas. Esta asignación la realizan los clasificadores oficiales mediante apreciación visual apoyándose en patrones fotográficos. Estos últimos años se están desarrollando diferentes tecnologías (NIRS, Ultrasonidos, Análisis de imagen,...) con objeto de conseguir un mayor grado de objetividad y de precisión a la hora de determinar la calidad de las canales (Oliver et al., 2010; Craigie et al., 2012, Reis y Rosenvold, 2014). En este sentido, en el presente trabajo se utiliza la técnica de análisis de imagen para caracterizar canales de terneros de muy diferente morfología y aptitud. Por una parte, terneros de la raza Frisona de aptitud lechera y, por otra, terneros de raza Pirenaica mejorada para la producción de carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado 8 canales de  $230 \pm 5,6$  kg procedentes de terneros machos de raza Frisona sacrificados con  $297 \pm 3,5$  días de edad en el matadero Fribin de Binéfar (Huesca). Así mismo, 8 canales de  $348 \pm 4,3$  kg procedentes de terneros machos de raza Pirenaica sacrificados con  $389 \pm 4,4$  días en el matadero La Protectora de Pamplona. Tanto los terneros frisonos como los pirenaicos fueron sacrificados a los pesos y edades comerciales típicas de las respectivas razas. Tras el faenado, se asignó la nota oficial de conformación y engrasamiento a cada una de las canales. Así mismo, de cada una de ellas se tomó una fotografía (Cámara digital Olympus E-300) de la cara lateral izquierda, teniendo especial cuidado en que las fotografías se realizaran siempre en la misma posición y con idénticas condiciones de iluminación. Tras el despiece de la canal, se tomó una imagen del músculo *Longissimus thoracis* a la altura de la décima costilla. Mediante el programa de análisis de imagen *ImageJ* (National Institutes of Health, USA) se procesaron las imágenes para determinar las diferentes medidas morfológicas (Oliver et al., 2010), el grado de recubrimiento graso de la canal (González et al., 2013) y la medida del área y del grado de veteado del músculo *Longissimus thoracis* (Mendizabal et al., 2005). Mediante análisis de varianza con el paquete estadístico SPSS v.23 se estudiaron las diferencias entre los dos tipos de canales.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran las características de las canales de los terneros de raza Frisona y de raza Pirenaica sacrificados a pesos comerciales. En ella se observa que las canales de los terneros de raza Frisona fueron más alargadas ( $208$  vs  $188$  cm;  $P < 0,001$ ) y con una mayor superficie ( $11.161$  vs  $8.552$  cm<sup>2</sup>;  $P = 0,001$ ) que las de los terneros de raza Pirenaica. Si se comparan los resultados de la raza Frisona con los obtenidos por Albertí et al. (2005), con las principales razas autóctonas españolas de vacuno de carne, se confirma que las canales de esta raza lechera son más alargadas que las razas de aptitud carne españolas. Sin embargo, las canales de los terneros pirenaicos mostraron un mayor índice de compacidad ( $0,93$  vs  $0,56$  kg/cm;  $P < 0,001$ ) y un mayor área del músculo *Longissimus thoracis* ( $126$  vs  $81$  cm<sup>2</sup>;  $P < 0,001$ ), debido a un mayor desarrollo muscular de las mismas y a una menor longitud, lo que se corresponde con una raza mejorada para la producción de carne como es la Pirenaica (Figura 1). Esto se refleja también en la nota de conformación,



presentando los terneros de raza Pirenaica una conformación muy superior a la que presentaron los de raza Frisona (11,8 vs 4,8;  $P < 0,001$ ).

En cuanto al engrasamiento, la nota dada por los clasificadores fue la misma para ambos grupos de canales (nota 2 de engrasamiento) pero al determinar el grado de recubrimiento de las canales mediante análisis de imagen se obtuvo una tendencia a la significación estadística, de manera que las canales de los terneros de raza Frisona tendieron a estar más cubiertas que las de raza Pirenaica (66 vs 61%;  $P = 0,10$ ). Este hecho podría estar en relación con la mayor precocidad de la raza Frisona si bien la diferencia en la edad de sacrificio de los terneros (3 meses más jóvenes los frisonos) podría ser la causa de que no hubiera mayores diferencias entre razas en el grado de recubrimiento de las canales. Al comparar el grado de veteado o infiltración grasa de la carne de los terneros de las dos razas cabe destacar que no se observaron diferencias significativas y que los valores obtenidos fueron muy bajos (1,20 y 1,05 % para los frisonos y pirenaicos, respectivamente). Dado que el depósito graso intramuscular es de desarrollo más tardío que el subcutáneo (Kempster, 1980-81), posiblemente a la edad a la que se sacrificaron estos terneros todavía la deposición de grasa intramuscular se encontraría en sus estadios iniciales.

En definitiva, se puede concluir que las canales de terneros de raza Frisona y de raza Pirenaica sacrificados a pesos y edades comerciales presentan diferencias entre ellas, siendo de mucha mayor significación las referidas a la conformación ya que en el engrasamiento no hubo apenas diferencias.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí, P., Ripoll, G., Goyache, F., Lahoz, F., Olleta, J.L., Banea, B., Sañudo, C. 2005. Carcass characterisation of seven Spanish beef breeds slaughtered at two commercial weights. *Meat Sci.* 71: 514-521.
- Craigie, C.R., Navajas, E.A., Purchas, R.W., Maltin, C.A., Bünger, L., Hoskin, S.O., Ross, D.W., Morris, S.T., Roehe, R. 2012. A review of the development and use of video image analysis (VIA) for beef carcass evaluation as an alternative to the current EUROP system and other subjective systems. *Meat Sci.* 92: 307-318.
- González, L., Mendizabal, J.A., Albertí, P., Ripoll, G., Purroy, A. 2013. ITEA vol. extra, Tomo II : 643-645.
- Kempster, A.J. 1980-81. Fat partition and distribution in the carcasses of cattle, sheep and pigs: a review. *Meat Sci.* 5: 83-98.
- Mendizabal, J.A., Purroy, A., Indurain, G., Insasusti, K. 2005. Monografías INIA : serie Ganadera, 3 : 251-256.
- Oliver, A., Mendizabal, J.A., Ripoll, G., Albertí, P., Purroy, A. 2010. Predicting meat yields and commercial meat cuts from carcasses of young bulls of Spanish breeds by the SEUROP method and an image analysis system. *Meat Sci.* 84: 628-633.
- Reis, M.M., Rosenvold, K. 2014. Early on-line classification of beef carcasses based on ultimate pH by near infrared spectroscopy. *Meat Sci.* 96: 862-869.

**Agradecimientos:** este trabajo forma parte del proyecto de investigación “Gestión de la calidad mínima garantizada y de la vida útil de distintas piezas de carne de vacuno y su relación con marcadores moleculares. RTA2013-00046-C03-03”, financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

**Tabla 1.** Parámetros de la canal de terneros de razas Frisona (FRI) y Pirenaica (PIR)

	FRI	PIR	SEM	P
Edad (d)	296,8	389,1	3,95	<0,001
Peso canal fría (kg)	230,5	347,6	4,96	<0,001
Nota conformación (1-18)	4,8	11,8	0,16	<0,001
Nota engrasamiento (1-15)	5,1	5,1	0,18	0,999
Longitud canal (cm)	207,8	187,7	3,07	<0,001
Área canal (cm <sup>2</sup> )	11160,9	8551,5	581,60	0,001
Índice compacidad (kg/cm)	0,56	0,93	0,019	<0,001
Recubrimiento graso (%)	65,9	61,3	1,88	0,103
Área <i>Longissimus</i> (cm <sup>2</sup> )	80,5	125,7	4,09	<0,001
Grado de veteado (%)	1,20	1,05	0,104	0,344



**Figura 1.** Canal de ternero de raza Frisona (izquierda) y Pirenaica (derecha).

### **CARCASS CHARACTERIZATION OF FRIESIAN AND PIRENAICA BREED YOUNG BULLS BY AN IMAGE ANALYSIS SYSTEM**

**ABSTRACT:** The conformation and fatness are important factors affecting the carcass quality of young bulls. New technologies such as image analysis have been developed to increase the objectivity of carcass classification system. In the present work, carcass characterization of Friesian (n = 8) and Pirenaica (n = 8) young bulls was studied by Image Analysis system. The results showed that the carcasses of Friesian young bulls were more elongated and had more area than those of the Pirenaica breed ( $P < 0.001$ ). The compactness index and the area of the *longissimus thoracis* muscle was higher in the Pirenaica young bulls compared to Friesian bulls ( $P < 0.001$ ), which reflects the higher conformation of this breed. The Friesian young bulls tended to show a higher fatness than the Pirenaica breed (65.9 vs 61.3%,  $P = 0.10$ ). However, there were no significant differences between breeds in the marbling degree ( $P = 0.33$ ).

**Keywords:** carcass, image analysis, young bulls

## CELULARIDAD DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DE TERNEROS FRISONES Y PIRENAICOS

Urrutia, O., Martínez del Pino, L., Landa, N., Alfonso, L., Arana, A., Soret, B., Mendizabal, J.A. y Purroy, A.

Instituto de Investigación IS-FOOD. ETSIA. Universidad Pública de Navarra. 31006 Pamplona. olaia.urrutia@unavarra.es

### INTRODUCCIÓN

La calidad de la carne está determinada por diversos factores como el sistema de explotación, la raza, el tipo de músculo o la cantidad de grasa (Muriel et al., 2002). Este último factor tiene influencia directa sobre la jugosidad, el flavor, textura, etc. de la carne (Hocquette et al., 2010; Muchenje et al., 2009).

El desarrollo del tejido graso se produce por la hiperplasia o proliferación celular y/o por la hipertrofia o aumento del tamaño de los adipocitos (Bonnet et al., 2010). En ocasiones, la simultaneidad de ambos mecanismos hace que puedan convivir poblaciones de adipocitos en distintos estados de proliferación y diferenciación celular y, como consecuencia, las distribuciones del tamaño de las células adiposas pueden no ajustarse a la distribución normal, dando lugar a distribuciones bimodales.

En el presente trabajo se aborda el estudio del tamaño de los adipocitos de la grasa intramuscular en terneros de las razas Frisona y Pirenaica. Para ello se eligieron dos músculos representativos de dos tipos de metabolismo muscular: el *Longissimus thoracis*, como representante del metabolismo glicolítico, y el *Masseter*, de metabolismo fundamentalmente oxidativo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 8 terneros machos de raza Frisona de  $230 \pm 5,6$  kg de peso canal y  $297 \pm 3,5$  días de edad y 8 terneros machos de raza Pirenaica de  $348 \pm 4,3$  kg de peso canal y  $389 \pm 4,4$  días de edad, sacrificados en el matadero Fribin de Binéfar (Huesca) y La Protectora de Pamplona, respectivamente. En ambos casos los terneros se sacrificaron a los pesos y edades comerciales típicas de estas dos razas bovinas. Tras el sacrificio, se tomaron muestras del músculo *Longissimus thoracis* de la canal izquierda a la altura de la 10ª costilla y, una vez separada la cabeza de la canal, del músculo *Masseter*, y fueron conservadas en solución Tyrode a 39°C. Para la determinación del tamaño de los adipocitos las muestras fueron digeridas con colagenasa (Robdell, 1964). Se realizaron las preparaciones microscópicas y las imágenes obtenidas al microscopio fueron digitalizadas para determinar el diámetro de los adipocitos mediante la técnica de análisis de imagen (Soret et al., 2016). El tratamiento estadístico de los datos se realizó utilizando el programa Adip SD que permite describir la unimodalidad o bimodalidad de la distribución de los adipocitos (Alfonso y Mendizabal, 2016).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra la distribución del diámetro de los adipocitos del músculo *Longissimus thoracis* según su tamaño. Las pruebas estadísticas de contraste de unimodalidad indican que, en las dos razas estudiadas, la distribución del tamaño de los adipocitos intramusculares fue unimodal. En la Figura 1 se observa que tanto en la raza Frisona como en la Pirenaica hay un predominio de adipocitos con valores de diámetro muy pequeños, siendo la media de  $19,27 \pm 0,31$  y  $20,27 \pm 0,26$   $\mu\text{m}$ , respectivamente. Esta mayor cantidad de adipocitos de pequeño tamaño estaría indicando que el desarrollo de este depósito graso está teniendo lugar principalmente por la hiperplasia o proliferación celular, lo cual se corresponde con estadios iniciales de desarrollo (Bonnet et al., 2010; Lawrence y Fowler, 2002). Estos resultados estarían de acuerdo con la consideración del depósito intramuscular como un depósito de desarrollo tardío (Baik et al., 2014; Hocquette et al., 2010). En terneros de raza Pirenaica, y en la misma línea que los resultados del presente trabajo, Soret et al. (2016) constataron la unimodalidad de la distribución del diámetro de los adipocitos del depósito graso intramuscular en el músculo *Longissimus thoracis*.

En la Figura 2 se representa la distribución del tamaño de los adipocitos del músculo *Masseter*. Como se observa, en ambas razas la distribución parece bimodal (valores de Coeficiente de Bimodalidad, *BC*, para la raza Frisona 0,716 y 0,662 para la raza Pirenaica; *BC* > 0,555 indica ausencia de unimodalidad). En este músculo se observa una población mayoritaria de adipocitos de pequeño tamaño con modas de 12,42 y 12,45  $\mu\text{m}$  y una segunda población cuyas modas son de 51,08 y 51,70 micras de diámetro, para los terneros de raza Frisona y raza Pirenaica respectivamente, en los dos casos. Estos resultados indicarían el predominio del proceso de hiperplasia, representada por una mayor proporción de adipocitos de pequeño tamaño, y un comienzo del proceso de la hipertrofia celular, caracterizado por la presencia de adipocitos de un mayor tamaño (comprendido entre 45 y 55 micras de diámetro).

El patrón observado en la distribución del tamaño de los adipocitos en el músculo *Longissimus thoracis* y *Masseter* de los terneros Frisones y Pirenaicos podría estar relacionado con la función y localización de los músculos y con el tipo predominante de metabolismo muscular. El músculo *Masseter* de los rumiantes, que mastican de forma lenta y continua, presenta un metabolismo oxidativo y está compuesto por fibras de contracción lenta, mientras que en el músculo *Longissimus thoracis* predomina el metabolismo de tipo glicolítico, con propiedades contráctiles más rápidas (Joo et al., 2013; Hocquette et al., 2001). Asimismo, el metabolismo de los músculos oxidativos puede estar asociado a un mayor contenido de lípidos que los músculos de metabolismo glicolítico, ya que obtienen la energía a partir de la oxidación de los ácidos grasos (Muriel et al., 2002).

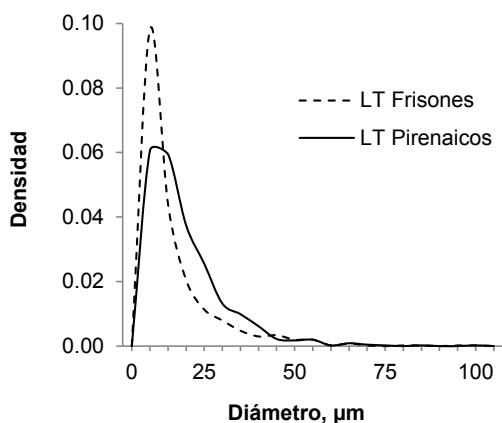
En cuanto a la comparación entre genotipos, no se han encontrado diferencias en el desarrollo del tejido graso. Aunque se considera que la Frisona es de desarrollo más precoz que la Pirenaica, el sacrificio de los terneros frisones a una edad más temprana que los pirenaicos (10 vs 13 meses) ha podido ser la causa de la ausencia de diferencias en el desarrollo de la grasa intramuscular.

De todo ello se podría concluir que el músculo *Masseter* presentaría un desarrollo más precoz que el *Longissimus thoracis*, lo cual se manifiesta en una simultaneidad de los procesos de hiperplasia e hipertrofia celular en el *Masseter* y de únicamente el proceso de hiperplasia en el *Longissimus thoracis*.

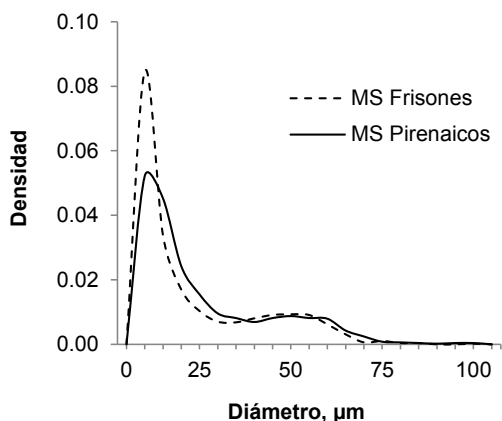
#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfonso, L. & Mendizabal, J. A. 2016. Información Técnica Económica Agraria. 112: 147-161.
- Baik, M., Jeong, J. Y., Vu, T.-T. T., Piao, M. Y. & Kang, H. J., 2014. Livestock Science. 168: 168-176.
- Bonnet, M., Cassar-Malek, I., Chilliard, Y. & Picard B. 2010. Animal. 4: 1093-1109.
- Hocquette, J. F., Gondret, F., Baéza, E., Médale, F., Jurie, C. & Pethick, D. W., 2010. Animal 4: 303-319.
- Hocquette, J. F., Graulet, B., Vermorel, M. & Bauchart, D. 2001. British Journal of Nutrition. 86: 433-441.
- Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H. & Ryu, Y. C. 2013. Meat Science. 95: 828-826.
- Lawrence, T. L. J. & Fowler, V. R., 2002. Tissues: Basic Structure and Growth, en: Lawrence, T.L.J., Fowler, V.R. (Eds.). Growth of Farm Animals. CABI Publishing, London, UK, pp. 21-83.
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, A. & Raats, J. G. 2009. Food Chemistry. 112: 279-289.
- Muriel, E., Antequera, T. & Ruiz, J. 2002. 3: 241-247.
- Rodbell, M. J. 1964. Journal of Biological Chemistry. 239: 375-380.
- Soret B., Mendizabal J. A., Arana A. & Alfonso L. 2016. Animal. 10: 2018-2026.

**Agradecimientos:** este trabajo forma parte del proyecto de investigación “Gestión de la calidad mínima garantizada y de la vida útil de distintas piezas de carne de vacuno y su relación con marcadores moleculares. Metabolismo y expresión génica del tejido graso RTA2013-00045-CO3-03” financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).



**Figura 1.** Distribución del diámetro de los adipocitos del músculo *Longissimus thoracis* de terneros Frisones ( $n = 8$ ) y Pirenaicos ( $n = 8$ ).



**Figura 2.** Distribución del diámetro de los adipocitos del músculo *Masseter* de terneros Frisones ( $n = 8$ ) y Pirenaicos ( $n = 8$ ).

### INTRAMUSCULAR FAT CELLULARITY IN FRIESIAN AND PIRENAICA BEEF CATTLE

**ABSTRACT:** The aim of this work was to study the cellularity of intramuscular adipose tissue of *Longissimus thoracis* (LT) and *Masseter* (MS) muscles in Friesian ( $n = 8$ ) and Pirenaica ( $n = 8$ ) young bulls, slaughtered at commercial weights and age. The adipocyte size distributions in LT muscle in both breeds were unimodal, which showed a largest proportion of adipocytes with a mean size of  $19.27 \pm 0.31$  and  $20.27 \pm 0.26 \mu\text{m}$  in Friesian and Pirenaica breeds, respectively. This suggest that the development of this depot may be mainly due to hyperplasia, which corresponds to early phases of fat accretion, and concurs with the fact that intramuscular fat deposition is late-developing. In the MS muscle of both breeds, the adipocyte size distributions were bimodal (Bimodality Coefficient, BC, values  $> 0.555$ ), and a predominant population of small adipocytes was observed, suggesting an important hyperplastic component in the development of this fat depot, and a second population of  $45 - 55 \mu\text{m}$ , which may indicate also the presence of a hypertrophy. Simultaneous occurrence of hyperplasia and hypertrophy in MS and only hyperplasia in LT, probably points out that adipose tissue of MS muscle develops earlier than LT muscle.

**Keywords:** cellularity, intramuscular adipocytes, beef cattle

## **CARACTERIZACIÓN DE CANALES DE POTRO DE RAZA BURGUETE MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN**

Tabar, F., Mendizabal, J.A., Sarriés, M.V., Insausti, K. y Purroy, A.  
Instituto de Investigación Is-Food. ETSIA. Universidad Pública de Navarra. 31006 Pamplona.  
jamendi@unavarra.es

### **INTRODUCCIÓN**

En la última década se ha generado un crecimiento importante del sector equino en España, pasando de 5.070 toneladas de carne producidas en el año 2005 a las 12.940 correspondientes al 2015. Navarra es actualmente la Comunidad Autónoma española que mayor número de potros sacrifica para producción de carne, alrededor de 12.000 al año, destinándose la mayor parte de ellos a la exportación. Esto supone un 25,42% de la producción total de España (MAGRAMA, 2016). Además se cuenta con 2 razas equinas propias, la Jaca Navarra y la Burguete, esta segunda muy mejorada para carne (Villanueva et al., 2009).

Las canales equinas, a diferencia de los que ocurre con otras especies ganaderas como el vacuno, ovino o porcino, carecen de un método oficial de clasificación, lo que conlleva una mayor dificultad a la hora de determinar la calidad de las mismas antes de proceder a su comercialización. Únicamente, en el caso de Francia, se ha trabajado en esta línea estableciendo unos patrones fotográficos basados en los criterios de conformación y engrasamiento (ONIVEB, 1979), a semejanza de lo que clásicamente se viene realizando en las de la especie vacuna. En este sentido, tratando de avanzar en el proceso de elaboración de una propuesta de sistema de clasificación de canales equinas, en el presente trabajo se ha llevado a cabo de una forma objetiva y cuantificable la caracterización de las canales de raza Burguete mediante la técnica de análisis de imagen.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se han utilizado 100 potros de raza Burguete, que habían sido criados con sus madres hasta los 6-7 meses de edad; posteriormente, se alimentaron con pastos naturales y, finalmente, con pienso durante los 2-3 meses previos al sacrificio, que tuvo lugar con 16-18 meses de vida. El sacrificio se llevó a cabo en el matadero La Protectora de Pamplona y la carne obtenida se comercializó bajo la marca *Potro de Origen de los Valles Navarros*, constituida en el año 2015.

Tras el sacrificio, se realizó una fotografía de la canal izquierda de cada uno de los potros, teniendo especial cuidado en que las fotografías se realizaran siempre en la misma posición y con idénticas condiciones de iluminación. Sobre las imágenes de las canales de potro se aplicó la técnica de Análisis de Imagen con el programa informático *ImageJ* (National Institutes of Health, USA). Sobre cada canal se realizaron las siguientes medidas: longitud, compacidad, profundidad de la pierna, profundidad del pecho, perímetro y área (Figura 1).

Para la medida del engrasamiento de la canal se determinó la proporción de superficie recubierta de grasa. El programa de análisis de imagen, basándose en una escala de 256 niveles de gris (0, negro puro; 255, blanco puro) es capaz de discriminar las áreas de grasa (nivel de gris alto) de las áreas de músculo (nivel bajo de gris) (Figura 2). Esto se realizó para cada una de las canales, siendo un paso clave fijar el umbral correcto para cada una de las imágenes (González et al., 2013).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos referentes a las medidas morfométricas y al grado de recubrimiento graso de la canal. Se puede destacar que las canales de potros de raza Burguete sacrificados con una edad media de 529 días y un peso de la canal de 214,8 kg presentaron una longitud media de 195,8 m y un índice de compacidad de 1,1 kg/cm. Estos resultados presentan diferencias con los valores obtenidos anteriormente, también en potros de raza Burguete, por Juárez et al. (2009) y Sarriés y Beriain (2005) que obtuvieron unos valores menores de longitud y mayores de compacidad de la canal, si bien los puntos anatómicos de referencia utilizados para su cálculo no fueron exactamente los mismos que en el presente trabajo. También difieren de los obtenidos por Franco et al. (2011) en una muestra de canales de potro Gallego de Monte, raza que es de menor alzada

y desarrollo muscular que la raza Burguete, la cual ha sido mejorada para la producción de carne. Si realizamos la comparación de los resultados obtenidos en el presente trabajo con los obtenidos en canales de terneros (Mendizabal et al., 2017), se puede constatar que la longitud de la canal de potro de raza Burguete sacrificado con 17 meses es muy próxima a la de una canal de ternero de raza Pirenaica sacrificado con 13 meses de edad (195,9 vs 187,7 cm, respectivamente) y que la compacidad de ambas es también muy próxima (1,1 vs 0,93 kg/cm, respectivamente). Por último, en cuanto al recubrimiento graso de la canal de potro de raza Burguete los valores obtenidos (77,0%) son superiores a los que muestran las canales de terneros de raza Pirenaica (61,3%) y de terneros de raza Frisona (65,9%) (Mendizabal et al., 2017).

En definitiva, se puede concluir que los potros de raza Burguete dan canales compactas, de buena conformación y con un grado de recubrimiento graso elevado. Así mismo, que la técnica de análisis de imagen permite realizar de una forma sencilla y rápida medidas objetivas y precisas de las canales.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Franco, D., Fernández, M., Rodríguez, E., García, L., Lorenzo, J.M., 2011. La calidad de la carne de potro Gallego de Monte en diferentes explotaciones. ITEA, 60\_ 389-392.
- González, L., Mendizabal, J.A., Albertí, P., Ripoll, G., Purroy, A. 2013. Determinación del grado de engrasamiento de canales bovinas mediante análisis de imagen. ITEA vol. extra, Tomo II : 643-645.
- Juárez, M., Polvillo O., Gómez M.D., Alcalde M.J., Romero F., Valera M. 2009. Meat Science 83: 224-228.
- Mendizabal, J.A., Albertí, P., Martínez del Pino, L., Urrutia, O., Gómez, I., Arana, A., Beriain, M.J., Purroy, A., 2017. Caracterización de canales de terneros frisonas y pirenaicas mediante la técnica de análisis de imagen. ITEA (enviado).
- Magrama, 2016. El sector equino en cifras. Principales indicadores económicos en 2015.
- ONIVEB, 1979. Catalogue de Classement des Équidés (en carcasse). Office National Interprofessionnel du Betail et des Viandes, Tour Maine-Montparnasse, 33, avenue du Maine, 75755 Paris Cedex 15. France.
- Sarriés M.V., Beriain M.J. 2005. Meat Science 70: 141-152.
- Villanueva M., Pérez de Muniaín, A., Eguinoa P. 2009. Cebo de potros lechales y quincenos. Navarra Agraria Mayo-Junio: 41-44

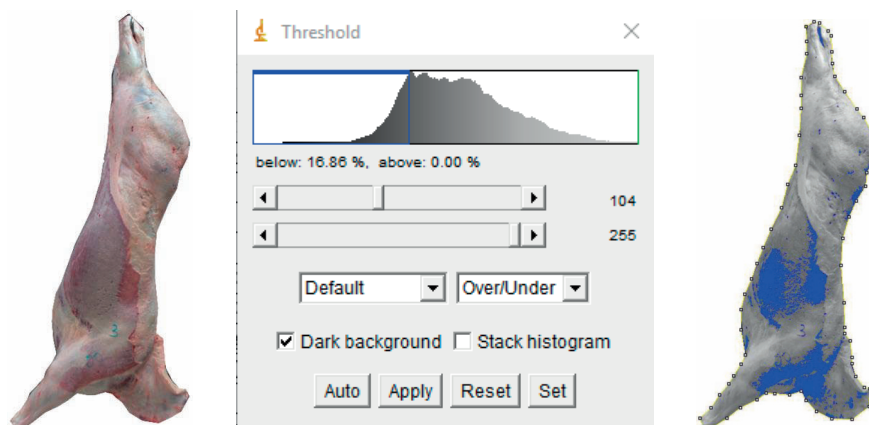
**Agradecimientos:** el presente trabajo forma parte del proyecto de investigación “Caracterización de las canales de potro mediante Análisis de Imagen (PI022 POTRO)” financiado por el departamento de Desarrollo Económico del Gobierno de Navarra en su convocatoria de 2016.

**Tabla 1.** Parámetros de la canal de potros de raza Burguete

	Media	Máximo	Mínimo	s.d.	C.V.(%)
Peso canal (kg)	214,8	329,0	78,5	54,38	25,3
Longitud (cm)	195,8	233,0	139,0	13,82	7,1
Compacidad (kg/cm)	1,1	1,5	0,5	0,23	20,5
Profundidad pierna (cm)	41,4	53,0	31,0	4,24	10,2
Profundidad pecho (cm)	55,1	67,0	40,0	4,82	8,7
Perímetro (cm)	553,4	663,0	415,0	35,53	6,4
Área (cm <sup>2</sup> )	8556	12458	4710	1163,4	13,6
Recubrimiento graso (%)	77,0	89,0	61,2	6,28	8,2



**Figura 1.** Medida de la longitud de la canal, profundidad de la pierna y profundidad del pecho



**Figura 2.** Medida del grado de recubrimiento grasa de la canal

## FOAL CARCASS CHARACTERIZATION OF BURGUETE BREED BY AN IMAGE ANALYSIS SYSTEM

**ABSTRACT:** Equine carcasses do not have an official method for its classification, unlike other livestock species where it is easier to determinate the quality of the carcass before its commercialization. New technologies like image analysis could be a useful tool in order to create an official method for the classification of equine carcasses. In this work, 100 Burguete foals were slaughtered and a digital picture of each of the carcasses was taken. Using image analysis system some morphometric measures were taken: carcass weight, carcass length, compactness, chest depth, leg depth, perimeter and area. Apart from conformation, the amount and distribution of subcutaneous fat is an important factor affecting the carcass quality of foals. Therefore, this parameter was measured by image analysis system, showing for each case the percentage of subcutaneous fat. In this work the main measures to classify foal carcasses have been collected, being possible to use this information as a beginning to create an official method for its classification.

**Keywords:** carcass conformation, carcass fatness, foal, image analysis



## EVALUACIÓN DE CANALES DE LA RAZA VACUNA MINHOTA

Serpa, R.M.P.<sup>1</sup>, Cerqueira, J.O.L.<sup>1,2</sup>, Cantalapiedra J.<sup>3</sup>, Lorenzo J.M.<sup>4</sup> y Araújo, J.P.<sup>1,5</sup>  
<sup>1</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. Email: [pedropi@esa.ipv.c.pt](mailto:pedropi@esa.ipv.c.pt)

<sup>2</sup>Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal.

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

<sup>4</sup>Fundación Centro Tecnológico de la Carne. Avenida de Galicia, nº 4, Parque Tecnológico de Galicia. San Cibrao das Viñas, 32900 Ourense. España.

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

### INTRODUCCIÓN

La canal es la parte más importante de los productos que se obtienen en el matadero de los animales de abasto, dado que representa el mayor porcentaje del peso vivo y del precio obtenido por su comercialización. Teniendo un interés especial por constituir, hoy en día, la unidad de transacción en el mercado de la carne entre el ganadero y el matadero y entre este y la red de comercialización (Carballo, 2003). En Portugal la producción de carne de vacuno en el año 2015 ha sido de 88.645 toneladas, correspondiente al sacrificio de 363.205 cabezas, representando los terneros un 33,9% del total de sacrificios, los novillos un 34,7% y las vacas un 19,5% (INE, 2016). El peso vivo y peso canal de un animal varían con la edad (Carballo, 2003, Lucero-Borja et al., 2014). La raza Minhota es una de las 17 razas autóctonas vacunas portuguesas localizadas principalmente en el Noroeste de Portugal. Su principal aptitud es la producción de carne (Araújo et al., 2016). El objetivo de este estudio fue el dar a conocer el desglose de la producción de carne de la raza Minhota centrándose en las categorías de canales producidas, su conformación y estado de engrasamiento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se dispuso dentro del censo de sacrificios nacional de los datos correspondientes a la raza Minhota (peso canal, edad de sacrificio, sexo, categoría, conformación y estado engrasamiento de la canal) entre 1 de enero de 2014 y 31 de diciembre de 2015, facilitados por el *Instituto de Financiamento da Agricultura e Pescas (IFAP) del Ministerio da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas*. Las canales han sido clasificadas según el Reg CE nº 1183/2006 de clasificación de vacuno pesado: A. Machos sin castrar de menos de dos años; B. Otros machos sin castrar; C. Machos castrados; D. Hembras que hayan parido; E. Otras hembras. Las clases de Conformación adoptadas han sido: Superior (S), Excelente (E), Muy buena (U), Buena (R), Menos buena (P), y Mediocre (O). Para el estado de engrasamiento se empleó la escala de: No graso (1), Poco cubierto (2), Cubierto (3), Graso (4) y Muy graso (5). Se ha recurrido al Reg CE Nº 700/2007, que clasifica los animales con menos 12 meses en dos categorías, V y Z. A partir de un número inicial de 9.178 canales, se ha efectuado una edición de los datos, resultando en 9.005 canales (5.265 de animales con menos de 12 meses de edad y 3.740 adultos).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de 9.005 animales sacrificados, destaca la categoría "V" (39,0%), seguido de la "D" (22,7%) y la "Z" (19,5%). Las diferencias de peso entre terneros blancos y terneros se justifican por las diferencias de edad, 6,1 meses y 9,3 meses respectivamente (Tabla 1). La edad y peso vivo son factores que se usan indistintamente ya que las condiciones normales están estrechamente relacionadas tal y como muestran Preston & Willis (1970), y García de Siles & Gálvez (1976) quienes encontraron que el peso del animal y de su canal aumentan linealmente con la edad. En animales de edad inferior a 12 meses se obtuvieron pesos canal V = 153,5±30,72 kg y Z = 186,2±36,63 kg. La edad media de sacrificio en V fue de 6,1±0,91 meses y en Z de 8,8±1,02 meses (Tabla 1). Para la categoría V y Z se obtuvieran pesos aproximados a Araujo et al. (2011), con la misma raza. Sin embargo, en el presente estudio los animales de la categoría Z han sido sacrificados a edades inferiores (aproximadamente 3 semanas). En la categoría A los pesos son ligeramente más bajos que los obtenidos por Carballo et al. (2005) y Araujo et al. (2011), pero con edades medias al sacrificio de 19,0 meses en estos últimos. Por el contrario, en la categoría B los pesos han sido superiores a Carballo et al. (2005) y similares en peso y edad a Araujo et al. (2011). Con respecto a la categoría C, los resultados fueron similares a los obtenidos por los autores anteriormente

mencionados. Sin embargo, en la categoría D los pesos obtenidos fueron mayores. Se sacrifican animales, con menos de 12 meses, durante todo el año garantizando la presencia constante de la carne, sin recurrir a procesos prolongados de conservación (Figura 1). El porcentaje de machos sacrificados en las categorías V y Z es superior, en parte justificada por el hecho de que las hembras se destinan para recría, para reproductoras y con pesos significativamente superiores en los machos ( $P < 0,001$ ) (Tabla 2). En la conformación de las canales, se destacan en términos generales: Ausencia de canales con conformación "S"; reducido porcentaje de "E"; y relieve para las clasificaciones "R" y "O" en todas las categorías, con la clasificación "R" más representativa en los machos y "O" en las hembras (Tabla 3). Para el estado de la grasa, domina el estado "Poco cubierto" y "Cubierto" para el total de las canales (Tabla 4). La categoría A presenta valores cuantitativos similares a los datos del GPP (2014), predominando el estado "Poco cubierto". En las categorías C y D, con estados de engrasamiento superiores, se evidencia el estado "Cubierto". Tal constatación se justifica porque las hembras presentaren un potencial de crecimiento inferior que los machos, pero un desarrollo más rápido del tejido adiposo (Micol et al., 1993), por lo que se engrasan a pesos más bajos que los machos castrados, que a su vez lo hacen a pesos más ligeros que los machos enteros (Berg & Butterfield, 1978) proporcionando en consecuencia en las hembras canales con mayor nivel de engrasamiento que los machos castrados y enteros.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, J.P., Dores, J.L., Vaz, P.S., Cerqueira, J.O. & Cantalapiedra, J. 2011. XIV Jornadas Prod. Anim. 55-57.
- Araujo, J.P., Lorenzo, J.M., Cerqueira, J., Vazquez, J.A., Pires, P., Cantalapiedra, J. & Franco, D. 2016. Animal Prod Sci. 56: 2086-2092
- Berg, R.T. & Butterfield, R.M. 1978. Nuevos conceptos sobre el desarrollo del ganado vacuno. Acribia.
- Carballo J.A. 2003. Tesis doctoral, USC.
- CE Reg 1183/2006
- CE Reg 700/2007
- GPP, 2014. Anuario Pecuário.
- Carballo, J.A., Araújo, J.P., Machado, M., Pires, J., Cantalapiedra, J., Moreno T., Inglesias, A. & Sánchez, L. 2005. XV Cong. Zootec. APEZ. 579-584.
- García de Siles, J.L. & Gálvez, J.F. 1976. Zoot. 7-9: 300-310.
- Lucero-Borja, J., Pouzo, L.B., De La Torre, M.S., Langman, L., Carduza, F., Corva, P.M., Santini, F.J. & Pavan. E. 2014. Livestock Sci. 163:140-49.
- Micol D., Robelin J. & Geay, Y. 1993. INRA, Prod. Anim. 6(1): 61-89.
- Preston, T.R. & Willis M.B. 1970. Intensive Beef Production.

**Agradecimientos:** Al Instituto de Financiamento da Agricultura e Pescas (IFAP) del MADRP por la facilitación de los datos de sacrificio de la raza Minhota.

**Tabla 1.** Peso canal y edad de sacrificio de la raza Minhota por categorías ( $n = 9.005$ ).

Categoría	Nº	%	Peso canal (kg)			Edad al sacrificio (meses)	
			Media ± Des. tip.	Máx.	Min.	Media ± Des. Tip.	
V	3510	39,0	153,5±30,72	250	57	6,1±0,91	
Z	1755	19,5	186,2±36,63	293	73	9,3±1,06	
A	706	7,8	289,2±72,10	544	84	18,3±3,37	
B	524	5,8	391,6±92,28	758	136	31,8±11,59	
C	151	1,78	388,5±104,60	685	187	32,1±13,45	
D	2049	22,8	323,1±62,55	544	136	113,2±56,64	
E	310	3,4	225,5±47,43	395	84	18,2±3,72	

**Tabla 2.** Peso canal y edad al sacrificio por género de las categorías V y Z.

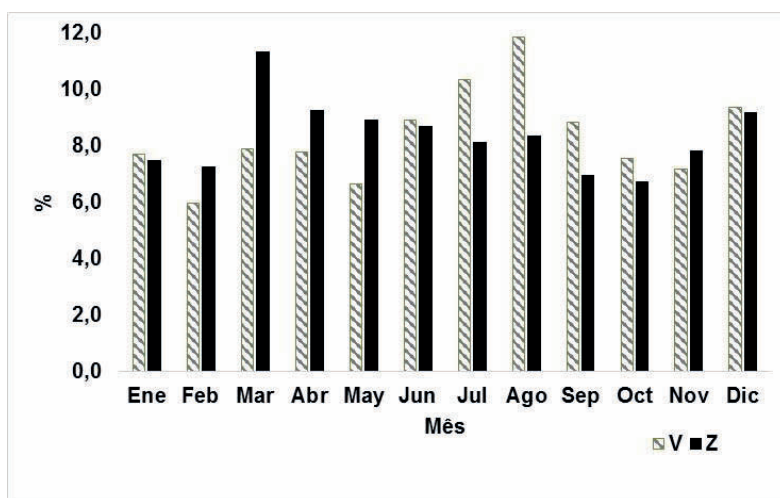
	V – Ternera Blanca			Z- Ternera		
	Machos	Hembras	Valor - P	Machos	Hembras	Valor - P
	n = 2.124	n = 1.386		n = 999	n = 756	
<b>Peso (kg)</b>	161,3±31,69	141,5±24,79	<0,001	197,1±37,31	171,9±30,30	0,073
<b>Edad (meses)</b>	6,1±0,91	6,2±0,88	<0,001	8,8 ±0,99	8,9±1,06	<0,001

**Tabla 3. Conformación de las canales por categoría en la raza Minhota (n=3.704).**

Conformación / Categoría	A	B	C	D	E
S	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
E	0,3	0,4	0,0	0,0	0,0
U	6,5	9,0	5,3	2,8	2,3
R	47,9	56,1	72,2	35,2	28,7
O	40,7	32,3	21,9	51,0	59,0
P	4,7	2,3	0,7	11,0	10,0

**Tabla 4. Engrasamiento de canales por categoría en la raza Minhota (n=3.704).**

Engrasamiento / Categoría	A	B	C	D	E
1. No graso	6,9	6,7	0,0	3,2	7,4
2. Poco cubierto	52,5	39,7	9,3	16,5	41,9
3. Cubierto	39,0	42,0	57,0	48,1	44,2
4. Graso	1,6	10,5	25,8	27,2	6,1
5. Muy graso	0,0	1,1	7,9	5,0	0,3



**Figura 1. Distribución de sacrificios en la raza Minhota (categoría V y Z)**

### MINHOTA CATTLE BREED CARCASSES EVALUATION

**ABSTRACT:** The Minhota is an autochthonous cattle breed located in the northern region of Portugal, whose main aptitude is meat production. Data of 9.005 carcasses of Minhota breed animals were used in this study, to describe Minhota's meat production. The V - veal (39.0%), Z - beef (19.5%) and D - female that have calved (22.8 %) represent the most significant categories. The effect of sex in the carcass weight V and Z were evaluated with an ANOVA using SPSS v22.0 (IBM). In both categories males have higher weights than females. The carcass weight by category was V = 153.5±30.72 kg and Z = 186.2±36.63 kg with a slaughter age of 6.1±0.91 and 9.3±1.06 months, respectively. In the categories V and Z, the slaughter was carried out throughout the year, with some heterogeneity. The SEUROP conformation score, highlights: Conformations "R - Good" more representative in male's categories (A, B and C) and "O - Fair" in female's (D and E). Regarding the degree of fat cover, in A category predominates the state "2. Slight" with 52.5%, and in the C and D "3. Average", with respectively 57.0% and 48.1% of the carcasses, respectively.

**Keywords:** Carcass weight; Carcass classification; Categories; Local Breed.

## EFECTO DE LA EDAD DE SACRIFICIO EN LA CANAL Y EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE DE MACHOS CASTRADOS DE RAZA FRISONA

Crecente<sup>1</sup>, S., Calvo, C., Díaz, N. y Díaz, D.

Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. Carretera Betanzos-Santiago km7 - 15318 - Abegondo (A Coruña). \*santiago.crecente.campo@xunta.es

### INTRODUCCIÓN

Los terneros de la raza Holstein-friesian suponen un problema para las ganaderías de leche, pues el precio de venta es tan bajo que, lo más frecuente, es venderlos lo antes posible con el mínimo gasto para no perder dinero en su cría. Su destino son cebaderos intensivos, que no pueden invertir mucho dinero en la compra del animal, pues el bajo rendimiento en canal y los elevados índices de conversión de esta raza hacen que sea muy difícil competir en precio de venta con las razas de orientación cárnica.

Una alternativa al cebo intensivo para producir canales tipo 'ternera' es criar los animales para producir canales 'tipo buey', que proporcionan una carne muy apreciada por el consumidor y cada vez más demandada. Esta carne se caracteriza por presentar un elevado grado de infiltración grasa (marmoleo), lo que le confiere unas propiedades organolépticas muy valoradas por su relación con la palatabilidad de la carne (Savell et al., 1987).

Se sabe que la castración incrementa el contenido de grasa de la canal, algo ya demostrado en la raza Holstein-friesian (Nichols et al., 1964).

En este estudio se realizó la cría de terneros castrados de raza Holstein-friesian en un sistema semiextensivo. Los animales se sacrificaron a diferentes edades para determinar el momento adecuado de sacrificio para conseguir carne de calidad 'tipo buey'.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron cuatro grupos de animales, que fueron sacrificados a edades aproximadas de 1.5, 2.5, 3.5 y 5 años. El sistema de cría y alimentación fue el mismo para los cuatro grupos:

- Los terneros fueron castrados dentro del primer mes de vida.
- Las primeras 10 semanas de vida fueron alimentados con sustitutivo lácteo en dos tomas diarias, heno y pienso *ad libitum*. A partir de ese momento se eliminó el sustitutivo lácteo, teniendo heno y ensilado de hierba y concentrado *ad libitum*. Cuando llegaron a consumir 2 kg de concentrado por cabeza se eliminó el heno y consumieron solo ensilado de hierba.
- Durante las épocas de disponibilidad de pasto, los animales se alimentaron de hierba a diente *ad libitum*, en una pradera polifita (Raygras inglés, dactilo, agrostis spp., trébol blanco, etc) situada a 100 m de altitud en las instalaciones del CIAM (Abegondo, A Coruña).
- En las épocas de escasez de pasto, los terneros consumieron en cuadra ensilado de hierba *ad libitum* y un suplemento de 1,5 kg de concentrado por cabeza y día.
- Los últimos 7 meses previos al sacrificio, tanto en cuadra como en el pasto, el suplemento consistió en 6 kg de harina de maíz por cabeza y día.
- El sacrificio tuvo lugar a principios de verano.

Antes del sacrificio, los animales fueron pesados en vivo dos veces en días consecutivos, y, una vez sacrificados, a las 24 h se tomó en matadero el peso de la canal y se extrajo una muestra del músculo *Longissimus thoracis* de la media canal izquierda.

Se analizaron los siguientes parámetros de composición química sobre el producto fresco: humedad (ISO R-1442:1997), grasa intramuscular (AOCS, 2005), proteína total (ISO R-937:1978) y cenizas (ISO R-936:1998).

Asimismo, se realizó una evaluación visual del marmoleo siguiendo la escala de valoración japonesa (JMGA, 1989), dividida en doce niveles, a la altura de la séptima costilla. Para ello se utilizaron 6 evaluadores por cada muestra, presentando el valor medio de todos ellos.

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de peso vivo y de peso en canal difieren significativamente en función de la edad de sacrificio (Tabla 1). El incremento de peso al pasar de una categoría de edad a otra disminuye a medida que aumenta la edad de los animales, ya que, como es lógico, la velocidad de crecimiento disminuye a medida que el animal se acerca al peso adulto.

En cuanto al rendimiento en canal, el valor aumenta con la edad de sacrificio, sin existir diferencias significativas entre los 3.5 y 5 años de edad.

Respecto a la composición química, el contenido en humedad disminuye significativamente al aumentar la edad de sacrificio, salvo en las categorías de 3.5 y 5 años donde no se encontraron diferencias. El porcentaje de proteína se reduce significativamente desde la categoría de 1.5 años al resto de categorías, donde no existen diferencias. En cuanto a las cenizas, los valores se encuentran en todas las categorías muy próximos al 1%.

En todo caso, el parámetro más relevante es el contenido en grasa intramuscular, pues, en gran medida, es la responsable de las características organolépticas de la carne y del característico 'veteado' que se valora tanto en la carne 'tipo buey'. Como era de esperar, el porcentaje de grasa aumenta significativamente con la edad de sacrificio, aunque en las categorías intermedias no se encontraron diferencias. Esto seguramente se debe a que en el grupo de edad de 3.5 años se detectó una elevada dispersión de resultados, pues los valores variaron desde el 11% hasta el 28%.

En la evaluación visual del marmoleo de la carne, se observó un aumento significativo del mismo al aumentar la edad (Figura 1), existiendo además un alto grado de correlación ( $R^2 = 0,99$ ) entre el nivel de grasa intramuscular y la valoración subjetiva del marmoleo, muy parecida a la de otros estudios que utilizaron la misma escala (Cameron et al., 1994).

Los animales de 1.5 años (añojos) proporcionan una canal mucho más magra que el resto de categorías de edad, con un peso asimilable a la categoría 'ternera', por lo que no sería adecuada para obtener una carne diferenciada de los terneros de razas carniceras.

El grupo de 2.5 años ya presenta un marmoleo apreciable, muy superior a la anterior categoría, pues el nivel de grasa intramuscular casi triplica el valor. Se sabe que es a partir de los 400-450 kg de peso vivo cuando los bovinos empiezan a acumular grasa de forma más eficiente (Keane, 1981). Este grupo ya presentaría una carne netamente diferente a la ternera convencional, pero el valor de marmoleo es de 4 sobre una escala de 12, por lo que aún hay un gran margen de mejora.

Las categorías de 3.5 y 5 años muestran valores de marmoleo netamente superiores, llegando a 5,5 y 6,8 respectivamente, lo que equivale a un 18.3 y 22.4% de grasa. Estes ya se podrían considerar grados de infiltración adecuados para producir carne de elevada calidad 'tipo buey'. Aun así, según el RD 75/2009, de 30 de enero, se considera buey al animal castrado mayor de 48 meses, por lo que solo podría venderse como carne de buey la del grupo de 5 años, el resto entraría en la categoría cebón.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se podría utilizar un sistema un poco más intensivo que el propuesto para sacrificar a los 4 años de edad. El objetivo sería alcanzar un peso vivo superior a los 1000 kg, con un peso canal de unos 550 kg, siendo lo ideal llegar a 600 kg. Así, se ahorraría un año de cría respecto al grupo de más edad con unos niveles aceptables de marmoleo. De esta forma se podría utilizar la denominación 'carne de buey', que seguramente sea fundamental en la estrategia de marketing para vender este tipo carne.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOCS. 2005. Am. Oil Chemists Soc., Urbana, IL.
- Cameron, P.J., Zembayashi, M., Lunt, D.K., Mitsunashi, T., Mitsumoto, M., Ozawa, S., & Smith, S.B. 1994. Meat Sci. 38: 361-364.
- ISO 937:1978 Standard. ISO 1442:1997 Standard. ISO 936:1998 Standard. En: International Standards Meat and Meat Products. International Organization for Standardization. Ginebra.Suiza.
- JMGA. 1989. *New Beef Carcass Grading Standards*. Japan Meat Grading Association, Tokyo, Japan.
- Nichols, J.R., Ziegler, J.H., White, J.M., Kesler, E.M. & Watkins, J.L. 1964. J. Dairy Sci. 47, 2: 179-185.
- Savell, J.W., Branson, H.R., Stiffler, D.M., Wise, J.W., Griffin, D.B. & Smith, G.C. 1987. J. Food Sci. 52: 517-519.

**Agradecimientos:** agradecer al personal laboral del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo el manejo y cuidado diario de los animales. Agradecer al Centro Tecnológico de la Carne (Ourense) las analíticas realizadas.

## SLAUGHTERING AGE EFFECT ON CARCASS AND MEAT CHEMICAL COMPOSITION OF FRIESIAN CASTRATED MALES

**ABSTRACT:** Four groups of castrated holstein-friesian calves were reared on a semiextensive system, feeding with pasture outdoors, and grass silage and concentrate

indoors during the winter. Seven months previous to slaughter they were finished with 6 kg of corn flour per head and day, in addition to pasture or grass silage. They were slaughtered in the beginning of summer, each group with a different age (1.5, 2.5, 3.5 and 5 years). Live weight was measured previous to slaughter and carcass weight and dressing percentage 24 h after slaughtering. A sample of *Longissimus thoracis* of the left side of the carcass was taken to determine chemical composition and marbling.

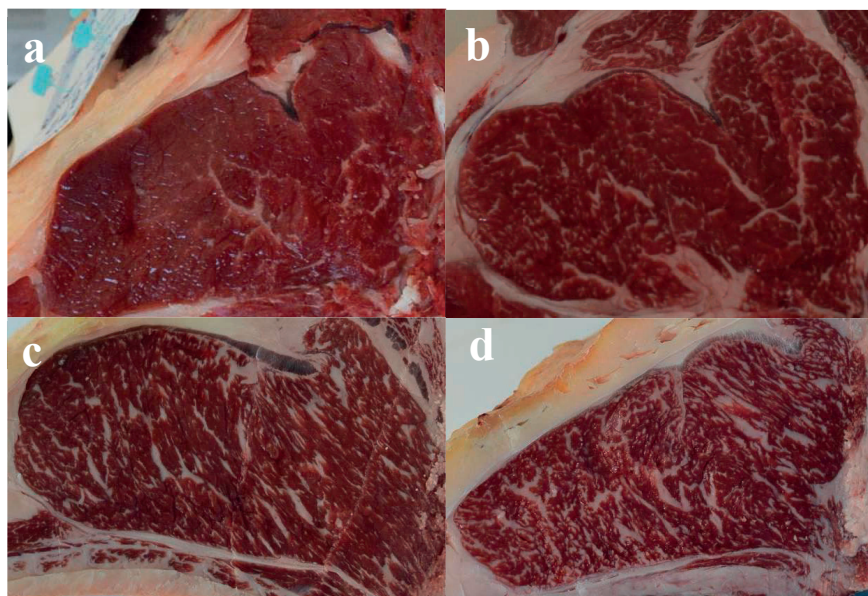
Live weight, carcass weight and dressing percentage increased with the slaughtering age. Moisture decreased with age. Protein decreased from 1.5 years of age to the rest of groups, which did not differ. Ash percentages were very close to 1%, with slightly differences between groups. Fat significantly increased with age, from 5,2% in 1.5 years group to 22,5% in 5 years group. Marbling increased with age with a high correlation with fat percentage. Only 3.5 and 5 years old groups reached a marbling adequate to high value meat markets.

**Keywords:** marbling, castrated, holstein-friesian.

**Tabla 1.** Peso vivo, peso canal, rendimiento en canal, composición química y marmoleo en los distintos grupos de edad. Sig.: nivel de significación; SEM: error estándar de la media.

Edad de sacrificio (años)	1.5	2.5	3.5	5	Sig.	SEM
n	8	8	9	7		
Peso vivo (kg)	467,0 d	730,6 c	930,3 b	1089,9 a	***	42,05
Peso canal (kg)	226,4 d	375,9 c	495,9 b	585,6 a	***	24,33
Rendimiento canal (%)	48,51 c	51,45 b	53,25 a	53,75 a	***	0,43
Marmoleo (1-12)	2,12 d	4,36 c	5,52 b	6,81 a	***	1,29
Composición química (%)						
Humedad	72,99 a	65,95 b	61,88 c	59,13 c	***	1,05
Proteína	20,05 a	17,74 b	17,87 b	17,63 b	**	0,28
Grasa	5,18 c	14,78 b	18,35 b	22,45 a	***	1,29
Cenizas	1,14 a	0,97 c	1,12 a	1,07 b	***	0,14

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas según el test de Duncan ( $P < 0,05$ ). \*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ .



**Figura 1.** Marmoleo medio aproximado de cada grupo de edad. a-1.5 años, b-2.5 años, c-3.5 años, d - 5 años.

## **CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA DE HAMBURGUESAS DE VACAS DE DESVIEJE POR EFECTO DE SU CONDICIÓN CORPORAL Y DIETA DE ACABADO**

García-Fontán, M.C.<sup>1</sup>, Moreno, T.<sup>1</sup>, García, G.<sup>1</sup>, y Botana, A.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Fundación Centro Tecnológico de la Carne. Avda. Galicia nº 4 - Parque Tecnológico de Galicia 32900. Ourense. <sup>2</sup> Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo-INGACAL. Apto. 10.15080 A Coruña

\*camino Garcia@ceteca.net

### **INTRODUCCIÓN**

En Galicia hay un censo de 360.294 vacas de producción de leche que pertenecen prácticamente en su totalidad a la raza Holstein-Friesian y que representa algo menos del 43% del censo nacional (AEG, 2015). La vida productiva de estas vacas suele ser de unos cinco años y más del 50% son desechadas por motivos que no impiden un buen aprovechamiento carnicero, por lo que se puede considerar que existe un importante número de animales para producir carne. Se sabe que el acabado de estos animales incrementa su peso y mejora su condición corporal y estado de engrasamiento (Malterre, 1986). Esto puede suponer una subida importante del precio por Kg/canal, ya que existe un salto cualitativo entre las canales clasificadas como O-P y poco grasas y las R-U y bien engrasadas (Carballo y Moreno, 2006). La canal de la vaca con un buen acabado permite el aprovechamiento y la revalorización de sus piezas comerciales para diferentes destinos de la industria cárnica. Por tanto, se ha estudiado el efecto que tanto el tipo de acabado como la condición corporal inicial de vacas de desvieje, ejerce sobre la calidad físico química de hamburguesas elaboradas con carne procedente de piezas (cuarto delantero) con poco valor comercial.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Las vacas se clasificaron según su condición corporal (CC) inicial (usando una escala desde 1 a 9, Richards et al., 1986) en dos grupos (14 vacas/grupo), clasificando un grupo de animales con condición corporal baja (CCB<5) y otro con condición corporal alta (CCA>5). Posteriormente, se realizaron dos tratamientos según el tipo de dieta de acabado: alimentado con pienso convencional (PC), y enriquecido con silo de pastoreo y heno (PE).

Se elaboraron hamburguesas de 100 g (n=7 por grupo de alimentación y condición corporal) utilizando como corte comercial la aguja. La carne se picó utilizando una placa de 6 mm en una picadora con refrigeración. Se añadieron 12,5 g de NaCl por kg de carne y la mezcla se mantuvo a refrigeración durante 20 horas. Las hamburguesas se moldearon en una hamburguesa empleando moldes de 10 cm de diámetro y 1 cm de altura.

Se determinaron, para cada hamburguesa, los siguientes parámetros: pH, color, composición proximal, pérdidas de cocción y análisis del perfil de textura.

El pH se midió usando un medidor de pH equipado con una sonda de vidrio para penetración. Se utilizó un colorímetro portátil para medir el color de la carne en el espacio CIELAB (Luminosidad, L\*, rojo, a\*, amarillo, b\*, CIE, 1978). Las muestras se dejaron atemperar durante 1 h antes de medir directamente en contacto con el aire (Insausti et al., 1999). Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

La humedad, grasa y proteína (Kjeldahl Nx6,25) se cuantificaron según las normas ISO 1442: 1997 (ISO, 1997), 1443: 1973 (ISO, 1973) y 937: 1978 (ISO, 1978), respectivamente.

Las hamburguesas se cocinaron en bolsas de vacío en un baño de agua hasta alcanzar una temperatura interna de 70°C, controlada por termopares tipo K. Después de la cocción, se dejaron enfriar a temperatura ambiente, durante un periodo de 45 minutos y se calculó el porcentaje de pérdida de cocción midiendo la diferencia de peso entre las muestras cocida y cruda.

La determinación de la dureza se llevó a cabo mediante la célula Warner-Bratzler (WB) cortando cada hamburguesa en siete piezas de 1x1 cm. Cada una de ellas se comprimió a una velocidad de corte de 3,33 mm/s. La prueba de TPA se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Bourne (1978) en un analizador de textura TA-XT2. Se obtuvieron los valores de cohesión, elasticidad, gomosidad y masticabilidad.

Todas las variables fueron estudiadas por medio de un análisis de varianza utilizando el GLM y el PROC MIXED del SAS (SAS Institute Inc., 2006). Las diferencias entre tratamientos se declararon significativas cuando P<0,05 (Duncan).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los tres parámetros de color estudiados, se encuentran diferencias significativas según la CC en el índice de rojo ( $a^*$ ), presentando hamburguesas de color más oscuro los animales de CCA (25,77 vs. 29,35 para PC, y 25,64 vs. 29,32 para PE), ( $P < 0,001$ ) (tabla 1). Las hamburguesas con valores de  $a^*$  más elevados se corresponden con valores de pH altos ya que el color de la carne está íntimamente relacionado con el valor de pH último (Renerre, 1988). Swatland (1985) observó que cuanto menor es el valor de pH último, mayor es la autooxidación de la mioglobina, produciéndose una marcada desnaturalización del pigmento que origina coloraciones más claras. No se encontraron diferencias significativas en los parámetros de color de las hamburguesas según el tipo de pienso suministrado a las vacas.

**Tabla 1.** Parámetros de calidad físico-química de las hamburguesas. Efecto condición corporal inicial y dieta de acabado

	PC <sup>1</sup>		PE <sup>2</sup>		F-test <sup>3</sup>		
	CCB <sup>4</sup>	CCA <sup>5</sup>	CCB	CCA ESA	CCI	ESAxCCI	
Número inicial de animales (NIA)	7	7	7	7			
pH	5,72 <sup>d</sup> (0,02)	5,99 <sup>c</sup> (0,05)	5,71 <sup>d</sup> (0,01)	5,85 <sup>c</sup> (0,04)	*	***	n.s. <sup>6</sup>
Humedad (%)	67,73 <sup>a</sup> (0,55)	66,48 <sup>b</sup> (0,58)	66,17 <sup>c</sup> (0,14)	65,48 <sup>d</sup> (0,49)	*	n.s.	n.s.
Grasa (%)	7,33 <sup>b</sup> (0,72)	7,92 <sup>b</sup> (0,87)	9,36 <sup>a</sup> (0,50)	9,38 <sup>a</sup> (0,61)	*	n.s.	n.s.
Proteína (%)	18,40 (0,25)	19,10 (0,42)	18,26 (0,15)	18,27 (0,14)	n.s.	n.s.	n.s.
Capacidad retención agua (pérdida por cocción) (%)	21,22 <sup>c</sup> (1,82)	15,59 <sup>d</sup> (1,48)	19,13 <sup>c</sup> (1,55)	11,27 <sup>d</sup> (2,07)	n.s.	***	n.s.
L*	32,58 (0,69)	32,35 (0,58)	32,91 (1,04)	34,73 (0,84)	n.s.	n.s.	n.s.
$a^*$	25,77 <sup>d</sup> (1,03)	29,35 <sup>c</sup> (0,40)	25,64 <sup>d</sup> (0,54)	29,32 <sup>c</sup> (1,06)	n.s.	***	n.s.
$b^*$	5,64 (0,54)	5,40 (0,43)	5,74 (0,54)	6,63 (0,47)	n.s.	n.s.	n.s.
Dureza (Kg)	3,58 <sup>a</sup> (0,34)	5,86 <sup>b</sup> (0,45)	3,00 <sup>c</sup> (0,43)	3,45 <sup>d</sup> (0,41)	**	**	*
Elasticidad (mm)	0,62 (0,02)	0,65 (0,03)	0,65 (0,03)	0,58 (0,04)	n.s.	n.s.	n.s.
Cohesividad	0,53 <sup>a</sup> (0,01)	0,54 <sup>a</sup> (0,01)	0,53 <sup>b</sup> (0,01)	0,50 <sup>b</sup> (0,01)	*	n.s.	n.s.
Gomosidad (Kg)	1,91 <sup>a</sup> (0,18)	3,15 <sup>b</sup> (0,24)	1,58 <sup>c</sup> (0,22)	1,72 <sup>d</sup> (0,22)	***	**	*
Masticabilidad (Kg.mm)	1,20 <sup>a</sup> (0,14)	2,06 <sup>b</sup> (0,18)	1,06 <sup>c</sup> (0,16)	1,05 <sup>d</sup> (0,18)	**	*	*

<sup>1</sup>, PC: Pienso convencional. <sup>2</sup>, PE: Pienso enriquecido. <sup>3</sup>, F-test: Nivel de significación entre alimentos. <sup>4</sup>, CCB: Condición corporal baja. <sup>5</sup>, CCA: Condición corporal alta. <sup>6</sup>, n.s.: No significativos. <sup>a,b</sup>. Las medias en la misma fila que llevan letras distintas son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ) bajo el test Duncan. ‡ Los valores entre paréntesis indican el error estándar. § Los símbolos \*, \*\*, \*\*\* se refieren que son significativos en  $P < 0,05$ , 0,01 y 0,001, respectivamente

En cuanto a las pérdidas de agua por cocción, encontramos diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) en las hamburguesas según la CCI presentando los valores más elevados las vacas con CCB (21,22% vs. 15,59% para PC, y 19,13% vs. 11,27% para PE). Se ha considerado por diversos autores (Gault, 1985 y Hönikel, 1991), que la capacidad de retención de agua de la carne depende en más de un 80% del valor final y de la caída del pH del músculo. Observamos en nuestros resultados, que los valores más elevados en pérdidas



de agua de las hamburguesas se corresponden con aquellas que presentan valores de pH más bajos

Se observaron diferencias significativas en cuanto al contenido de grasa intramuscular según el tipo de pienso suministrado, (7,33 vs. 9,36 para CCB y 7,92 vs. 9,38 para CCA,  $P < 0,05$ ). Resultados similares fueron encontrados por Minchin et al., (2009). Esto se debe principalmente al mayor contenido en grasa del PE frente al PC (6,9% frente a 3,77%)

En cuanto a los parámetros de dureza, los valores más elevados los presentan las vacas de CCA y PC (3,58 vs. 5,86 para PC, y 3,00 vs. 3,45 para PE). Las diferencias debidas al tipo de alimentación pueden explicarse porque la dureza disminuye, cuanto mayor es el contenido en grasa (Renand et al., 1997), y por tanto las hamburguesas de animales alimentados con PE (mayor contenido graso que PC) presentaron valores más elevados de grasa y menores de dureza que las de animales alimentados con PC. En cuanto a las diferencias en la dureza de la carne según la condición corporal del animal, se sabe que la dureza aumenta, a medida que se incrementa el peso vivo del animal (Harris, 1990), y esto se refleja en nuestros resultados, en los que observamos que existen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según la condición corporal del animal.

Observamos como los valores significativamente más elevados de la energía necesaria para masticar las hamburguesas, se presentan en aquellas procedentes de vacas alimentadas con PC frente a las de PE (1,20 frente a 1,06 en CCB, y 2,06 frente a 1,05 en CCA,  $P < 0,01$ ), esto se puede explicar, al igual que en la dureza, porque la dificultad en la masticación de la carne aumenta, cuanto menor es su contenido en grasa (Renard et al., 1997).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS)

- AEG- Anuario de Estadística Agraria. (2015). Ed. Xunta de Galicia- Consellería do Medio Rural. • Bourne, M. C. (1978). *Food Tech.*, 32: 62-66. •Carballo, J.A., Moreno, T. (2006). *Arch. Zootec*, 55:339-350. •CIE (1978). Supplement Nr.15 to CIE publication Nr.15 (E- 1.3.1) 1971/ (TO-1.3). Bureau Central de la CIE, Paris, France. •Hönikel, K.O. (1991). *Animal biotechnology and the quality of meat production*. Editorial Fiems, L.O. y Cottyn, B.G. Elsevier, Amsterdam. p.107-125. •Insausti, K., Beriaín, M. J., Purroy, A., Albertí, P., Lizaso, L., Hernández, B. (1999). *Meat Science*, 53: 241-249. •ISO 1443:1973; ISO 1442:1997; ISO 937:1978 standard. In International standards meat and meat products. Genève, Switzerland: International Organization for Standardization. •Gault, N.F.S. (1985). *Meat Sci.*15:15-30. •Minchin, W., Buckley, F., Kenny, D.A., Monahan, F.J., Shalloo, L., O'Donovan, (2009). *Meat Sci.* 81: 93-101. •Renand, G., Touraille, C., Geay, Y., Berge, P., Lepetit, P., Picard, B. (1997). *Rencontres Recherches Ruminants* 4: 311-314. •Renerre, M. (1988). *Industries Alimentaires et Agricoles*. Juin, 530. •Richards, M.W., Spitzer, J.C., Warner, M.B. (1986). *J. Animal Sci.* 62: 300-306. •Swatland, H.J. (1985). *J. Food Sci.* 50: 1489-1490. •SAS Inst. Inc. (2006). *Stat. Anal. Syst. Inst. SAS/STAT version 8*. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.

**Agradecimientos:** Este estudio forma parte del proyecto PGIDIT 07MRU001CT financiado por la Xunta de Galicia.

### PHYSICAL-CHEMICAL QUALITY HAMBURGUER FROM CULL COW BY EFFECT OF INITIAL BODY CONDITION AND FINISHING DIET

**ABSTRACT:** Hamburger quality from cull cows feeding with two different finishing feeding and with two initial corporal classification was studied. Meat quality traits studied were chemical composition, colour parameters, water holding capacity and texture profile analysis. Feeding finishing treatment affected pH, moisture, intramuscular fat content, and textural parameters. The results showed that a feeding finishing based on pastone silage complemented with a dry-herbage diet was more effective, due to the increase of intramuscular fat and the improvement of overall textural parameters. Initial body classification affected pH, percentage, water holding capacity, redness  $a^*$  and textural parameters. The results show that a high condition score showed better results, due to the lower water holding capacity, higher redness  $a^*$  and the improvement of overall textural parameters.

**Keywords:** Hamburger, meat quality, body condition, finishing feeding

## CARACTERIZACIÓN DE LA CARNE DE POTRO DE RAZA BURGUETE MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN

Sarriés M.V.<sup>\*</sup>, Espelosin, A., Mendizábal, J.A., Beriain, M.J., Ruiz, M. y Purroy, A.  
Instituto de Investigación Is-Food. ETSIA. Universidad Pública de Navarra. 31006  
Pamplona. \*vsarries@unavarra.es

### INTRODUCCIÓN

El análisis de imagen es una técnica que emplea imágenes digitalizadas que las convierte en una matriz de puntos, los cuales son identificados en un soporte informático (Swatland, 1995). Esta técnica realiza múltiples mediciones de longitudes, perímetros o áreas, contajes de células o partículas, medidas de color, de densidad, etc y presenta gran objetividad porque cuantifica de manera precisa la proporción de grasa de veteado presente en la carne (Mendizábal et al., 1998). El color es uno de los atributos que más determinan la aceptabilidad de la carne en el momento de la compra por parte del consumidor (Crosset al., 1986). El método de las coordenadas CIE L\* (luminosidad), a\* (índice de rojo) y b\* (índice de amarillo) determinadas mediante espectrofotómetro es posiblemente el más extendido para determinar el color de la carne (Renner, 1982). Con la aplicación de las coordenadas RGB (rojo, verde y azul) del análisis de imagen, se puede determinar el color de la carne. Hasta la fecha los estudios que caracterizan las características nutricionales y químicas de la carne de potro de raza Burguete (Sarriés y Beriain, 2005; Sarriés y Beriain, 2006; Sarriés et al., 2006) se han llevado a cabo mediante el empleo de técnicas convencionales, las cuales obligan la intervención de procedimientos muy elaborados y largos en tiempo. Dado que el análisis de imagen es una técnica rápida, precisa y que no requiere el empleo de reactivos químicos para la determinación de sus mediciones, en el presente trabajo resulta muy interesante emplear el análisis de imagen como metodología de análisis en la carne de potro que cuantifique la proporción de grasa y las coordenadas R (índice rojo), G (índice verde) y B (índice azul) (RGB) del análisis de imagen.

Por ello, el objetivo del presente trabajo ha sido caracterizar la carne de potro de raza Burguete mediante análisis de imagen.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio, se han utilizado 100 potros de raza Burguete sacrificados en el matadero de Pamplona. Al día siguiente del sacrificio de los potros, se llevó a cabo el despiece tipificado de las canales en las instalaciones de Cárnicas Echegor S.L. de Berrioplano. En este sentido, se extrajo un filete del músculo *Longissimus thoracis* (LT) a la altura de la 4ª vértebra torácica y otro filete músculo *Gluteus medius* (GM) a la altura de la 5ª vértebra lumbar (Figura 1) de la canal izquierda del animal. Una vez obtenidos los filetes, éstos fueron transportados hasta el laboratorio de la Universidad Pública de Navarra, para ser congelados a -20°C hasta el día del análisis. 24 horas antes del día del análisis, los filetes fueron descongelados a +2°C. A continuación, dichos filetes procedentes del LT y del GM fueron analizados mediante la técnica de Análisis de Imagen desarrollada por Mendizábal et al., (2005). Las determinaciones llevadas a cabo fueron: área del músculo (cm<sup>2</sup>), área de la grasa (cm<sup>2</sup>), grado de veteado (%), el número y el tamaño de las vetas de los músculos (mm<sup>2</sup>). Además, para la determinación del color de la carne, se tomaron medidas del nivel medio de gris y las coordenadas R (índice rojo), G (índice verde) y B (índice azul) (RGB) extraídas del análisis de imagen y las coordenadas colorimétricas CIE L\* (luminosidad) y a\* (índice de rojo) (CIE, 1976) con un espectrocolorímetro Minolta (CM2002). El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el paquete informático SPSS 23.0.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra los resultados estadísticos descriptivos de las variables área del músculo (cm<sup>2</sup>), área de la grasa (cm<sup>2</sup>), grado de veteado (%), el número y el tamaño de las vetas de la carne de potro de raza Burguete, procedente de los músculos *Longissimus thoracis* (LT) y *Gluteus medius* (GM). Como se puede apreciar, en casi todas las variables, excepto para el grado de veteado, el músculo GM presenta valores más altos que los alcanzados en el LT. Estos resultados evidencian que el LT de la canal de potro a la altura de la 4ª vértebra torácica puede llegar a alcanzar un área muscular de 34 cm<sup>2</sup> y que el

músculo GM a la altura de la 5ª vértebra lumbar, puede llegar a ocupar un área de 123 cm<sup>2</sup>. Con respecto al grado veteado, como se observa en ambos músculos, este parámetro alcanzó aproximadamente un 3%. Este resultado se encuentra muy próximo al rango de valores hallados en carne de potro de raza Burguete mediante el empleo de técnicas convencionales para la cuantificación de la grasa intramuscular (3,1%) (Sarriés y Beriain, 2005). Por tanto la técnica de análisis de imagen empleada en el presente estudio podría emplearse como una metodología de análisis para la determinación del contenido graso en la carne de potro.

En la tabla 2 se muestra los resultados estadísticos descriptivos de las medidas de color en los músculos LT y GM sobre las variables nivel de gris, R (índice rojo), G (índice verde) y B (índice azul) obtenidas mediante la técnica de análisis de imagen y las coordenadas colorimétricas L\* (luminosidad) y a\* (coordenada rojo) adquiridas con el espectrocolorímetro Minolta CM 2002. Como puede observarse, los resultados obtenidos para el LT en las variables nivel gris, R, G y B alcanzaron unos valores de 73,5; 82,1; 63,6 y 74,2 respectivamente. Sin embargo, los valores alcanzados en las citadas variables para el GM, fueron menores, correspondiéndose con los resultados de 68,1; 75,2; 60,5 y 68,6 respectivamente. En relación a las coordenadas colorimétricas del músculo LT y del músculo GM, en el presente estudio se muestra que la carne del LT posee más luminosidad y es más roja que la carne del GM ya que los valores de L\* y a\* son más elevados en el primero (L\*= 34,5; a\*= 17,6) que en el segundo (L\*= 32,5; a\*= 16,8).

En definitiva, con los resultados obtenidos, se podría concluir que la técnica de análisis de imagen empleada en el presente estudio ofrece buenas perspectivas para su utilización en la determinación del grado de veteado, si bien se requieren de trabajos posteriores que puedan corroborar el empleo de esta técnica con medidas instrumentales convencionales.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CIE (1976). Supplement No. 2 to CIE Publication No.15 (E-1.3.1.) 1978, 1971/(TC-1-3), Commission Internationale de l'Eclairage, Paris. • Cross H.R., Durland P.R., Seideman S., 1986. Ed.: Bechtel P. Academic Press, Orlando. • Mendizabal J.A., Purroy A., Beriain M.J., Lizaso K., Insausti K. 1998. ITEA, 94A (1), 43-48. • Mendizabal, J. A., Purroy, A., Indurain, G., & Insausti, K. 2005 Pages 251–256 in Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes.. Madrid, Spain: INIA, Serie Ganadera 3. • Renerre M., 1982. Bull. Tech. C.R.Z.V. Theix. I.N.R.A. 47, 47-54. • Sarriés, M.V. & Beriain, M.J. 2005. Meat Sci. 70: 141-152. • Sarriés, M.V. & Beriain, M.J. 2006. Meat Sci. 74: 738-745. • Sarriés, M.V., Murray, B.E., Troy, D. & Beriain, M.J. 2006. • Swatland H.J., 1995. Technomic Publishing Company, Inc. USA. pp. 271-290. •

**Agradecimientos:** el presente trabajo forma parte del proyecto de investigación “Caracterización de las canales de potro mediante Análisis de Imagen (PI022 POTRO)” financiado por el Departamento de Desarrollo Económico del Gobierno de Navarra en su convocatoria de 2016.

**Tabla 1.** Grado de veteado de la carne en el músculo *Longissimus thoracis* (LT) y en el *Gluteus medius* (GM)

		Media	Máximo	Mínimo	s.d.	C.V.(%)
Área músculo (cm <sup>2</sup> )	LT	33,7	48,4	19,4	7,27	21,6
	GM	122,7	194,3	71,1	29,48	24
Área grasa (cm <sup>2</sup> )	LT	0,9	2,2	0,2	0,61	64
	GM	3,6	12	1	2,5	68,5
Grado veteado (%)	LT	2,9	6,8	0,6	1,83	64,3
	GM	2,9	7,4	1,1	1,56	54,2
Nº vetas	LT	15	29	6	5,57	37
	GM	24	37	13	7,55	31,2
Tamaño vetas (mm <sup>2</sup> )	LT	6,4	14	2	3,7	58,2
	GM	12,3	22,3	4,4	5,8	47,4

**Tabla 2.** Color de la carne en el músculo *Longissimus thoracis* (LT) y en el *Gluteus medius* (GM)

		Media	Máximo	Mínimo	s.d.	C.V.(%)
Nivel gris (0-255)	LT	73,5	90,1	55,7	8,71	11,9
	GM	68,1	95,0	50,5	10,72	15,7
R (Índice Rojo; 0-255)	LT	82,1	95,6	66,6	8,98	10,9
	GM	75,2	101,6	56,0	11,31	15,0
G (Índice Verde; 0-255)	LT	63,6	78,8	46,8	7,76	12,2
	GM	60,5	82,7	46,4	9,90	16,4
B (Índice Azul; 0-255)	LT	74,2	97,4	53,7	10,72	14,7
	GM	68,6	100,7	47,9	13,00	19,0
L * (luminosidad)	LT	34,5	41,2	30,9	2,83	8,2
	GM	32,5	37,7	26,1	2,57	7,9
a*(coordenada Rojo)	LT	17,6	21,9	12,5	2,38	13,6
	GM	16,8	19,8	13,7	1,58	9,4



**Figura 1.** Músculo *Longissimus thoracis* (LT) y músculo *Gluteus medius* (GM)

### CHARACTERIZATION OF BURGUETE FOAL BREED MEAT BY IMAGE ANALYSIS

**ABSTRACT:** Image analysis uses digitized images that converts them into an array of points, which are identified in a computer software. The objective of the present work has been to characterize Burguete foal meat using image analysis. For this purpose, 100 carcass of Burguete foal have been used. It was extracted a steak from the *Longissimus thoracis* (LT) muscle at the 4<sup>th</sup> thoracic vertebra and also another steak from the *Gluteus medius* (GM) muscle at the 5<sup>th</sup> lumbar vertebra of the left carcass. It was carried out area of muscle (cm<sup>2</sup>), area of intramuscular fat (cm<sup>2</sup>), degree of intramuscular fat (%), number of marbling flecks and size of marbling flecks (mm<sup>2</sup>) by Image Analysis. In addition, it was evaluated the color of the meat from image analysis and with a Minolta spectrophotometer (CM2002). The colour measurements were the mean gray level and the R (red index), G (green index) y B (blue index) (RGB) coordinates extracted from the image analysis and the colorimetric coordinates CIE L \* (luminosity) and \* (red index) from a Minolta spectrophotometer (CM2002). The results obtained may conclude that the image analysis technique offers good prospects for its use in the determination of the characteristics of the Burguete foal meat.

**Keywords:** Analysis Image, Foal meat, degree of intramuscular fat, colour coordinates

## ESTUDIO DE LA MADURACIÓN *POST MORTEM* DE LA CARNE DE VACUNO MEDIANTE EL ANÁLISIS PROTEÓMICO DE LA FRACCIÓN MIOFIBRILAR

Beldarrain, L.R.<sup>1,2</sup>, Aldai, N.<sup>2</sup>, Navarro, J.L.<sup>1</sup>, y Sentandreu, M.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC). 46980 Paterna (Valencia).

<sup>2</sup> Centro de investigación Lascaray (UPV-EHU), Dpto. Farmacia y Ciencias de los Alimentos. Avda. Miguel de Unamuno 3.01006 Vitoria- Gasteiz.

\*ciesen@iata.csic.es

### INTRODUCCIÓN

La terneza está considerada una de las características organolépticas de la carne más valoradas por el consumidor (Shackelford *et al.*, 2001). Por ello es importante estudiar el proceso de maduración después del sacrificio, que es responsable de los cambios estructurales y bioquímicos que tiene como resultado la tenderización o ablandamiento de la carne (Ouali *et al.*, 2013). El detallado conocimiento del proceso puede contribuir a un mejor rendimiento en la producción por parte de la industria cárnica y a una mayor satisfacción del consumidor. Junto con otros factores tanto extrínsecos (agentes estresantes, transporte) como intrínsecos (raza, edad, características de la fibra muscular, cantidad y solubilidad de colágeno), la hidrólisis de las proteínas miofibrilares es fundamental en el desarrollo de la terneza (Koohmaraie y Geesink, 2006). El objetivo del presente trabajo es estudiar la evolución de la fracción proteica miofibrilar en el músculo de ternera durante el proceso de maduración a diferentes tiempos *post mortem*, tratando de identificar las proteínas y momentos clave de variación en el perfil proteico.

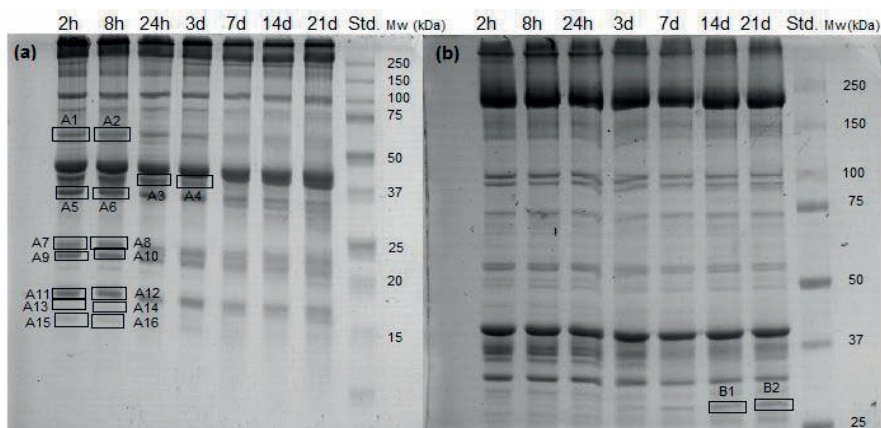
### MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras por triplicado del músculo *Longissimus thoracis* (LT) de un ternero macho de la raza Charolaise inmediatamente después del sacrificio. Dichas muestras se conservaron a 4°C, extrayéndose porciones de 100 g de las mismas a 7 tiempos distintos de maduración (2 h, 8 h, 24 h, 3 d, 7 d, 14 d, y 21 d) y congelándolas a -80°C hasta posterior análisis. Con objeto de extraer la fracción miofibrilar, cada muestra de músculo fue homogeneizada en 5 ml de tampón Tris 50 mM, pH 8.0 empleando un politrón, y centrifugada a 10000 g durante 20 minutos a 4 °C. El precipitado se redisolvió en 5 ml del mismo tampón y se volvió a centrifugar en las condiciones anteriormente citadas. El precipitado obtenido se redisolvió en 5 ml de tampón Tris 50 mM, pH 8.0 que contenía urea 6 M y tiourea 1 M, y se volvió a centrifugar en las mismas condiciones. El sobrenadante obtenido fue filtrado con lana de vidrio y almacenado a -80 °C. Con las fracciones obtenidas se realizó una electroforesis SDS-PAGE en geles del 15 y 8 % de poliacrilamida con el objetivo de estudiar el intervalo de masas moleculares de 10 a 250 kDa. Los geles obtenidos fueron teñidos con Coomassie coloidal (Candiano *et al.*, 2004). La intensidad de las bandas se analizó por densitometría empleando el software Un Scan It v6.1. Se seleccionaron y recortaron aquellas bandas que variaban significativamente en intensidad en función del tiempo de maduración ( $P < 0.01$ ), para posteriormente digerirlas con tripsina y caracterizarlas mediante cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas en tándem (LC-ESI-MS/MS). Para la interpretación de los espectros de fragmentación (MS/MS) se empleó el motor de búsqueda MASCOT y las bases de datos Uniprot KB y NCBIInr.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Lo más destacado de los geles que se muestra en la Figura 1a es la desaparición o disminución significativa de la intensidad de las proteínas identificadas (Tabla 1). Entre las proteínas implicadas en la contracción muscular, la actina, constituyente de los filamentos delgados, muestra una degradación que según nuestros resultados comienza a las 24 h *post mortem* y es significativa a partir del tercer día (bandas A5 y A6). Tradicionalmente sin embargo, la evolución de la actina *post mortem* ha sido considerada menor, aunque otros estudios han documentado un patrón de degradación (Lametsch *et al.*, 2002), y han subrayado la importancia de estudiar más a fondo la proteólisis de la actina miofibrilar porque incluso una mínima proteólisis de la misma podría alterar la unión actina-miosina (Huff Lonengal *et al.* 2010). Además, el fragmento identificado de actina de 31 kDa (Tabla 1) es de gran interés, ya que ha sido sugerido como marcador apoptótico (Yang *et al.*, 1998). Dicho fragmento, ha sido detectado en estudios llevados a cabo en bovino a partir del día 5

*post mortem*, incrementando su presencia significativamente hasta el día 21 (Laville *et al.*, 2009). En nuestro caso, es identificado a partir del día 7 (Figura 1b, bandas B1 y B2). La miosina es, junto a la actina, la principal proteína integrante de las miofibrillas, siendo la más abundante en las mismas, por lo que su contribución a la estructura del músculo no se puede obviar. En las bandas A7 y A8 identificamos la cadena ligera de miosina 1, sobre la que otros estudios han identificado una diferencia de tendencia (aumento o disminución) en el proceso de maduración dependiendo de la raza (Marino *et al.*, 2014). En la literatura, han sido citados diversos resultados en cuanto a la relación de la cadena ligera de miosina 1 y la terneza, puesto que se han descrito correlaciones positivas (Anderson *et al.*, 2012) y negativas (Bjarnadottir *et al.*, 2012) entre la terneza y su abundancia. De aquí se confirma que se trata de una proteína cuyo comportamiento es dependiente de la raza y/o músculo analizado, y en nuestro caso observamos degradación a partir de las 24 h. En las bandas A11 y A12 identificamos la cadena ligera de miosina 2, donde se observa un descenso significativo en abundancia a partir del tercer día. En otros estudios se ha descrito un descenso en su abundancia entre el día 10 y 17 del proceso, a la vez que la aparición y aumento de agregados supramoleculares por causa de especies reactivas de oxígeno (Lana *et al.*, 2016; Longo *et al.*, 2015), que en nuestro estudio no se han identificado. Por último, la cadena ligera de miosina 3 es identificada en las bandas A15 y A16 y su descenso significativo en abundancia ocurre a partir de las 24 h. Las cadenas ligeras de miosina, por tanto, servirían de marcador para evaluar el proceso de ablandamiento de la carne, ya que numerosos estudios han establecido relaciones entre su abundancia y la terneza, aunque habría que profundizar en su comportamiento dependiendo de la raza.



**Figura 1.** Gel SDS-PAGE del extracto miofibrilar de proteínas de bovino en diferentes momentos de la maduración (2 h, 8 h, 24 h, 3 d, 7 d, 14 d, 22 d) en geles del a) 15 %, y b) 8 % de acrilamida. Std: Estándar de peso molecular.

La desmina, identificada en las bandas A1 y A2, presenta una disminución de intensidad que se pronuncia al llegar al día 3 *post mortem* aunque sin llegar a desaparecer por completo. Esta proteína es una subunidad del filamento intermedio, y su proteólisis tiene un impacto directo en la terneza (Chen *et al.*, 2014). Varios trabajos han descrito que la degradación de la desmina en el LT es evidente a los 3 d *post mortem*, hasta su casi completa degradación a los 7 d, existiendo ligeras diferencias entre razas y músculos estudiados (Muroya *et al.*, 2010). Nuestros resultados confirman esta tendencia, sin haberse identificado productos de su degradación.

La troponina (TNN), complejo heterotrimérico compuesto por las subunidades TNN I, T y C, forma parte del complejo de regulación de actina, y ha sido empleada como marcador de proteólisis en toro y cerdo (Iwanoska *et al.*, 2010), ya que existe una gran correlación entre su degradación y el proceso de tenderización. Especialmente, la TNN T, (bandas A3 y A4), ha sido estudiada en otras razas bovinas, y su degradación ha sido descrita a partir del día 5 *post mortem*, junto con la aparición de un fragmento de degradación de 30 kDa (Muroya *et al.*, 2004) que en nuestro estudio ha sido identificado en las bandas B1 y B2 (Figura 1b).

Según nuestros resultados sin embargo, la degradación de la troponina T se evidencia a las 24 h, aunque la aparición del fragmento coincide con lo descrito en la literatura alrededor del día 7 *post mortem*. La degradación de la TNN I se puede observar en las bandas A9 y A10, acentuada a partir del día 7 *post mortem*, confirmando resultados obtenidos en otros estudios de bovino (Sierra *et al.*, 2011). La tropomiosina, que junto a la troponina regula el complejo de actomiosina, ha sido identificada junto a la TNN T en las bandas A3 y A4.

**Tabla 1.** Identificación de las proteínas miofibrilares seleccionadas en los geles (Figura 1) de SDS-PAGE por LC-ESI-MS/MS.

BANDAS	PROTEINA(S) IDENTIFICADA(S)	TENDENCIA	PUNTO SIGNIFICATIVO
A1 y A2	Desmina	(↓) Disminuye	3 d <i>p.m.</i>
A3 y A4	Cadena alfa 1 de tropomiosina y troponina T	(↓) Disminuye	24 h <i>p.m.</i>
A5 y A6	Actina	(↓) Disminuye	3 d <i>p.m.</i>
A7 y A8	Cadena ligera de miosina 1	(↓) Disminuye	24 h <i>p.m.</i>
A9 y A10	Troponina I	(↓) Disminuye	7 d <i>p.m.</i>
A11 y A12	Cadena ligera reguladora de miosina 2	(↓) Disminuye	3 d <i>p.m.</i>
A13 y A14	Mioglobina	(↓) Disminuye	24 h <i>p.m.</i>
A15 y A16	Cadena ligera de miosina 3	(↓) Disminuye	24 h <i>p.m.</i>
B1 y B2	Actina (fragmento) y Troponina T (fragmento)	(↑) Aumenta	7 d <i>p.m.</i>

*p.m.*: *post mortem*.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, M.J. *et al.*, 2012. Meat Sci. 90: 345-351.
- Bjarnadottir, S.G. *et al.*, 2012. J.Anim.Sci. 90: 2035-2043.
- Candiano, G. *et al.*, 2004. Electrophoresis 25: 1327-1333.
- Chen, Q. *et al.*, 2014. Food Chem. 150: 220-226.
- Huff Lonergan, E. *et al.*, 2010. Meat Sci. 86: 184-195.
- Iwanowska, A. *et al.*, 2010. Anim. Sci. Pap. Rep. 28: 13-25.
- Koohmaraie, M. *et al.*, 2006. Meat Sci. 74: 34-43.
- Lametsch, R. *et al.*, 2002. J. Agric. Food. Chem. 50: 5508-5512.
- Lana, A. *et al.*, 2016. J. Proteomics 147:85-97.
- Laville, E. *et al.*, 2009. J. Agric.Food.Chem. 57: 10755-10764.
- Longo V. *et al.*, 2015. J. Proteomics 125: 29-40.
- Marino, R. *et al.*, 2014. Meat Sci. 98: 178-186.
- Muroya, S. *et al.*, 2004. Meat Sci. 67: 19-24.
- Muroya, S. *et al.*, 2010. Meat Sci. 86: 764-769.
- Ouali A. *et al.*, 2013. Meat Sci. 95: 854-870.
- Shackelford, S.D. *et al.*, 2001. J. Anim. Sci. 79: 2605-2614.
- Sierra, V. *et al.*, 2012. J. Sci. Food. Agric. 92: 2727-2740.
- Yang, F. *et al.*, 1998. Am. J. Pathol. 152: 379-389.

**Agradecimientos:** Al Ministerio de Economía y Competitividad por la financiación del proyecto AGL 2012-32146; al MINECO y a la UPV/EHU por el contrato Ramón y Cajal (RYC-2011-08593) de N. Aldai, y al Departamento de desarrollo Económico y Competitividad del Gobierno Vasco por la beca de L.R. Beldarrain.

#### STUDY OF POST MORTEM BEEF AGING BY THE ANALYSIS OF THE MIOFIBRILLAR PROTEOME FRACTION

**ABSTRACT:** This study was designed to evaluate the changes of the myofibrillar proteome of *Longissimus thoracis* muscle from Charolaise breed over 7 different time points during meat aging up to 22 days *post mortem*. Protein extraction, SDS-PAGE electrophoresis and LC-ESI-MS/MS identification of the most significant bands was performed. 18 bands were analyzed and the results obtained were compared with published studies performed in other muscles and/or breeds, revealing some differences in the aging process. Actin and troponin T degradation was reported, together with the appearance of their corresponding 30 kDa degradation products. The hydrolysis of desmin, tropomyosin alpha 1 chain, myosin light chain 1, 2 and 3, troponin I, and myoglobin was also observed.

**Keywords:** aging, proteolysis, tenderness, *Longissimus thoracis*

## CALIDAD NUTRICIONAL DE LA CARNE DE TERNERA SUPREMA POR EFECTO DE LOS DIFERENTES NIVELES DE INCLUSIÓN DEL BAGAZO DE UVA TINTA COMO SUPLEMENTO EN SU DIETA

Moreno<sup>1</sup>, T., García-Fontán<sup>1</sup>, M.C., Alonso-Abraldes<sup>1</sup>, R., Domínguez<sup>1</sup>, R. y Crecente<sup>2</sup>, S.  
<sup>1</sup>Fundación Centro Tecnológico de la Carne. Avda. Galicia nº4 -Parque Tec.Galicia 32900 Ourense, España; <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo-INGACAL. Apdo 10, 15080 A Coruña, España. \*teresamoreno@ceteca.net

### INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento de los subproductos de la industria vitivinícola para la alimentación del ganado vacuno, con objeto de mejorar la calidad nutricional de la carne, es interesante para el sector agro-ganadero, por un eficiente aprovechamiento de los residuos.

El empleo de antioxidantes tienen un gran interés en la producción de carne porque mejora su calidad nutricional, inhibiendo la oxidación de sus grasas, a través de la alimentación del animal *in-vivo*, suplementado con material vegetal con un alto contenido en polifenoles (Franco, 2010). En otros trabajos se consiguió una elevada estabilidad oxidativa en la carne de pollo, al suplementarlos con fibra antioxidante de uva (Gofii et al., 2007), así como un elevado contenido en ácidos grasos omega 3 en la carne de los corderos suplementados con antioxidantes en su dieta (Muiño et al., 2012).

Este trabajo es una importante aportación al sector vacuno de carne de Galicia y en el territorio español, ya que no existen investigaciones previas sobre el uso de diferentes niveles de suplementación de subproductos agroindustriales con poder antioxidante, como el bagazo de uva tinta en la dieta de los terneros, para evaluar su efecto sobre la fracción lipídica de la carne de la IGP "Terñera Gallega Suprema", que presenta un elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados (Moreno et al., 2007).

Este trabajo pretende mejorar el perfil lipídico de la carne mediante la valorización de subproductos del sector vitivinícola en la alimentación del ganado vacuno, estudiando el efecto del nivel de inclusión de bagazo de uva tinta (0%, 33%, 66% y 100%) como suplemento en la dieta de los terneros sobre la calidad nutricional de su carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó un rebaño experimental de 40 vacas madre y sus terneros criados bajo el *label* de la IGP "Terñera Gallega". Los terneros se mantuvieron con sus madres, alimentándose de leche materna, pasto y silo de hierba en épocas de escasez. Se seleccionaron del rebaño 40 terneros machos que a los 7 meses se destetaron y se asignaron aleatoriamente a 8 lotes homogéneos (5 terneros/lote). Se probaron 4 tratamientos (0%, 33%, 66% y 100% de bagazo) y 2 lotes que sirvieron como repeticiones y fueron asignados aleatoriamente a cada tratamiento. La fase final de cebo se realizó durante 2 meses, en el que se combinó el tipo de forraje suministrado, variando el % de bagazo de uva desecado con el % de heno, además de incluir pienso de cebo *ad libitum* para todos los tratamientos:

- T1 o control: exclusivamente heno como forraje y 6,44 kg de pienso/día.animal.
- T 2: mezcla de 2/3 de heno +1/3 bagazo como forraje +7,11 kg de pienso/día.animal.
- T3: mezcla de 1/3 de heno+2/3 bagazo como forraje y 7,08kgde pienso/día.animal.
- T4: exclusivamente bagazo de uva como forraje y 7,29kgde pienso/día.animal.

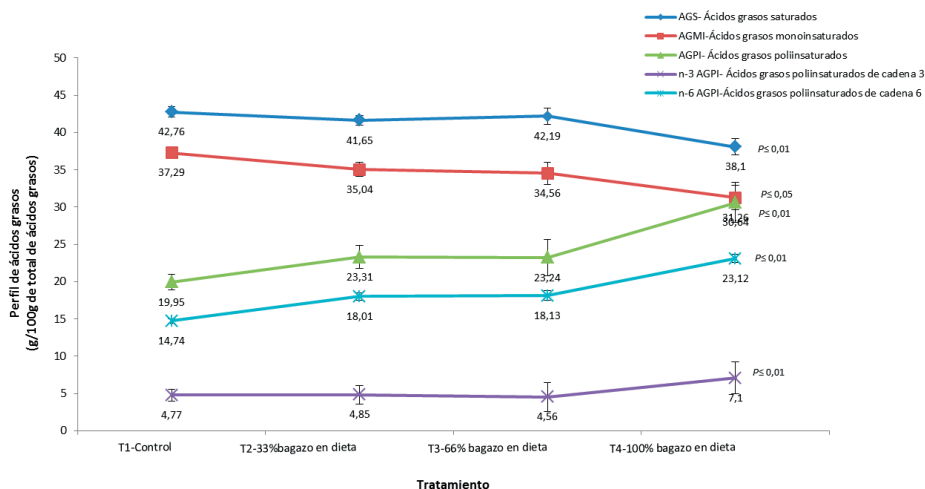
El peso sacrificio para todos los tratamientos ha estado comprendido entre los 370-400 kg de peso vivo. Para el análisis de la calidad de la grasa del músculo *L. thoracis*, se extrajo la grasa por Bligh y Dyer (1959), la metilación, separación y cuantificación de los ácidos grasos totales se realizó en un GC Agilent 6890, con detector FID, según Domínguez *et al.*(2015). El análisis de los datos se realizó mediante un ANOVA con un diseño completamente randomizado, utilizando el GLM y el PROC MIXED del SAS (SAS Institute Inc., 2006). Además, se realizó el test de Duncan para calcular el error residual asociado a cada observación cuando aparecen diferencias ( $p < 0,05$ ) entre los tipos de dietas suministradas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra como a medida que se incrementa el porcentaje de bagazo en la dieta de los terneros, el contenido de ácidos grasos saturados (AGS) es menor en la grasa intramuscular de su carne ( $P < 0,01$ ), mostrando diferencias el Control frente al 100% de



bagazo. El C16:0 ( $P < 0,05$ ), el C18:0 ( $P < 0,01$ ) y el C20:0 ( $P < 0,05$ ) presentaron un contenido menor en el grupo de terneros alimentados con 100% de bagazo como forraje (T4) frente al grupo control sin bagazo (T1).



**Figura 1.** Contenido de ácidos grasos totales por efecto de inclusión en la dieta de terneros de diferentes niveles de bagazo de uva tinta

**Tabla 1.-** Perfil de ácidos grasos (g/100g de total de ácidos grasos) de la carne por efecto de la inclusión en la dieta de diferentes niveles de bagazo de uva tinta

	T1 Control	T2 33% bagazo	T3 66% bagazo	T4 100% bagazo	eem <sup>1</sup>	Significación
C16:0	24,19±0,34 <sup>a</sup>	24,08±0,28 <sup>a</sup>	23,27±0,60 <sup>ba</sup>	22,21±0,56 <sup>b</sup>	0,26	*
C18:0	14,99±0,44 <sup>a</sup>	13,72±0,58 <sup>ba</sup>	14,97±0,72 <sup>a</sup>	12,40±0,39 <sup>b</sup>	0,31	**
C18:1n9c	29,69±0,63 <sup>a</sup>	27,53±0,85 <sup>a</sup>	26,81±1,23 <sup>a</sup>	23,49±1,49 <sup>b</sup>	0,64	**
C18:2n6c	11,18±0,60 <sup>b</sup>	13,61±0,97 <sup>b</sup>	14,41±1,53 <sup>ba</sup>	17,88±1,75 <sup>a</sup>	0,73	**
C20:0	0,10±0,01 <sup>a</sup>	0,09±0,00 <sup>ba</sup>	0,10±0,01 <sup>a</sup>	0,08±0,00 <sup>b</sup>	0,00	*
C20:1n9	0,15±0,00 <sup>a</sup>	0,13±0,00 <sup>ba</sup>	0,13±0,01 <sup>ba</sup>	0,11±0,00 <sup>b</sup>	0,00	**
C20:2n6	0,13±0,01 <sup>b</sup>	0,15±0,01 <sup>ba</sup>	0,15±0,01 <sup>ba</sup>	0,17±0,01 <sup>a</sup>	0,01	*
C20:4n6	2,61±0,20 <sup>b</sup>	3,31±0,36 <sup>ba</sup>	2,73±0,35 <sup>b</sup>	3,92±0,36 <sup>a</sup>	0,18	*
C22:2n6	0,13±0,01 <sup>b</sup>	0,13±0,01 <sup>b</sup>	0,11±0,02 <sup>b</sup>	0,18±0,02 <sup>a</sup>	0,01	*
C20:5n3	1,41±0,09 <sup>b</sup>	1,43±0,16 <sup>b</sup>	1,24±0,21 <sup>b</sup>	2,44±0,22 <sup>a</sup>	0,12	***
C22:5n3	1,70±0,12 <sup>b</sup>	1,70±0,15 <sup>b</sup>	1,69±0,25 <sup>b</sup>	2,42±0,24 <sup>a</sup>	0,11	*
C22:6n3	0,20±0,01 <sup>cb</sup>	0,24±0,03 <sup>b</sup>	0,16±0,02 <sup>c</sup>	0,32±0,02 <sup>a</sup>	0,01	***

Valores expresados media ± error estándar. <sup>1</sup>Error estándar de la media. <sup>a-c</sup>Valores en la misma fila con distinto superíndice fueron diferentes  $P < 0,05$ ; \* $P \leq 0,05$ ; \*\* $P \leq 0,01$ ; \*\*\* $P \leq 0,001$

En la Figura 1, observamos que cuanto más cantidad de bagazo suministremos en la dieta de los terneros, menor es el contenido de MUFA (31,26 en T4 < 34,56 en T3 < 35,04 en T2 < 37,29 en T1,  $p < 0,05$ ). En la Tabla 1 vemos, como el C18:1n9c (23,49 en T4 vs. 29,69 en T1,  $p < 0,01$ ) y el C20:1n9c (0,11 en T4 vs. 0,15 en T1,  $p < 0,01$ ) aumentan significativamente su contenido a medida que la dieta animal contiene menos cantidad de bagazo.

La Figura 1 muestra como a medida que incrementamos el nivel de inclusión de bagazo en la dieta animal, mayor es el contenido de PUFA en la carne (30,64 en T4 < 23,24 en T3

<23,31 en T2 < 19,95 en T1,  $p < 0,01$ ). Por ello, los n-3 PUFA (7,10 en T4 vs. 4,77 en T1,  $p < 0,01$ ) y los n-6 PUFA (23,12 en T4 vs. 14,74 en T1,  $p < 0,01$ ) mostraron valores significativamente más elevados a medida que se incrementaba la cantidad de bagazo en la dieta animal. En la Tabla 1 podemos ver que tanto para los n-3 PUFA: el C20:5n3 (2,44 en T4 vs. 1,41 en T1,  $p < 0,001$ ), el C22:5n3 (2,42 en T4 vs. 1,70 en T1,  $p < 0,05$ ) y el C22:6n3 (0,32 en T4 vs. 0,20 en T1,  $p < 0,001$ ), como para los n-6 PUFA: el C20:2n6 (0,17 en T4 vs. 0,13 en T1,  $p < 0,05$ ), el C20:4n6 (3,92 en T4 vs. 2,61 en T1,  $p < 0,05$ ) y el C22:2n6 (0,18 en T4 vs. 0,13 en T1,  $p < 0,05$ ), presentaron valores significativamente superiores en el grupo de los alimentados con mayor proporción de bagazo (T4) frente al grupo control (T1). Una de las principales alteraciones de los alimentos es la rancidez que se traduce en la aparición de aromas y gustos desagradables, lo que supone el rechazo por parte de los consumidores. Estas alteraciones están relacionadas con el deterioro oxidativo de las grasas o lípidos de los alimentos, la peroxidación lipídica (Yu, 1994). Cuanto mayor sea el grado de insaturación de los lípidos presentes en los alimentos, más susceptibles van a ser las reacciones de oxidación, por tanto la aparición de olores y sabores extraños. Además, nutricionalmente interesa que el contenido en ácidos grasos insaturados sea elevado, la susceptibilidad a la oxidación se puede mejorar, aumentando el contenido en antioxidantes en tejidos animales (Medina, 2010). Lo que permite prolongar el tiempo de conservación sin deteriorar sus características nutricionales, considerando que los consumidores demandan la ingestión de alimentos con propiedades beneficiosas para la salud y un alto contenido en omega-3 (EFSA, 2010) en modelos animales (Park, 2009) y humanos (Brownbill et al., 2005). Por tanto, como hemos visto en los resultados expuestos, la suplementación en la dieta de los terneros con mayor proporción de bagazo, favorece el mayor grado de insaturación de los lípidos intramusculares, transfiriéndole unas mejores propiedades nutricionales a la carne de este grupo de animales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. Canadian J. of Biochemistry Physiology 37: 1911-1912. •Brownbill, R.A., et al. 2005. J. American Coll. of Nutrit. 24: 177-181. •Domínguez, R., et al. 2015. Animal 9(10):1713-1720. •European Food and Safety Authority (EFSA) 2010. EFSA Journal 8(3):1461. •Franco, D. 2010. Xunta de Galicia. ISBN 978-84-453-4945-8. •Goñi, I., et al. 2007. Poultry Sci. 47: 581-591. Muiño, I. et al. 2012 Revista Complutense de Ciencias Veterinarias, Vol 6 (1):40-44. ISSN: 1988-2688. •Medina, I., et al. 2005. CTC Alimentación 23:29-35. ISSN: 1577-5917. •Moreno, T., et al. 2007. Animal 1:1227-35. •Park, Y. & Pariza, M.W. 2007. Food Research International 40: 311-323. •SAS Inst. Inc., 2006. SAS/STAT v. 8. SAS Inst. Inc., Cary, USA. •Yu, B.P. 1994. Physiological Reviews. Vol., 74. (1):139-162.

**Agradecimientos:** Este estudio forma parte del proyecto INIA RTA 2014-00082-C03-01.

## NUTRITIONAL QUALITY FROM TERNERA SUPREMA VEAL BY DIFFERENT LEVELS OF GRAPE MARC SUPPLEMENTATION ON THEIR DIET

**ABSTRACT:** This work is of great interest for the agricultural-livestock sector, since it uses by-products for cattle feeding, in order to improve the nutritional quality of meat. There is no previous research on the supplementation of the calf diet with by-products of high antioxidant power. The objective of this work is to improve the nutritional quality of veal through the added value of by-products from the wine sector, therefore the effect of grape marc (0%, 33%, 66% and 100% level) as supplement of the calf diet on the quality of veal was assessed. An experimental herd raised under the label IGP "Ternera Gallega" was used. Forty male calves weaned at 7 months of age were randomly assigned to 8 homogeneous lots (5 calves/lot). Four treatments were tested with two lots per treatment, that served as replications were randomly assigned. The treatment was carried out for two months before slaughter. Once animals were slaughtered, the *L.dorsi* was analyzed for determining the effect of the inclusion level of grape marc on the fatty acid profile. The higher supplementation (100%) of grape marc on calves diet increased the unsaturated intramuscular lipids content, improving the veal nutritional characteristics from this group of animals.

**Keywords:** by-products, nutritional quality, grape marc

## SUSTITUCIÓN PARCIAL O TOTAL DE ENSILADO DE MAÍZ POR ENSILADO DE GIRASOL EN VACAS LECHERAS

Salcedo, G.<sup>1</sup>, Villar, A.<sup>2</sup>, Caloto, F.<sup>1</sup> y Pérez, R.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dpto. de Calidad e Innovación. CIFP “La Granja”, 39792 Heras, Cantabria

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria

<sup>3</sup> Promotec-PG S.L.

gregoriosalce@ono.com

### INTRODUCCIÓN

La rotación forrajera típica del norte peninsular es la formada por raigrás italiano y maíz. Los requerimientos de diversificación de cultivos durante el período de verano, impuestos por el cobro del llamado “pago verde” de la PAC, ha estimulado la demanda de información acerca de la productividad y el valor nutritivo de otros cultivos de verano alternativos al maíz (Flores *et al.*, 2016). Entre otros, se viene observando un interés creciente por el cultivo de girasol (*Helianthus annuus L.*) como alternativa al maíz. La aparición en el mercado de variedades forrajeras de girasol con bajo contenido en aceite, inferior coste de producción, rendimientos de 6,7 t MS ha<sup>-1</sup> a los 110 días (Flores *et al.*, 2016) y siembra más tardía favorece un aprovechamiento más del raigrás italiano. El potencial productivo y nutritivo aparece bien documentado en la literatura (Jayme *et al.*, 2009; Flores *et al.*, 2016), sin embargo son escasos los trabajos en producción de leche en condiciones de clima atlántico. No obstante experiencias fuera de España describen un menor potencial de leche del ensilado de girasol frente a los de maíz (McGuffey y Schingoethe 1980; Silva *et al.*, 2004). El objetivo de este experimento en una primera aproximación fue el de valorar el potencial del ensilado de girasol respecto a la combinación con ensilado de maíz en la producción de leche y composición química.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales y dietas:** 18 vacas Holstein-Friesian fueron distribuidas al azar en tres grupos iguales (n=6), siguiendo un diseño experimental en cuadrado latino (3x3) tres proporciones de ensilado de girasol mezclado con ensilado de maíz en la dieta (100<sub>G</sub>-0<sub>M</sub>%, 67<sub>G</sub>-33<sub>M</sub>% y 33<sub>G</sub>-67<sub>M</sub>%) por tres períodos de 14 días, 13 de adaptación a la dieta y el último de control. La variedad Rumbosol 91 fue recolectada a 105 días en el estado fenológico R7 (Schneider y Miller, 1981). El girasol fue conservado en un silo trinchera sin adición de conservante. Debido al bajo contenido de materia seca, se intercalaron capas de heno de hierba al 2% aproximadamente para compactar. La alimentación antes del experimento consistía en pasto, ensilado de maíz y concentrado. El rebaño lo componían 6 primíparas y 12 multíparas, con 31±7 kg de leche día, 145±53 días de lactación; 3,71%±1,4 de grasa, 3,10%±0,33% de proteína y un peso vivo de 625±55 kilos. Las vacas permanecieron estabuladas desde el 14 de noviembre al 23 de diciembre. Además de los ensilados descritos anteriormente, las vacas fueron suplementadas con ensilado de pradera en rotopaca y concentrado. Este último era una mezcla de cebada, 34%; maíz, 28%, gluten de maíz, 4,4%, semilla entera de algodón, 4%; harina de soja, 16%, pulpa de remolacha, 8%; jabones cálcicos, 2%; carbonato cálcico, 1%, fosfato bicálcico, 0,35%; cloruro sódico, 0,78%; bicarbonato sódico, 0,71% y corrector vitamínico mineral, 0,75%. Las vacas fueron suplementadas con 150 g de bicarbonato sódico al día. La composición media del concentrado fue: 882 g kg<sup>-1</sup> de MS, 171 g kg<sup>-1</sup> MS de PB, 388 g kg<sup>-1</sup> MS de almidón (ALM) y energía neta leche (ENL) de 1,8 Mcal kg<sup>-1</sup> MS respectivamente. El forraje ofertado y el rechazo se pesó diariamente, estimándose por diferencia el consumido. Después de cada ordeño las vacas fueron suplementadas con 3,6 kg de materia seca de concentrado y 150 g de bicarbonato sódico.

**Producción y análisis químicos de la leche:** la producción de leche fue registrada con un medidor Waikato MKV milk meter (Miling Systems, NZ). Una alícuota de cada ordeño fue depositada en contenedores estériles de 50 cc conteniendo 2-3 gotas de

azidiol y conservándose en nevera hasta su posterior análisis. Los análisis de grasa, proteína, lactosa, magro y urea de la leche fueron realizados en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Cantabria. La producción de leche fue corregida al 4% graso según Gaines, (1928) y por el contenido de sólidos totales (Tyrrel y Reid, 1965). *Análisis estadístico:* los efectos lineal y cuadrático del consumo, producción y composición química de la leche se analizaron mediante contrastes ortogonales, con el SPSS 15.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ensilado de girasol (EG) del presente experimento contiene menos materia seca (18,1 vs 33,1%) y digestibilidad in vitro de la materia orgánica (56,3 vs 69,4%) que el de maíz (MZ); pero más proteína (12,5 vs 7,1%), fibra ácido detergente (32,3 vs 26,3%), fibra neutro detergente (52,9 vs 45,5%), extracto etéreo (12,2 vs 2,2%) y cenizas (9,57 vs 4,9%). La sustitución parcial o total de ensilado de maíz (EM) por ensilado de girasol (EG) no afectó al consumo final de materia seca total (Tabla 1); por el contrario, aumentó linealmente la mezcla EG-EM, reduciéndose de igual forma el EG, con incrementos significativos del ensilado de hierba ( $P < 0,001$ ). La ingesta de proteína bruta disminuyó linealmente al reducir el EG; por el contrario, la ingesta de materia orgánica digestible si bien no fue diferente entre las dietas 100<sub>G</sub>-0<sub>M</sub>% y 67<sub>G</sub>-33<sub>M</sub>%, se incrementó linealmente un 8,6% en 33<sub>G</sub>-67<sub>M</sub>%. En todos los casos los gramos de proteína por Mcal de energía neta leche se sitúan por debajo de 100 g Mcal<sup>-1</sup> indicado por Salcedo y Villar (2016).

**Tabla 1.** Producción y composición química de la leche

	100 <sub>G</sub> -0 <sub>M</sub> %	67 <sub>G</sub> -33 <sub>M</sub> %	33 <sub>G</sub> -67 <sub>M</sub> %	et	L	C
<b>Ingesta de materia seca y nutrientes</b>						
Ensilado, girasol-maíz, kg MS d <sup>-1</sup>	6,6	8,2	10,2	0,30	***	ns
Ensilado hierba, kg MS d <sup>-1</sup>	8,1	6,8	4,3	0,17	***	***
MS total, kg d <sup>-1</sup>	21,9	22,2	21,9	0,37	ns	ns
FND, kg d <sup>-1</sup>	10,6	10,5	10,2	0,18	ns	ns
PB, kg d <sup>-1</sup>	3,0	2,9	2,6	0,037	***	**
MOD, kg d <sup>-1</sup>	13,9	13,8	14,7	0,19	***	***
ENL, Mcal d <sup>-1</sup>	34,0	34,7	34,6	0,49	ns	ns
G PB/Mcal ENL	89,2	83,5	76,2	0,25	***	***
<b>Producción de leche</b>						
Litros, L d <sup>-1</sup>	22,6	24,2	25,3	1,08	ns	ns
FCM, L d <sup>-1</sup>	22,9	24,6	25,5	1,03	ns	ns
Corregida por sólidos, L d <sup>-1</sup>	22,2	23,8	24,7	0,96	ns	ns
<b>Composición química de la leche</b>						
Grasa bruta, %	4,13	4,18	4,18	0,18	ns	ns
Proteína bruta, %	3,00	2,93	2,92	0,07	ns	ns
Grasa/Proteína	1,39	1,42	1,41	0,06	ns	ns
Lactosa, %	4,77	4,80	4,82	0,03	ns	ns
Extracto seco magro, %	8,54	8,56	8,63	0,08	ns	ns
Urea, mg L <sup>-1</sup>	145	94	19	16	***	***

FND: fibra neutro detergente; MOD: materia orgánica digestible; ENL: energía neta leche; FCM: leche corregida al 4% graso; et: error típico; L: efecto lineal; C: efecto cuadrático; \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$

La producción de leche, la corregida al 4% graso (FCM) y por sólidos no fue diferente entre tratamientos (Tabla 1), pero sí numéricamente inferior un 7,5% y 11,9% en 100<sub>G</sub>-0<sub>M</sub>% y 67<sub>G</sub>-33<sub>M</sub>% respectivamente. Por su parte Fisher *et al.* (1993) observan mayor producción de leche bruta en dietas con ensilado de girasol, pero inferior cuando se corrige al 4% graso. Los trabajos de Silva *et al.* (2004) observaron descensos de leche de 3,2 y 3,5 litros al 4% en vacas lecheras cuando sustituyen el 33% y 66% de ensilado de maíz por el de girasol y similares a 1,9 litros indicado por McGuffey y Schingoethe (1980). Los porcentajes de grasa, proteína, lactosa y magro no fueron diferentes entre tratamientos (Tabla 1). No hay unanimidad respecto a si la suplementación con EG reduce el porcentaje de grasa en la leche (Fisher *et al.*, 1993; Silva *et al.* 2004). La ausencia de diferencias significativas de grasa mostró que no

hubo inhibición en la síntesis de grasa entre tratamientos. No obstante el efecto ruminal de los lípidos que causan descensos de grasa en leche está asociado a efectos tóxicos sobre la población microbiana, resultando una menor producción de acético y butírico en rumen (Banks *et al.*, 1983). Posiblemente en esta experiencia el ensilado de hierba, contribuyó a mantener aceptables condiciones de acidez. La relación grasa/proteína se mantuvo dentro de los niveles de 1,2 a 1,6 considerados óptimos por Hanuš *et al.* (2004). El mayor contenido de urea se registró en 100<sub>G</sub>-0<sub>M</sub>% (P<0,05), disminuyendo linealmente conforme se redujo el porcentaje de ensilado de girasol en la dieta. Dicha reducción representó el 35,2% en 67<sub>G</sub>-33<sub>M</sub>% y del 86,8% en 33<sub>G</sub>-67<sub>M</sub>%, debido al menor contenido de proteína de las dietas (13,8%, 13,0% y 12,0%) para 100<sub>G</sub>-0<sub>M</sub>%, 67<sub>G</sub>-33<sub>M</sub>% y 33<sub>G</sub>-67<sub>M</sub>% respectivamente.

### CONCLUSIONES

El girasol es un forraje alternativo al maíz que puede ser útil para colaborar en la diversificación de cultivos que exige la PAC. En este estudio el ensilado de girasol fue bien aceptado por el ganado, mejorando la ingesta al mezclarlo con el de maíz de menor contenido en agua. Dada su humedad (15-17%) en el momento óptimo de aprovechamiento, requiere más investigación para reducirla. La producción de leche con ensilado de girasol fue numéricamente inferior al del maíz y dentro de los márgenes de 1 a 3,5 litros señalados en la bibliografía. Si bien la composición química de la leche no fue diferente entre dietas, y a la espera de resultados, si se espera que se observen diferencias en el perfil de ácidos grasos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Banks, W., Clapperton, J.L. & Girdler, K. 1984. • *J. Dairy Res.* V. 51, p.387-395.
- Fisher, L.J., Bittman, S., Mir, Z., Mir, P. & Shelford. J. A. 1993. *Can. J. Anim. Sci.* 73: 539-545.
- Flores-Calvete, G., Botana-Fernández, A., Pereira-Crespo, S., Valladares-Alonso, J., Pacio-Rivas, B., Aguión-Sandá Á. & Resch-Zafra, C. (2016). *AFRIGA*, N° 121: 184-200.
- Jayme, D.G., Gonçalves, L.C., Maurício, R.M., Rodrigues, J.A.S, Rodriguez, N.M., Borges, A.L.C.C., Borges, I., Saliba, E.O.S., Pires, D.A.A., Guimarães Júnior R., Jayme, C.G. & Pereira, L.G.R. 2009. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, V.61, N° 6:1403-1410.
- McGuffey, R.K & Schingoethe, D.J. 1980. *J. Dairy Sci.* Vol 63, 7:1109-1113.
- Mir, P.S., Bittman, S. & Fisher, L.J. 1992. *Can. J. Anim. Sci.* 72: 881-889.
- Salcedo, G. & Villar, A. 2016. *Monografías Técnicas. Gobierno de Cantabria.*
- Schneiter & Miller. (1981). *Crop Science*, Vol. 21.
- Silva, B.O. Leche, L.A., Ferreira, M.I.C., Fonseca, L.M. & Reyes, R.B. 2004. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Vol.56 N°.6: 750-756.
- Tyrrel, H.F. & Reid, J.T. 1965. *J. Dairy Sci.* 48: 1215-1223.
- Hanuš, O., Vyletětlová, M., Genčurová, V., Bjelka, M., Kopecký, J. & Jedelská, R. 2004. *Mliekarstvo* 35: 31-38.

### PARTIAL OR TOTAL REPLACEMENT OF MAIZE SILING BY SUNFLOWER SILAGE IN DAIRY COWS

**ABSTRACT:** 18 Holstein-Friesian cows were randomly distributed in three equal groups (n = 6), following an experimental design in Latin square (3x3) three proportions of sunflower silage mixed with maize silage in the diet (100G-0M%, 67G -33M% and 33G-67M%) for three 14 day periods, 13 diet adaptation and the last control. The substitution of 33% or 66% of sunflower silage by maize silage did not significantly improve milk production, but it did numerically in 1.6 and 2.7 liters cow and day, coinciding with the literature. Similarly the chemical composition of milk was not different between treatments. The higher crude protein content of sunflower silage gave rise to higher urea concentrations.

**Key words:** *helianthus annuus*, production milk, chemical composition

## PROTEÓLISIS DEL QUESO DE TERUEL: INFLUENCIA DEL CONTENIDO EN SAL

Estrada, O.<sup>1</sup>, Ariño, A.<sup>2</sup>, y Juan, T.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Avda. Montañana, 930, 50059 Zaragoza

<sup>2</sup>Instituto Agroalimentario de Aragón IA2 (Universidad de Zaragoza – CITA), Facultad de Veterinaria. C/ Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza  
oestrada@cita-aragon.es

### INTRODUCCIÓN

La proteólisis es uno de los principales cambios bioquímicos que se produce durante la maduración del queso y afecta directamente a un desarrollo adecuado de la textura y al aroma e intensidad del flavor de la mayoría de los quesos madurados (McSweeney y Fox, 1997). Este proceso bioquímico se inicia con la hidrólisis de las caseínas y es llevado a cabo por diferentes tipos de enzimas (procedentes del cuajo y proteasas liberadas por las bacterias acidolácticas (BAL) presentes de manera natural en la leche y añadidas como cultivos iniciadores). Al principio de la maduración, debido a la acción de proteasas del coagulante, se liberan péptidos de peso molecular elevado o medio que sirven de sustrato a peptidasas de los cultivos iniciadores y de la microbiota endógena y dan lugar a péptidos de pequeño peso molecular y aminoácidos libres, que contribuyen directamente al flavor o, indirectamente, actúan como precursores de compuestos aromáticos (aminas, ácidos, tioles, etc) (Fox, 1989). La diferencia de concentración de sal y contenido de humedad a lo largo de la maduración en diferentes zonas del queso implica diferencias en la actividad de los sistemas enzimáticos responsables de la ruptura de las proteínas (Zorrilla y Rubiolo, 1997). El contenido en sal influye en la velocidad de hidrólisis de las caseínas durante la maduración y la extensión de este proceso de degradación juega un papel importante en el desarrollo del flavor y de la textura del queso. Al término de la maduración, cada variedad de queso ofrece un perfil nitrogenado relativamente constante y peculiar, claramente relacionado con sus características organolépticas propias y diferenciales (Mora y Marcos, 1982). Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar la proteólisis del queso de la Marca Colectiva "Productores de Leche y Queso de Teruel", elaborado con leche cruda de oveja y con un innovador formato octolobulado, así como la influencia de la sal en este fenómeno considerando el efecto de la quesería de procedencia de las muestras y de la parte analizada del queso (zona central/zona periférica). Para ello, a lo largo de 240 días se realizó el seguimiento de la concentración de sal y de diferentes fracciones nitrogenadas que clásicamente han sido utilizadas como índices de la maduración.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de queso procedieron de dos queserías ubicadas en la provincia de Teruel (Q1 y Q2). En la elaboración del queso se utilizó leche cruda de oveja procedente de las propias explotaciones. Se llevó a cabo una salazón húmeda de los quesos, por inmersión en salmuera (Q1: 16° Baumé/20 horas y Q2: 22° Baumé/12 horas). Cada quesería realizó tres lotes de fabricación, con una diferencia de 15 días entre lotes. En cada fabricación se elaboraron 8 quesos para realizar el seguimiento de la maduración los días 1, 15, 30, 60, 90, 120, 180 y 240. Se elaboraron un total de 48 quesos y en cada queso se muestrearon por separado la zona central (INT) y la periférica (EXT), por lo que se analizaron un total de 96 muestras. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por duplicado.

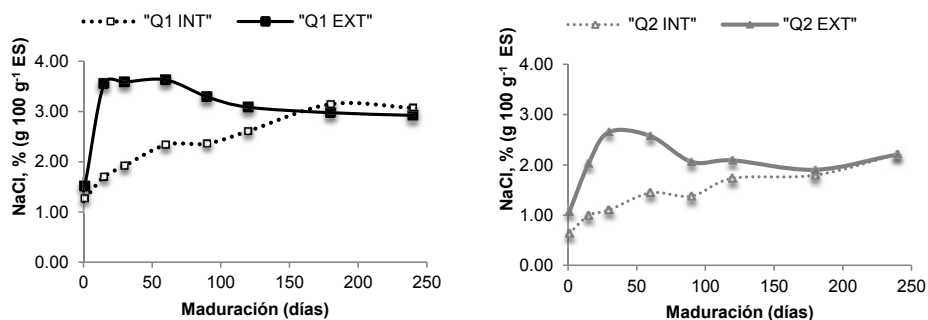
La proteólisis fue evaluada por la determinación del nitrógeno soluble en diferentes fracciones según el método propuesto por Butikofer et al., (1993). Las fracciones nitrogenadas estudiadas fueron: fracción de nitrógeno soluble en agua (NSA), fracción de nitrógeno soluble a pH 4,4 (NS-pH 4,4), fracción de nitrógeno soluble en ácido tricloroacético al 12% (NS-ATA) y fracción de nitrógeno soluble en ácido fosfotúngstico al 5% (NS-AFT). El nitrógeno total (NT) del queso se determinó siguiendo el método Kjeldahl (FIL-IDF 20B:1993). El contenido en NaCl se determinó por valoración potenciométrica siguiendo la Norma ISO 5943:2006/IDF 88, utilizando un valorador automático. La determinación del contenido total en materia seca se realizó por desecación en estufa a 102 °C hasta pesada constante siguiendo la Norma FIL-IDF 4A: 1982. El tratamiento estadístico de los resultados se realizó con el programa SPSS 19.0 (Chicago, IL, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

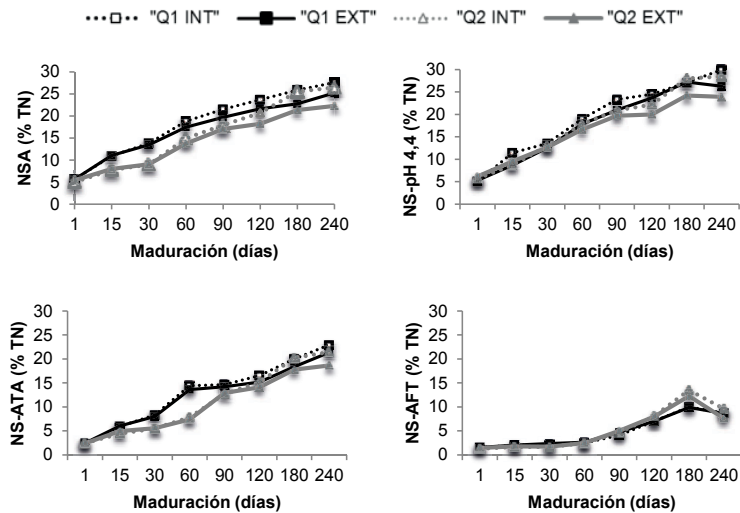
La Figura 1 muestra la evolución de la concentración de sal en cada una de las partes del queso analizadas durante la maduración. El contenido en sal se vio influido significativamente por el momento de la maduración ( $p < 0,01$ ). Al inicio de la maduración se encontraron las máximas diferencias, de un 1,85% (Q1, día 15) y 1,55% (Q2, día 30), entre la zona periférica del queso (EXT), con mayores porcentajes de sal, y la zona central (INT). Fue a partir de los 180 días de maduración cuando se alcanzó, en las muestras de ambas queserías, una distribución completa de la sal en todo el volumen de queso. Una vez alcanzado este equilibrio, la concentración de NaCl estuvo en torno al 3% y 2%, en Q1 y Q2, respectivamente. A pesar de las diferencias del contenido en sal en función de la quesería de origen ( $p < 0,001$ ), el fenómeno de distribución de la sal presentó el mismo comportamiento.

El alcance de la proteólisis durante el periodo estudiado fue moderado, como era de esperar en quesos de oveja de pasta prensada elaborados con cuajo. La Figura 2 refleja la extensión de la proteólisis (NSA/NT y NS-pH 4,4/NT), la profundidad de la proteólisis (nitrógeno no proteico) (NS-ATA/NT) y el índice de los aminoácidos libres (AAL) (NS-AFT/NT). Durante los 240 días de maduración estudiados el grado de hidrólisis que se produjo en las proteínas estuvo en torno al 20% (NSA/NT y NS-pH 4,4/NT) y el incremento del nitrógeno no proteico (NS-ATA/NT) fue del 18% (aprox.). Los efectos "tiempo de maduración" y "quesería" fueron significativos en todas las fracciones estudiadas ( $p < 0,001$  y  $p < 0,05$ , respectivamente). La cantidad de AAL (NS-AFT/NT) incrementó en un 10% hasta los 180 días, momento a partir del cual redujo su contenido un 3%. Los AAL y péptidos de bajo peso molecular (entre 7-10 aminoácidos) solubles en AFT sirven de sustrato de reacciones catabólicas secundarias, como desaminación, descarboxilación, transaminación, desulfuración, catabolismo de compuestos aromáticos como fenilalanina, tirosina, triptófano y reacciones de aminoácidos con otros compuestos (Upadhyay et al., 2004). Este hecho sugiere que en las muestras estudiadas se produce esta transformación de los AAL a partir de los 180 días de maduración.

En general el efecto de la parte analizada no fue significativo sobre la proteólisis ( $p > 0,05$ ), excepto en Q2 donde a partir de los 120 días de maduración la zona periférica del queso (con mayor concentración de sal) presentó valores significativamente inferiores para las fracciones NSA/NT y NS-pH 4,4/NT respecto a la zona interna. Este fenómeno, de acuerdo con otros autores, se explicaría por la relación inversa entre la extensión de la proteólisis y la concentración de sal (Cabezas et al., 1993; Fox et al., 2000; Guinee y Fox, 2004; Guven et al., 2006; Schroeder et al., 1988). Considerando las prácticas de elaboración ("factor quesería"), en Q1 la extensión y profundidad de la proteólisis fueron significativamente superiores que en Q2. Con estos datos se concluye que la influencia del proceso tecnológico tuvo mayor efecto en el grado de proteólisis que la concentración de sal del queso, tal y como confirmaron Delgado et al. (2010) y Galán et al. (2008).



**Figura 1.** Evolución de la concentración de cloruro sódico a lo largo de la maduración en cada una de las queserías (Q1 y Q2) en la zona interior (INT) y exterior (EXT) del queso.



**Figura 2.** Evolución de los índices de extensión de la maduración (NSA/NT y NS-pH 4,4/NT), índice de la profundidad de la maduración (NS-ATA/NT) y de los aminoácidos libres (NS-AFT/NT) a lo largo de la maduración en cada una de las queserías (Q1 y Q2) en la zona interior (INT) y exterior (EXT) del queso.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Butikofer, U. et al. 1993. Food Sci. and Tech.- Lebensm. Wiss. Technol. 26: 271-275. • Cabezas, L. et al. 1993. Revista española de ciencia y tecnología de alimentos. 33: 501-516. • Fox, P. F. 1997. J. Dairy Sci. 72: 1379-1400. • Fox, P. F. et al. 2000. Fundamentals of cheese Science. • Delgado, F. et al. 2010. Int. J. Food Sci. Technol. 45: 512-519. • Galán, E. et al. 2008. Int. Dairy J. 18: 93-98. • Guinee, T. P. et al. 2004. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. 207-259. • Guven, M. et al. 2006. Lait. 86: 73-81. • McSweeney, P. et al. 1997. Le lait 77: 41-76. • Mora, T. et al. 1982. Arch. Zootec. 31: 27-36. • Upadhyay, V. K. et al. 2004. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. 391. • Zorrilla, S. E. et al. 1997. J. Food Sci. 62: 386-389.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto INIA PET200701-C07. Los autores quieren agradecer la colaboración de la Asociación Turulense de Productores de Leche y Queso, los Grupos Consolidados de Investigación A01 y A49 (DGA) y el Fondo Social Europeo.

## PROTEOLYSIS IN TERUEL CHEESE: INFLUENCE OF SALT CONTENT

**ABSTRACT:** The effect of the salt content was evaluated on proteolysis of "Teruel Cheese" during 240 days of ripening. Samples were manufactured with ewe's raw milk in two dairies and two sampling zones (internal and external) were studied. Proteolysis was evaluated by 4 ripening index (WSN/TN, pH4.4-SN/NT, TCA-SN/TN and PTA-SN/TN). Both dairies showed the same behavior and all samples reached a uniform salt distribution at 180 days of ripening, although the final salt content was different in each dairy. Proteolysis did not differ significantly between sampling zones. However, there was significant effect due to dairy. Proteolysis increased during 240 days ripening but free amino acid content (PTA-SN/TN) decreased since 180 day ripening, suggesting that free amino acids enter other metabolic pathways. Despite the differences found in salt concentration between the external and internal zones of the cheese until 180 days, proteolysis did not differ significantly between sampling zones. Considering this results, the influence of the cheese making process had a greater effect on the degree of proteolysis than the salt concentration.

**Keywords:** cheese, ripening, proteolysis, salt



## **CALIDAD DE LA LECHE DE OVEJAS MANCHEGAS VS CONJUNTO DE OVINOS EN CASTILLA LA MANCHA**

Salcedo, G.<sup>1</sup>, Romero, J.<sup>2</sup> y Vázquez, I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dpto. de Calidad e Innovación. CIFP “La Granja”, 39792 Heras, Cantabria

<sup>2</sup> Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla-La Mancha (LILCAM), Talavera de la Reina (Toledo)

<sup>3</sup> Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria  
gregoriosalce@ono.com

### **INTRODUCCION**

La producción de queso durante el año 2015 fue de 14,5 millones de kilos, según la Fundación del Consejo Regulador de la Denominación de Origen Queso Manchego (DOQM), lo que representa un 14,7% más respecto al año anterior. El ovino en Castilla la Mancha representa el 15,2% al total del territorio español, equivalente a una población de 2.494.566 animales (MAGRAMA, 2014). El valor añadido de sus productos, principalmente queso, hace que la calidad de la leche sea fundamental. El objetivo del presente trabajo se centra en evaluar y actualizar los valores de composición química de la leche de las ovejas de raza Manchega incluidas a la DOQM y las ovejas no adscritas de otras razas.

### **MATERIAL Y METODOS**

Un total de 737.899 muestras de leche de las explotaciones de ovino de Castilla, analizadas en el Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla la Mancha durante los años 2012 al 2015 fueron clasificadas en dos grupos: *i*) ovinos de raza Manchega adscritos en la Denominación de Origen Queso Manchego (DOQM) y, *ii*) no adscritos a la DOQM definidos como (CO). Las determinaciones de Materia Grasa, Proteína, Lactosa, Sólidos Totales y Urea, se llevaron a cabo con un equipo MILKOSCAN FT+ (FOSS A/S, Hillerød, Denmark), con tecnología FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy). La determinación de Células Somáticas se realizó con un equipo FOSSOMATIC FC (FOSS A/S, Hillerød, Denmark), con tecnología de citometría de flujo. Para el recuento de células somáticas se utiliza una tinción basada en bromuro de etidio que tiñe las moléculas de DNA presentes en las células somáticas.

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (Anova) para testar las diferencias de Grasa, Proteína, Lactosa, Sólidos Totales, Urea, Punto Crioscópico y Células Somáticas entre los dos grupos de ovinos, así como el año, el mes y la estación.

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Los valores medios, desviación típica (SD), percentiles 25, 50 y 75, así como el límite de confianza de la composición química de la leche procedente de muestras del conjunto ovinos (CO) y las incluidas en la Denominación de Origen Queso Manchego (DOQM) vienen indicadas en la Tabla 1. Para el total de muestras, los resultados revelaron concentraciones medias y desviación típica de 7,25±0,94% para la grasa bruta (GB), 5,78±0,52% la proteína (PB); 4,58±0,31 la lactosa (LAC); 18,5±1,2 los sólidos totales (ST); 1.231±704 X1000 cel ml<sup>-1</sup> el recuento celular somático (RCS); 505±157 mg L<sup>-1</sup> de urea y 576±157 °C el punto crioscópico. Los contenidos de GB, PB, LAC y urea para las ovejas de la DOQM fueron similares a los señalados por Jiménez *et al.* (2016) en el bienio 2012-2013 tomadas de 77 explotaciones. Por su parte Arias *et al.* (2016), constatan concentraciones similares para GB, PB, ST y RCS para la raza Manchega de 7,49%; 5,96%; 18,9 y 1026 x1.000 cel ml<sup>-1</sup> respectivamente a la del presente trabajo. El análisis de varianza mostró diferencias significativas de las determinaciones realizadas a nivel de grupo de ovinos, año, mes y estación (P<0,001). Las concentraciones de GB, PB, ST y urea fueron superiores un 6,7%; 6,2%; 4,7% y 1,9% respectivamente en las ovejas de la DOQM, e inferior LAC y RCS (Tabla 1).

**Tabla 1.** Composición química de la leche de los grupos de ovinos analizados

	<b>GB,</b> <b>%</b>	<b>PB,</b> <b>%</b>	<b>LAC,</b> <b>%</b>	<b>ST,</b> <b>%</b>	<b>PC,</b> <b>°C</b>	<b>Urea,</b> <b>mg L<sup>-1</sup></b>	<b>RCS,</b> <b>X1000 cel</b> <b>ml<sup>-1</sup></b>
<b>Conjunto ovinos</b>							
Medias	7,01	5,60	4,95	18,10	574	500	1266
n	382.2	382.2	382.18	382.2	379.8	381.8	377.598
	00	07	6	06	14	27	
St	0,92	0,51	0,34	1,25	19	154	684
Per 25	6,42	5,26	4,45	17,31	569	401	837
Per 50	6,95	5,53	4,65	18,00	575	483	135
Per 75	7,54	5,87	4,8	18,82	582	576	1.522
Límite confianza	7,01-	5,59-	4,59-	18,01-	574-	499-	1.264-
95%	7,02	5,60	4,59	18,11	574	500	1.268
<b>Denominación Origen Queso Manchego</b>							
Medias	7,52	5,98	4,57	19,0	578	510	1192
n	342.2	342.2	342.26	342.2	340.3	341.8	337.636
	77	76	9	76	35	85	
St	0,88	0,29	0,29	1,16	18	160	725
Per 25	6,97	5,68	4,43	18,27	573	407	740
Per 50	7,48	5,93	4,62	18,93	580	490	1.035
Per 75	8,04	6,22	4,76	19,67	586	587	1.438
Límite confianza	7,52-	5,98-	4,45-	19,00-	578-	509-	1.190-
95%	7,52	5,98	4,57	19,01	578	510	1.194
P, grupo de ovinos	***	***	***	***	***	***	***
P, año	***	***	***	***	***	***	***
P, mes	***	***	***	***	***	***	***
P, estación	***	***	***	***	***	***	***

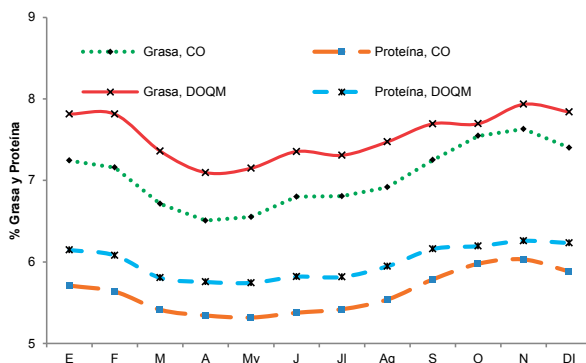
**GB:** Grasa gruta; **PB:** Proteína bruta; **LAC:** Lactosa; **ST:** Sólidos totales; **RCS:** Recuento Células somáticas; **PC:** Punto crioscópico; n: número de casos; Per 25, 50 y 75: percentiles; **P:** probabilidad

El 41,8% de las muestras del grupo CO se concentran en el rango de 6,1 al 7% de grasa bruta; mientras las ovejas de la DOQM lo hicieron el 23,5%. La mayor proporción de muestras en los ovinos DOQM se encontró en el rango 7,1-8% de grasa bruta. No obstante, el 86,5% para CO y el 91,7% en DOQM de las muestras contienen del 6,1 al 9% de grasa. Para la proteína, el mayor porcentaje de muestras (74,1% en CO y 57% en DOQM) se sitúan en concentraciones comprendidas entre 5,01-6,0%. El 90,9% de las muestras en CO y el 96,7% en DOQM contienen entre el 5,01 y 7% de proteína bruta. En la lactosa, el porcentaje de muestras fue muy similar entre grupos, situándose las ovejas CO con un 92,1% y 93,5% las DOQM entre concentraciones variables de 4,01 a 5%. Proporciones inferiores al 4% de lactosa solo fueron observadas en el 4,1% de las muestras en OC y del 3,9% en DOQM; mientras, proporciones superiores al 5% solo representan el 3,7% y 2,56% en OC y DOQM respectivamente.

El 90,8% de las muestras de leche en CO presentó concentraciones de sólidos totales variables de 16,0 al 20% y el 82,5% para la leche de la DOQM. Sin embargo, el rango 20 al 22% fue del 15,8% en la DOQM y 6,1% en el grupo conjunto de ovinos. Contenidos inferiores al 16% de sólidos totales solo fueron observados en el 0,34% y 0,14% de las muestras en CO y DOQM respectivamente. Respecto a la urea, el 88,2% y 88,1% de las muestras de leche manifestaron concentraciones variables de 300 a 750 mg L<sup>-1</sup>. Independientemente de la procedencia de la leche, el 39,9% de las muestras se sitúan en el rango 450 a 600 mg L<sup>-1</sup>. El 55,9% del grupo CO presentó un recuento celular somático medio de 1541 y, el 47,2% las ovejas DOQM de 1549 de

x1000 cel ml<sup>-1</sup>; mientras, el 91,4% y 91,3% el RCS varió desde 738 a 1.541 en CO y de 717 a 1.549 la DOQM.

La Figura 1 representa la evolución de GB y PB a lo largo del año en ambos grupos de ovejas. La menor concentración de GB y PB en la leche de CO y DOQM se localizó en los meses de abril y mayo.



**Figura 1. Evolución de grasa y proteína a lo largo del año de las ovejas CO y DOQM**

### CONCLUSIONES

Las concentraciones de grasa, proteína, sólidos totales y urea son superiores en los ovinos de la Denominación de Origen Queso Manchego, e inferior la lactosa. La menor concentración de grasa y proteína, independientemente del grupo se localiza en los meses de primavera y la mayor en los de otoño.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arias, R., Gallego, R., Altares, S., Garzón, A., Romero, J., Jiménez, L., Oliete, B., Arias, C., Caballero, J., Martínez, A., Núñez, N., García, A., Ramón, M., Montoro, V. & Pérez-Guzmán, M.D. 2016. Arch. Zootec. Vol. 65 (251), 469-473.
- Jiménez, L., Romero, J., Garzón, A., Poveda, J., Martínez, A., Núñez, N., Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D. & Arias, R. 2016. XLI Congreso Nacional. XVII Congreso Internacional. SEOC.
- MAGRAMA. 2014. Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios.

### QUALITY OF SHEEP MANCHEGAS MILK vs. ASSEMBLY OF SHEEP IN CASTILLA LA MANCHA (SPAIN)

**ABSTRACT:** A total of 737.899 samples of milk from the sheep farms of Castilla la Mancha, analyzed at the Interprofessional Dairy Laboratory of Castilla la Mancha during the years 2012 to 2015 were classified into two groups: i) sheep group (CO) and ii) those enrolled in The Denomination of Origin Queso Manchego (DOQM). The results showed higher concentration of fat, protein and total solids from DOQM herds.

**Key words:** sheep, chemical composition, geographical area

## **EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LECHE DE OVEJAS DE LA RAZA MANCHEGA: APLICACIÓN DE SERIES TEMPORALES**

Vázquez, I.<sup>3\*</sup>, Romero, J.<sup>2</sup> y Salcedo, G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dpto. de Calidad e Innovación. CIFP “La Granja”, 39792 Heras, Cantabria.

<sup>2</sup> Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla-La Mancha (LILCAM). Talavera de la Reina (Toledo).

<sup>3</sup> Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria.  
ibanvazquez@cifacantabria.org

### **INTRODUCCION**

La producción de queso durante el año 2015 fue de 14,5 millones de kilos, según la Fundación del Consejo Regulador de la Denominación de Origen Queso Manchego (DOQM), lo que representa un 14,7% más respecto al año anterior. El ovino en Castilla la Mancha representa el 15,2% al total del territorio español, equivalente a una población de 2.494.566 animales (MAGRAMA, 2014). El valor añadido de sus productos, principalmente queso, hace que la calidad de la leche sea uno de los objetivos fundamentales. El objetivo del presente trabajo es evaluar la composición química de la leche de ovejas de raza Manchega para la producción de queso bajo DOQM, y analizar la evolución de la grasa, proteína y células somáticas, entre 2012 y 2015.

### **MATERIAL Y METODOS**

Un total de 348.638 muestras de leche procedentes de explotaciones de ovino de la raza manchega que producen queso bajo la Denominación de Origen Queso Manchego, fueron analizadas en el Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla la Mancha entre enero de 2012 y diciembre de 2015. Las determinaciones de Materia Grasa, Proteína, se llevaron a cabo con un equipo MILKOSCAN FT+ (FOSS A/S, Hillerød, Denmark), con tecnología FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy). La determinación de Células Somáticas se realizó con un equipo FOSSOMATIC FC (FOSS A/S, Hillerød, Denmark), con tecnología de citometría de flujo. Para el recuento de células somáticas se utiliza una tinción basada en bromuro de etidio que tiñe las moléculas de DNA presentes en las células somáticas.

Los datos fueron sometidos a unos análisis de estadísticos descriptivos y de la varianza (ANOVA), para testar diferencias de Grasa, Proteína, Lactosa, Sólidos totales, Punto Crioscópico, Urea y Células somáticas en función del año y del mes. Seguidamente, se ha calculado un valor promedio mensual para la grasa, proteína y recuento de células somáticas y aplicado la metodología de series temporales (Calcedo *et al.*, 2015), que ha permitido analizar su evolución en el tiempo (tendencia, variaciones estacionales, cíclicas, residuales) y modelizar su comportamiento en el 2016.

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Los valores medios, número de muestras válidas, desviación típica (St), percentiles 25, 50 y 75, así como el límite de confianza de la composición química de la leche, vienen indicados en la Tabla 1. Arias *et al.* (2016), constatan concentraciones similares de GB, PB, ST y RCS para la raza Manchega de 7,49%; 5,96%; 18,9 y 1026 X1000 células ml<sup>-1</sup> respectivamente. El análisis de varianza mostró diferencias significativas de las determinaciones realizadas a nivel de año y mes (P<0,001) (Tabla 1).

En la figura 1 aparecen los resultados de aplicar las series temporales a los valores medios de GB, PB y RCS. En la parte izquierda se representa la evolución entre enero de 2012 y diciembre de 2015 de la GB, PB y RCS, su tendencia con un ajuste de regresión lineal y una modelización (regresión lineal o cúbica) de sus valores para el 2016. En la parte derecha se representan las variaciones estacionales, cíclicas y residuales. El porcentaje de GB oscila entre valores máximos del 8,1%, registrados en noviembre de 2012, y valores mínimos del 7% en abril de 2015. Su evolución general

en el tiempo (tendencia), es ligeramente decreciente, con una recta de regresión cuya pendiente del -0,6% se ajusta en un 82% a los datos. La modelización llevada a cabo, mediante un modelo de regresión lineal ( $R^2= 0,374$ ), sigue esta tendencia y pronostica para diciembre de 2016 un porcentaje de GB del 7,61%. En relación a las variaciones estacionales, aquellas que se producen con periodicidad igual o inferior al año, se aprecia para toda la serie analizada que los valores mínimos se registran en abril (-0,47%) y los máximos en noviembre (0,43%).

**Tabla 1.** Composición química de la leche de oveja de la raza manchega

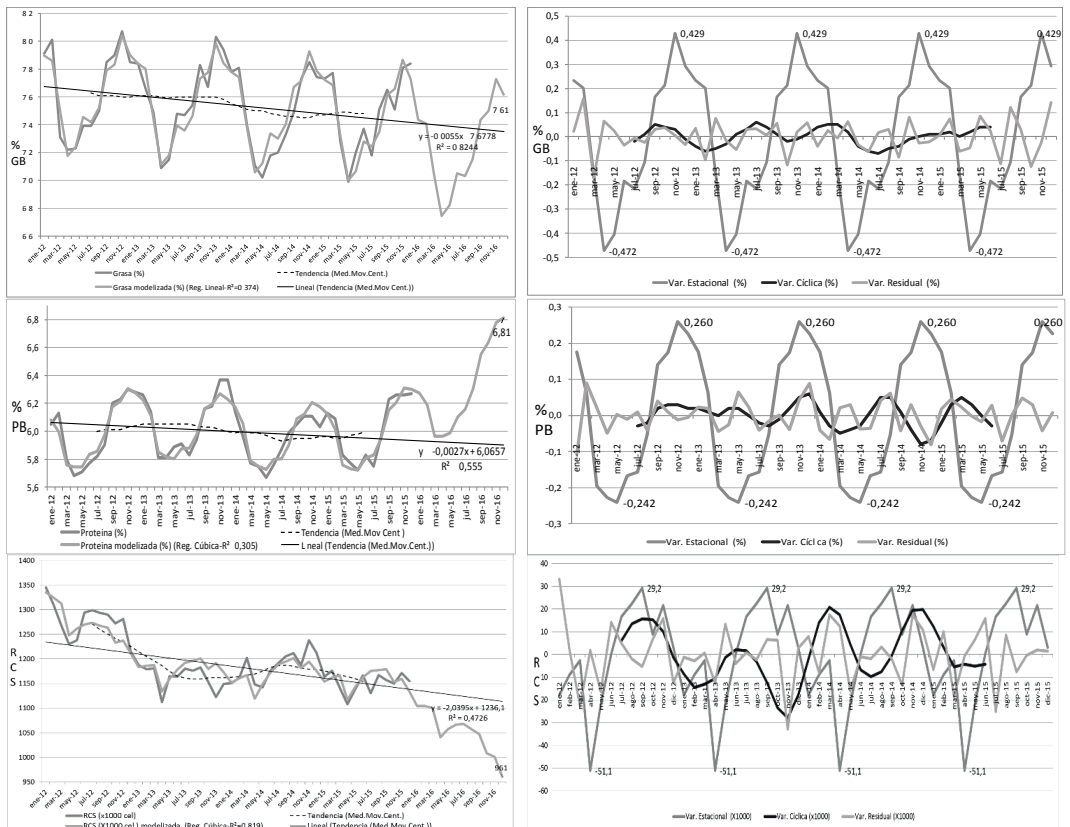
	GB, %	PB, %	LAC, %	ST, %	PC, °C	Urea, mg L <sup>-1</sup>	RCS, X1000 cel ml <sup>-1</sup>
Medias	7,52	5,98	4,57	19,0	579	510	1192
n	342277	342276	342269	342276	340335	341885	337636
St	0,89	0,46	0,29	1,17	18,2	161	725
Per 25	6,97	5,68	4,43	18,27	573	407	740
Per 50	7,48	5,93	4,62	18,93	580	490	1035
Per 75	8,04	6,22	4,76	19,67	586	587	1438
Límite	7,522	5,981	4,572	19	578,7	509,6	1190
confianza 95%	7,527	5,984	4,574	19,01	578,8	510,7	1195
P, año	***	***	***	***	***	***	***
P, mes	***	***	***	***	***	***	***

**GB:** Grasa bruta; **PB:** Proteína bruta; **LAC:** Lactosa; **ST:** Sólidos totales; **RCS:** Recuento Células somáticas; **PC:** Punto crioscópico; n: número de casos; Per 25, 50 y 75: percentiles; **P:** probabilidad

El porcentaje de PB oscila entre valores máximos del 6,4%, en noviembre de 2013, y mínimos del 5,7% en mayo de 2014. Su tendencia podría considerarse neutra, a pesar de tener una pendiente ligeramente decreciente, pues su valor y ajuste a la recta de regresión son inferiores. El modelo de regresión cúbica ( $R^2= 0,305$ ) pronostica para el año 2016 una subida del porcentaje de proteína hasta el 6,8% en diciembre. Las variaciones estacionales son más reducidas y prácticamente coinciden con las de la grasa; los valores máximos se registran en noviembre (0,26%) y los mínimos un mes más tarde, en mayo (-0,24%).

El recuento de células somáticas oscila entre un valor máximo de 1345 X1000 células ml<sup>-1</sup>, alcanzado al inicio de la serie (enero de 2012) y mínimo de 1108 X1000 células ml<sup>-1</sup> en abril de 2015. La tendencia, tal y como muestra la recta de regresión (pendiente del -204%) es claramente decreciente, habiéndose reducido en 4 años en 190 X1000 células ml<sup>-1</sup> el recuento de células somáticas. El modelo de regresión cúbica, que presenta un buen ajuste ( $R^2=0,82$ ), acentúa esta tendencia y pronostica para diciembre de 2016 un descenso hasta las 961 X1000 células ml<sup>-1</sup>. Las variaciones estacionales mínimas (-51,1 x 1000 células ml<sup>-1</sup>) coinciden en abril con las de la grasa, mientras que las máximas (29,2 x 1000 células ml<sup>-1</sup>) se producen en septiembre.

En la figura 1 también se observa que las variaciones cíclicas, con periodicidad superior al año, han influido significativamente en la evolución del RCS, concretamente en noviembre del año 2013 y a comienzos y finales del año 2014.



**Figura 1.** Evolución mensual, tendencia, modelización y variaciones de los principales parámetros de calidad (GB, PB y RCS) de leche de oveja de la raza Manchega.

## CONCLUSIONES

Las concentraciones de grasa y proteína, siguen una tendencia ligeramente decreciente, mucho más intensa en el caso de las células somáticas. Existe una marcada estacionalidad en la evolución de la concentración de grasa y proteína, con valores máximos en noviembre y mínimos en abril y mayo. En el caso de las células somáticas los efectos de las variaciones estacionales son menos notorios, por la mayor relevancia de las de tipo cíclico y residual.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

•Arias, R. et al. 2016. Arch. Zootec. Vol. 65 (251), 469-473. • Calcedo, V. et al. 2015. Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros 241: 109-145. • MAGRAMA. 2014. Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios.

## QUALITY EVOLUTION OF MANCHEGA SHEEP MILK: APPLICATION OF TIME SERIES

A total of 348.638 samples of milk from Manchega breed sheep under de Origin denomination “Queso Manchego” were analyzed between 2012 and 2015 applying time series. The results showed a slightly decreased trendy in fat and protein concentration, bigger in somatic cells and seasonal effects in their values.

**Key words:** sheep, chemical composition, geographical area, time series

## **INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS DERIVADOS DE PLANTAS EN EL PIENSO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO: PERCEPCIÓN DEL CONSUMIDOR**

Panea, B., Albertí, P., Ripoll, G.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón-IA2.  
Avenida de Montañana 930, 50059 Zaragoza. bpanea@aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

Para conseguir alimentos seguros debemos tener animales sanos. Aragón es una región con niveles de prevalencia de *salmonellosis* muy por encima de la media europea (Vico y Mainar-Jaime, 2009). Los extractos derivados de plantas EDP poseen propiedades antimicrobianas y actúan sobre el control de la infección por *Salmonella spp.* en condiciones naturales de explotación. La utilización de productos naturales ayudaría a disminuir el uso de antibióticos y otros productos farmacológicos. Sin embargo, si alimentamos a los cerdos con una grasa rica en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), la grasa de su carne será más susceptible a la oxidación. La estabilidad de los lípidos frente a la oxidación se puede conseguir mediante antioxidantes sintéticos (Gray *et al.*, 1996; Jensen *et al.*, 1997) pero los consumidores los rechazan debido a su posible toxicidad, por lo que las investigaciones más recientes se han centrado en antioxidantes de origen natural, entre los que se encuentran los derivados de las plantas (Botsoglou *et al.*, 2002; Haak *et al.*, 2008; Luna *et al.*, 2010; Simitzis *et al.*, 2008; Simitzis *et al.*, 2010). Pero además, para conseguir alimentos seguros, éstos deben llegar al consumidor en las mejores condiciones posibles y para ello es fundamental el envasado. El vacío permite el alargamiento del periodo de conservación al impedir el crecimiento de bacterias aeróbicas (Bell *et al.*, 1996; Gill y Jones, 1996; Gill y McGinnis, 1995), pero confiere a la carne un color pardo poco atractivo. El MAP mantiene el color rojo deseable de la carne y previene el crecimiento de patógenos, pero incrementa la oxidación (Renner, 1986). En los envases tipo skin no hay apenas pérdida de color y la oxidación se minimiza (Belcher, 2006). El objetivo del presente trabajo fue investigar si la adición de extractos derivados de plantas a la dieta de los cerdos influye en la valoración sensorial por parte del consumidor.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 72 animales, 36 machos y 36 hembras, repartidos en tres lotes: control, aceite y ajo. Lote control: pienso comercial. Lote aceite: pienso control + 2 Kg aceite/Tm pienso. La mezcla de aceites esenciales utilizada estaba compuesta por carvacrol, timol, aldehído cinámico y eugenol (Molimen, Barcelona). Lote ajo: pienso control + 0,5Kg/Tm pienso de derivado del ajo (aliina y alicina, Domca, S.A., Granada). A las 24 horas tras el sacrificio, se extrajeron los músculos *Longissimus thoracis et lumbroum* de las medias canales izquierdas. Se muestrearon 2 filetes de lomo por animal, se envasaron al vacío el día 1 tras el sacrificio y se congelaron a -20°C. Se utilizó la técnica "home-test". Para ello, se reclutaron 72 consumidores. A cada consumidor se le entregaba un paquete con dos muestras, previamente identificadas con un número de tres dígitos. Además, se les entregaba un cuestionario e instrucciones para la realización de la prueba. Los consumidores no tenía información sobre los filetes, aparte de la especie. Se les pidió que valorasen el sabor, jugosidad y ternura, utilizando una escala de 10 puntos (1, no me gusta nada; 10, me gusta mucho). Además, se les preguntó su género, edad, si les gustaba la carne y con qué frecuencia comían carne.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La muestra estaba equilibrada por género (45,8% de hombres). El porcentaje de consumidores de cada grupo de edad fue similar en los dos géneros ( $\leq 25$  años, 7%; 26-40 años, 17%; 41-55 años, 21%;  $> 55$  años, 17%). A la mayoría de la gente (67%) le gusta mucho la carne, pero el consumo es moderado: el 69% la consume entre 3 y 6 veces por semana y sólo el 9% consume carne a diario. Ngapo *et al.* (2007), en un

estudio con consumidores llevado a cabo en varios países europeos, demostraron que a la mayoría de los consumidores españoles les gusta la carne de cerdo (90% de los encuestados) y que comen cerdo una vez a la semana (67%). Estos resultados están también de acuerdo con los presentados por otros autores con consumidores españoles (Font i Furnols *et al.*, 2012). El sabor se vió afectado sólo por el sexo ( $p=0.002$ ) y la carne de los machos fue mejor valorada que la de las hembras (7.20 y 6.23, respectivamente), especialmente en el lote ajo. D'Souza y Mullan (2002) encontraron que la carne de los machos castrados resultaba más tierna que la de las hembras, pero que el sexo del cerdo no influía ni en la jugosidad ni en la apreciación general. Según Elsbernd *et al.* (2016), el sexo no influye ni en la jugosidad ni en la terneza ni en la gomosidad de la carne de cerdo pero en el presente trabajo, existen diferencias entre sexos para la jugosidad, aunque sólo dentro del lote ajo ( $p=0.004$ ). La carne de lote aceite (Tabla 1) resultó más dura que la de los otros dos lotes ( $p=0.011$ ), lo que no está de acuerdo con los resultados de otros autores. Así, Lahucky *et al.* (2010) demostraron que a pesar de que la adición de orégano previene la oxidación de la carne, la calidad sensorial de la misma no se ve afectada por la adición de extractos de plantas. Asimismo, Rossi *et al.* (2013) describen que el efecto de la adición de plantas sobre la calidad sensorial es pequeño, de modo que solo se detectan pequeñas diferencias en la jugosidad, pero no en la terneza. Además, se encontró una interacción entre dieta y sexo para la terneza, de modo que la carne de los machos resultó más tierna que las de las hembras en el lote ajo, pero no hay diferencias entre sexos en los otros dos lotes. En cuanto al perfil del consumidor, ni la edad ni el género del consumidor afectan a la valoración de la carne. Sin embargo, el gusto por la carne en general afectó al sabor ( $p=0.057$ ) y a la jugosidad ( $p=0.021$ ), de modo que los consumidores a los que les gusta la carne dan notas más altas para ambos atributos (Tabla 2). Por otro lado, se encontró una interacción entre gusto por la carne y frecuencia de consumo para el sabor ( $p=0.000$ ), la jugosidad ( $p=0.004$ ) y la terneza ( $p=0.020$ ), de modo que si al consumidor le gusta mucho la carne, la nota de sabor baja al aumentar la frecuencia de consumo, pero ocurre lo contrario cuando al consumidor le gusta "regular" la carne. En los estudios con consumidores es habitual que se tengan en cuenta las variables sociodemográficas (sexo, edad, nivel de ingresos...) pero Ripoll *et al.* (2015). han demostrado que las características psicográficas y el estilo de vida del consumidor influyen más en su percepción que las sociodemográficas (

Tabla 1. Notas dadas a la carne en función de la dieta y sexo del cerdo

	Control		Ajo		Aceite	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Sabor	7.16	6.95	7.52 a	5.92 b	6.90	5.87
Jugosidad	7.05 xy	6.86	7.48 ax	6.08 b	6.47 y	6.54
Terneza	7.42 x	7.00 xy	7.33 ax	5.63bx	6.20 y	6.33 y

*a,b.- diferencias entre sexos para cada lote ( $p<0,05$ ); x,y.- diferencias entre lotes para cada sexo ( $p<0,05$ ).*

Tabla 2. Notas dadas a la carne en función del gusto por la carne y de la frecuencia de consumo

¿Le gusta la carne?	Frecuencia de consumo (veces/semana)	Sabor	Jugosidad	Terneza
Mucho	Pocas, 1 ó 2	6,67	6,39	6,00 b
	Entre 3 y 6	6,57	6,74	6,54 ab
	Todos los días	6,70	6,90	7,20 a
Regular	Pocas, 1 ó 2	5,70 b	6,00	6,20
	Entre 3 y 6	7,15 a	6,84	6,88

*a,b.- diferencias entre frecuencia de consumo dentro de gusto para la carne ( $p<0,05$ ).*



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Belcher JN (2006). *Meat Sci*, 74: 143-148. • Bell RG, *et al.* (1996). *Meat Science*, 42: 165-178. • Botsoglou NA, *et al.* (2002). *Meat Science*, 62: 259-265. • D'Souza DN, *et al.* (2002). *Meat Science*, 60: 95-101. • Elsbernd AJ, *et al.* (2016). *Meat Sci*, 111: 110-115. • Font i Furnols M, *et al.* (2012). *Meat Science*, 91: 448-453. • Gill CO, *et al.* (1996). *Meat Science*, 42: 203-213. • Gill CO, *et al.* (1995). *Meat Science*, 41: 19-27. • Gray JI, *et al.* (1996). *Meat Science*, 43, Supplement 1: 111-123. • Haak L, *et al.* (2008). *Meat Sci*, 78: 239-247. • Jensen C, *et al.* (1997). *Meat Science*, 45: 491-500. • Lahucky R, *et al.* (2010). *Meat Sci*, 85: 779-784. • Luna A, *et al.* (2010). *Poultry Science*, 89: 366-370. • Ngapo TM, *et al.* (2007). *Food Quality and Preference*, 18: 26-36. • Renerre M (1986). *Bulletin Technique CRZV Theix, INRA*, 65: 41-45. • Ripoll G, *et al.* (2015). *International Journal of Poultry Science*, 14: 262-275. • Rossi R, *et al.* (2013). *Meat Sci*, 95: 542-548. • Simitzis PE, *et al.* (2008). *Meat Sci*, 79: 217-223. • Simitzis PE, *et al.* (2010). *Meat Science*, 84: 670-676. • Vico JP, *et al.* (2009). XIII jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 182-184.

**Agradecimientos:** A Raúl Mainar por proporcionarnos el material animal y a Carolina Albertí, Sara Andrés y el Área de laboratorios de análisis y asistencia tecnológica del CITA por el apoyo técnico y de laboratorio. Este trabajo ha sido financiado por el Plan FITE.

## INFLUENCE OF THE ADDITION OF PLANT-BASED EXTRACTS ON PIG' FEED ON PORK MEAT QUALITY: CONSUMER PERCEPTION

**ABSTRACT:** The aim of the study was to investigate if the addition of plant-based extracts to pig' feed was affect sensory meat quality. We used 36 males and 36 females, from three experimental lots: CONTROL, feed with commercial feedlot, ALLIUM, with control feed +0,5Kg/Tm of allium extract and OIL, with control feed + 2 Kg/Tm of a carvacrol, thymol and cynamic aldehyde mixture. *Longissimus lumborum* were extracted at 24 hours post-mortem. A home-test with 72 consumers was carried out, recording taste, juiciness and tenderness scores and some psychographic variables. None of the studied factors affected juiciness. Taste was affected by sex, being meat from males better scored. Meat from oil batch was scored as tougher. There was an interaction between pig feed and sex to tenderness and then, meat from males was tenderer in allium batch but the opposite was found in oil batch and no differences were found in control batch. Neither consumer gender nor consumer age affected sensory perception. Nevertheless, liking for meat affected taste and juiciness and so, consumers who like meat very much gave higher scores for both attributes. On the other side, there was an interaction between liking form meat and consume frequency for taste.

**Keywords:** antioxidants, sex, sensory analysis

## ACTITUDES DE LOS CONSUMIDORES HACIA LA CARNE DE OVINO CON DISTINTIVO DE CALIDAD

Blasco, M.<sup>1</sup>, Maza, M.T.<sup>2</sup> y Campo, M.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural, Instituto Agroalimentario IA2, Universidad de Zaragoza-CITA 50013 Zaragoza. jblascos@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

El descenso del consumo de carne parece ser la última tendencia observada en la dieta humana en países económicamente desarrollados (Mathijs, 2015). En determinadas especies como el ovino donde el consumo observa una caída constante agravada por la crisis económica de estos últimos años, se están tomando medidas para paliar en la medida de lo posible esta situación (INTEROVIC, 2016). Una actuación que se ha desarrollado en las últimas décadas en el sector cárnico ha sido la diferenciación de productos a través de marcas de calidad, la mayoría con reconocimiento a nivel de la UE, IGP's principalmente, aunque también como iniciativa de asociaciones de productores a través de marcas colectivas. Son muchos los trabajos realizados a nivel de consumidores sobre las actitudes de los mismos ante estas marcas; sin embargo, la mayoría de ellos se han realizado en territorios como Aragón donde alguna marca de calidad tiene ya un grado de conocimiento importante y una gran tradición en su consumo. El objetivo del presente trabajo es analizar las actitudes de los consumidores ante las marcas de calidad de carne de ovino en un territorio, la provincia de Castellón, donde el consumo de carne de cordero está por debajo de la media nacional, y donde tampoco existe una marca de calidad que el consumidor asocie con el territorio a excepción de una producción minoritaria del llamado "Corder del Maestrat" que lleva a cabo una asociación de criadores.

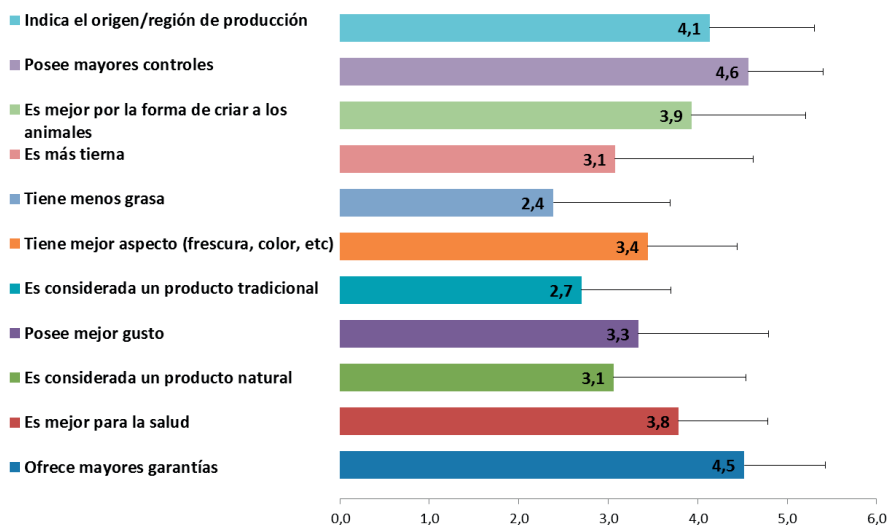
### MATERIAL Y MÉTODOS

La información necesaria para la realización del estudio se obtuvo a partir de encuestas a consumidores llevadas a cabo en los meses de mayo a octubre de 2014. Se encuestó presencialmente a un total de 300 compradores de carne de cordero, mayores de 18 años y residentes en la provincia de Castellón. Para el cálculo del tamaño muestral se utilizó la fórmula para poblaciones de tamaño infinito, considerándose como tales las mayores de cien mil habitantes.  $n_{(Total)} = (z^2 * p * q) / e^2$  donde  $z=2$ , para un intervalo de confianza del 95,5%,  $e$ =error muestral y  $p=0,5$  y  $q= 0,5$  En nuestro caso siguiendo a Rodríguez et al. (1990), se procedió a la inversa, fijando el tamaño muestral y calculando el correspondiente error máximo admisible, según el valor del nivel de confianza seleccionado, en nuestro caso del 95,5%. De este modo el error cometido ha sido del 5,7% que se considera admisible. Para conseguir la representatividad de la muestra, y dada la relación existente según la bibliografía analizada, entre las características del consumo y el tamaño del lugar de residencia (Mercasa, 2011), se tuvo en cuenta este criterio realizándose un muestreo estratificado con afijación proporcional (Pérez, 2010). De este modo el tamaño muestral se dividió entre el número de estratos de forma proporcional al número de habitantes de cada estrato. El estudio de las actitudes de los consumidores hacia las marcas de calidad se realizó a partir de la información obtenida en la encuesta a través de una escala de Likert con cinco niveles que iban desde 1=Totalmente en desacuerdo hasta 5=Totalmente de acuerdo. Posteriormente para reducir la información se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) con el paquete estadístico SPSS v.22.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los encuestados otorgaban a la carne con distintivo de calidad mayores controles (4,6) y mayores garantías (4,5) (Figura 1). También el origen era tenido muy en cuenta con 4,0 sobre 5,0 puntos de la escala de Likert. Le seguían en orden decreciente de importancia las afirmaciones "son mejores por la forma de criar los animales" (3,9) y "son mejores para la salud" (3,8). Las características relacionadas con los aspectos organolépticos tuvieron valoraciones semejantes entre sí y cercanas al valor medio, mejor aspecto (3,4), mejor gusto (3,3), y más tierna (3,1). Menores puntuaciones recibían los aspectos que consideraban que la carne con distintivo de calidad debía considerarse un producto natural (3,1) o tradicional (2,7). El último aspecto en la escala de valoración era el que consideraba que la carne con

distintivo de calidad debería tener menos grasa (2,4). Los mayoría de los estudios realizados hasta el momento han obtenido que en las carnes con distintivo de calidad es el origen lo más valorado por el consumidor (Barrena et al., 2003; Sanjuan et al., 2006; Sepúlveda et al., 2010; Verbeke et al., 2010) seguido por los mayores controles y garantía (Gracia, 2005) e incluso el mayor prestigio y confianza (Mediano et al., 2010). Solamente en el estudio de Ulloa et al., (2007) los consumidores asociaban la marca Ternasco de Aragón con una imagen de calidad basada en aspectos organolépticos.



**Figura 1.** Escala de Likert de las actitudes de los consumidores hacia las carnes con distintivo de calidad.

La realización de un análisis de componentes principales con las variables que miden las actitudes de los consumidores hacia las marcas de calidad (Tabla 1), con el objetivo de sintetizar la información obtenida, permitió obtener dos factores con autovalores mayores a 1 que explicaban el 55,1% de la varianza total considerándose aceptable (Ness, 2011). La prueba de esfericidad de Bartlett ( $P=0.000$ ) y el valor KMO (0,86) indican que el conjunto de variables incluidas en el análisis se encuentran significativamente correlacionadas y puede procederse a la interpretación de los citados factores. Al primer factor se le denominó "Calidad intrínseca" ya que está correlacionado con las variables "es más tierna", "tiene mejor gusto" "menos grasa", "mejor aspecto" y "es considerada un producto tradicional y natural". El segundo factor incluye las variables "mayores controles de producción", "ofrece mayores garantías", "es mejor para la salud", "es mejor por la forma de criar los animales" e "indica el origen de producción", y se le ha denominado "Control, garantía y seguridad". De este análisis se desprende que existen un conjunto de variables muy correlacionadas entre sí que valoran la importancia de los atributos intrínsecos del producto al tiempo que lo asocian a un producto tradicional y natural, y otro conjunto de variables también correlacionadas entre sí que valoran más los aspectos de control, garantía, y su relación con la salud, la forma de criar los animales y en menor medida el origen de la producción. Como puede observarse el hecho de que el origen presente una correlación baja y con el segundo factor, no es indicativo de que el consumidor le dé menos importancia en las carnes de calidad (4,0), sino de que presenta una menor relación con el resto de afirmaciones incluidas en la pregunta.

El hecho de haber realizado el estudio en una región donde no existe ninguna marca de calidad ligada al origen ha podido dar como resultado una valoración de ese aspecto inferior al de las variables que indican control y garantía; sin embargo, la valoración obtenida ha sido alta lo cual indica que existe una asociación entre marcas de calidad y origen que podría ser aprovechada en el caso de introducir una marca de calidad ligada al territorio.

**Tabla 1.** Matriz de componentes rotado. Análisis factorial de las actitudes de los consumidores hacia las carnes con distintivo de calidad.

<b>Actitudes hacia la carne con distintivo de calidad</b>	<b>Componentes</b>	
	<b>Factor calidad intrínseca</b>	<b>Factor control, garantía y seguridad</b>
<b>Es más tierna</b>	<b>0,82</b>	0,12
<b>Tiene mejor gusto</b>	<b>0,77</b>	0,33
<b>Tiene menos grasa</b>	<b>0,77</b>	-0,07
<b>Tiene mejor aspecto</b>	<b>0,75</b>	0,35
<b>Es considerada un producto tradicional</b>	<b>0,72</b>	0,14
<b>Es considerada un producto natural</b>	<b>0,69</b>	0,28
<b>Mayores controles de producción</b>	-0,02	<b>0,74</b>
<b>Ofrece mayor garantía</b>	0,07	<b>0,68</b>
<b>Es mejor para la salud</b>	0,33	<b>0,61</b>
<b>Es mejor por la forma de criar de</b>	0,48	<b>0,56</b>
<b>Indica el origen de producción</b>	0,17	<b>0,50</b>
<b>Total de varianza explicada (%)</b>	42,32	12,80

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barrena et al. 2003. Economía Agraria y Recursos Naturales 13 (1): 7-29
- Gracia, A. 2005. CITA. Gobierno de Aragón
- INTEROVIC 2016. <http://www.interovic.es>
- Mathjis, E. 2015. Meat Sci. 109:112-116
- Mediano et al. 2010. PA 10/04, Gobierno Vasco
- MERCASA, 2011. Publicaciones Mercasa, Madrid
- Ness, 2011. IAMZ, Zaragoza
- Pérez, 2010. Ed. Universitaria Ramón Areces
- Rodríguez et al. 1990. Ed. Mundi-Prensa
- Sanjuan et al. 2006. Gobierno de Aragón
- Sepúlveda et al. 2010. Meat Sci. 85: 167-173
- Ulloa et al. 2007. Revista Mexicana de Agronegocios, 21: 408-423
- Verbeke et al. 2010. Meat Sci. 84: 284-292.

**Agradecimientos:** A la Diputación Provincial de Castellón por el apoyo para la realización del presente trabajo.

#### CONSUMERS'S ATTITUDES TOWARDS LAMB MEAT WITH QUALITY MARK

**ABSTRACT:** In a context of continued decline in the consumption of lamb meat, the present paper focuses on the possibility of increasing its consumption through the differentiation of the product with a quality mark in a territory where there are hardly any brands linked to the origin. For this, the opinion of a sample of 300 consumers of the province of Castellón stratified by size of residence population was obtained. Consumers' attitudes towards lamb meat with a quality label were measured through a Likert scale. The attributes greater control, guarantee and origin were the most valued, above the attributes of intrinsic quality. The principal components analysis performed indicates two factors called "intrinsic quality" and "control, guarantee and safety". The association of quality badge in lamb meat with the origin could be a useful tool to sell a meat linked to a particular origin.

**Keywords:** consumer's attitudes, lamb meat, quality label.

## **ACTITUDES DE COMPRA Y CONSUMO DE CARNE DE CORDERO. ESTUDIO COMPARATIVO DE CONSUMIDORES EN ZARAGOZA Y CASTELLÓN**

Blasco, M.<sup>1</sup>, Sañudo, C.<sup>1</sup>, Balado, J.<sup>2</sup> y Campo, M.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dept. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario IA2  
Universidad de Zaragoza-CITA. 50013-Zaragoza. Email: jblasco@unizar.es

<sup>2</sup> Granja Diputación Provincial de Castellón. Ares del Maestre. 12165-Castellón

### **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, las estadísticas reflejan un descenso continuado del consumo de carne de ovino en España. Paralelamente se ha producido un descenso en el número de explotaciones y en el censo del ganado ovino. En este escenario se hace necesario desarrollar medidas eficaces que permitan recuperar el consumo. Dicho consumo se encuentra ligado a la compra, y en el momento de realizarla el comprador está influenciado por numerosos factores que le afectan a la hora de elegir entre uno u otro producto. Se considera de vital necesidad para la industria y distribución alimentaria conocer estos factores y su importancia con objeto de que se puedan desarrollar sus estrategias comerciales (Gracia y De Magistris, 2013; Font i Furnols y Guerrero, 2014). Por otro lado, España muestra la particularidad de que el consumo de carne de cordero presenta grandes divergencias per cápita entre los diferentes territorios, estando Aragón muy por encima de la media nacional. Por todo ello, se ha estudiado la actitud del consumidor en la compra y consumo de carne de cordero, en dos poblaciones españolas distintas en el índice per cápita de consumo de carne de cordero.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los resultados se han obtenido a partir de la realización de entrevistas personales basadas en encuestas. El muestreo poblacional ha consistido en compradores de carne de cordero, mayores de 18 años, y residentes en la provincia de Castellón (con un consumo de carne ovina por debajo de la media española) y en la ciudad de Zaragoza (con un consumo muy superior a la media española), con 300 y 100 encuestados respectivamente. Se han preguntado 4 cuestiones, relacionadas con la frecuencia de consumo de carne de cordero en el hogar (eligiendo una de las cuatro opciones otorgadas), la pieza de cordero que compra con mayor asiduidad (siendo posible elegir varias), la importancia que los consumidores asignan a una serie de atributos de búsqueda, de confianza, y de experiencia relacionados con la calidad de la carne de cordero, que podrían influir en su proceso de compra, utilizándose una escala Likert, y sobre las razones por las que no compran carne de cordero que no tuviese denominación de calidad. Los resultados de la encuesta se han analizado con el paquete estadístico SPSS (22.0) a través de un análisis de varianza con un Test de Kruskal-Wallis.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados muestran que la frecuencia de consumo de carne de cordero es baja con respecto a otras especies, y además es coincidente en las dos poblaciones, donde más de un 60 % de los encuestados manifiestan que la consumen dos veces al mes o menos (Tabla 1). Los tres factores importantes que determinan esta baja frecuencia son el precio, superior a otras carnes como cerdo o pollo, el negativo aspecto nutricional de la grasa del cordero, y la tradición de consumo únicamente para momentos lúdicos y festivos. Los consumidores declararon una preferencia muy marcada a la hora de elegir la pieza de carne, decantándose por las chuletillas en ambas poblaciones, siendo muy amplia la diferencia con respecto a la segunda elección, los filetes de pierna (Tabla 2). No obstante, mientras que en Zaragoza el 98% de los consumidores declaran consumir chuletillas y el 53% filetes de pierna, esta diferencia es mucho mayor en la provincia de Castellón, donde las elecciones fueron 90% y 24% respectivamente. En general, los consumidores de Zaragoza han elegido más piezas para consumir, costillas ( $P < 0,05$ ), filetes de pierna, paletilla entera, jarretes y falda ( $P \leq 0,001$ ), y pierna entera ( $P \leq 0,001$ ) que los de la provincia de Castellón, algo esperable considerando que Zaragoza es una provincia con mayores índices per cápita de consumo de carne de cordero con respecto al resto de España (MAGRAMA, 2016), así como con gran tradición de preparación y consumo de diferentes piezas, mientras que en Castellón se consumen casi exclusivamente las chuletillas.

Los resultados relacionados con la importancia de ciertos atributos que presenta la carne se muestran agrupados por tipo: búsqueda, confianza y experiencia (Becker, 2000) (Tabla 3). Casi todos los atributos de confianza presentan diferencias significativas entre las dos poblaciones analizadas ( $P \leq 0,001$ ), otorgando más importancia a dichos atributos los consumidores de Zaragoza que los de Castellón, lo que podría indicar que el consumidor aragonés conoce mejor este tipo de carne y su relación con la forma de producción. Sin embargo, en la cuestión del origen, los encuestados de Zaragoza consideran el origen ligado al territorio aragonés, mientras que los encuestados de Castellón ligan el origen a todo el territorio nacional. Respecto a los atributos de búsqueda, hay diferencias significativas en el atributo precio ( $P \leq 0,01$ ), al que los consumidores de Zaragoza le dan mayor importancia. También es mayor la importancia que el consumidor de Castellón le da al aspecto del establecimiento ( $P \leq 0,01$ ). Por el contrario, los consumidores de Zaragoza otorgan mayor importancia a que la carne tenga marca o no de calidad, debido a que en Aragón hay una Indicación Geográfica Protegida muy consolidada de carne de cordero y el consumidor está familiarizado con el consumo de carnes con distintivos de calidad (Sanjuan et al., 2006). El análisis de los atributos de experiencia muestra que los encuestados en Castellón dan mayor importancia a los atributos de color y apariencia de fresca que los de Zaragoza ( $P \leq 0,001$ ), posiblemente por su mayor desconocimiento hacia los atributos relacionados con la calidad buscada, teniendo que basar su elección en los atributos percibidos tras la experiencia.

Las razones por las que el consumidor no compra carne de cordero con marca de calidad muestran diferencias significativas entre las dos poblaciones siendo el precio y el argumento que "no es de la región" ( $P \leq 0,001$ ), las razones valoradas con mayor importancia en Zaragoza, y el desconocimiento a la marca de calidad la razón elegida por la población de Castellón (Tabla 4). En Aragón, debido a que hay una denominación de origen de carne de cordero, los consumidores asocian la marca de calidad a la región, y pudieran dar mayor importancia como razón de no compra de carne de calidad al hecho de que la marca de calidad no sea de esta Indicación Geográfica de Origen.

**Tabla 1.** Frecuencia de consumo de carne de cordero en su hogar (%).

	Castellón n=300	Zaragoza n=100
Más de 1 vez a la semana	12,3	13,0
1 vez a la semana	22,0	25,0
1 ó 2 veces al mes	42,7	42,0
Menos de 1 vez al mes	23,0	20,0

**Tabla 2.** Preferencia de la pieza al comprar carne de cordero (%).

	Castellón n=300	Zaragoza n=100	Sign.
Chuletilas/costillas	90,0	98,0	0,013
Filetes de pierna	20,4	53,0	<0,001
Paletilla entera	23,4	47,0	<0,001
Pierna entera	12,7	28,0	0,001
Jarretes	9,3	44,0	<0,001
Falda/tajo bajo	8,1	23,0	<0,001

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Becker, T. 2000. Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. *British Food Journal* 102(3): 158-176.
- Font i Furnols, M. 2014. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Science*, 98: 361–371.
- Gracia, A. 2013. Preferences for lamb meat: A choice experiment for Spanish consumers. *Meat Science*, 95: 396–402.
- MAGRAMA. 2016. Estadísticas. Consumo Alimentario. Estadísticas alimentación. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid.
- Sanjuan, I. 2006. Los consumidores y los alimentos con Denominación

de Origen y otros distintivos de calidad en Aragón, Cataluña, Navarra y La Rioja. Departamento de Agricultura y Alimentación del Gobierno de Aragón.

**Agradecimientos:** A la Diputación Provincial de Castellón por la financiación del proyecto.

**Tabla 3.** Importancia asignada a diferentes aspectos en el momento de comprar carne de cordero (1, muy poco importante – 5, muy importante).

	Castellón n=300	Zaragoza n=100	Sign.
<b>Atributos de búsqueda</b>			
Consejo del carnicero	3,8	4,0	0,547
Precio	3,7	4,1	0,004
Aspecto del establecimiento	4,6	4,3	<0,001
Información y publicidad en el punto de venta	2,9	3,1	0,367
Etiqueta	3,5	3,7	0,817
Relación calidad-precio	4,4	4,4	0,473
Con o sin marca de calidad	3,0	3,6	0,002
Tamaño de la bandeja	2,9	3,3	0,036
<b>Atributos de confianza</b>			
Origen geográfico	4,0	3,5	<0,001
Raza del animal	1,5	3,2	<0,001
Ser carne ecológica	1,8	3,0	<0,001
Alimentación del animal	2,5	3,2	<0,001
Forma de criar a los animales	2,6	3,4	<0,001
<b>Atributos de experiencia</b>			
Presencia de grasa en la carne	4,1	4,1	0,296
Tamaño de la pieza	3,4	3,7	0,514
Apariencia de fresca	4,9	4,6	<0,001
Color de la carne	4,8	4,6	<0,001

**Tabla 4.** Razones por las que el consumidor no compra carne de cordero con denominación de calidad (DC) (%).

	Castellón n=300	Zaragoza n=100	Sign.
Precio elevado	5,3	30,1	<0,001
No es de esta región	0,7	10,8	<0,001
Desconocimiento	71,0	20,4	<0,001
No hay diferencias con otras (sin DC)	7,3	2,2	0,052
Normalmente no está disponible	7,0	12,9	0,116
Propaganda dudosa	2,3	7,5	0,028
No sabe	4,7	8,6	0,206
Otras	1,7	7,5	0,007

**Sign. :** Significación.

#### LAMB PURCHASING AND CONSUMPTION ATTITUDES. COMPARATIVE STUDY BETWEEN CONSUMERS IN ZARAGOZA AND CASTELLON.

**ABSTRACT:** In Spain, the consumption of lamb meat has been declining continuously in recent years. The present study studies the consumer's behavior at the moment of purchasing in order to know their preferences and the importance of certain attributes that this type of meat presents. The study was carried out in two different Spanish places in the per capita consumption index of lamb meat, Zaragoza and Castellón.

**Keywords:** consumer, lamb meat, buyers.

## **PERCEPCIÓN DE LOS CONSUMIDORES DE LOS NUEVOS CORTES DE TERNASCO: UN ESTUDIO CUALITATIVO**

Uldemolins, P<sup>1</sup>., Aldama, S<sup>1</sup>. y Maza, M.T<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de CC. Agrarias y del Medio Natural, Universidad de Zaragoza, calle Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. pilarug@gmail.com

### **INTRODUCCIÓN**

El descenso del consumo de carne parece ser la última tendencia observada en la dieta humana en países económicamente desarrollados (Mathijs, 2015). Este factor, unido a una crisis económica global, ha afectado especialmente a la carne de ovino. En España el consumo de cordero no ha dejado de disminuir desde 2008. De acuerdo a los datos de consumo en hogares del MAPAMA, en 2015 el consumo de cordero descendió casi un 6% respecto del año anterior. Para hacer frente a esta situación, el sector ovino ha decidido poner en marcha una estrategia centrada en promocionar el consumo de carne de cordero, empezando con la creación, en 2015, de la primera Entidad Asociativa Prioritaria en España (Antelo, 2015), consiguiendo así una mayor unidad del sector. Uno de los principales objetivos es modernizar el modo en el que se realiza la comercialización y para lograrlo han desarrollado nuevos cortes y presentaciones (INTEROVIC, 2016). Esta investigación se ha realizado en la capital aragonesa, por ser este territorio donde hay un mayor consumo per cápita de carne de cordero, 4,29 Kg (MAPAMA 2015) y donde se están realizando actividades promocionales del consumo de cordero a tres niveles. En primer lugar, y como precursora de las demás, la campaña de promoción genérica de INTEROVIC realizada a nivel nacional, a través de un spot publicitario en TV, carteles, folletos informativos y presencia en redes sociales. En segundo lugar, la campaña de promoción específica de la I.G.P de Ternasco de Aragón, realizada por el Consejo Regulador del Ternasco de Aragón, con carteles publicitarios y folletos de los nuevos cortes. Por último, junto a las anteriores, coexisten las actividades de promoción de marca de productor realizadas por una de las cooperativas más grandes a nivel nacional, con eventos y presencia en redes sociales. Hasta ahora se han realizado pocos estudios sobre el impacto de estas campañas y la percepción de los consumidores sobre los nuevos cortes de Ternasco en Aragón. Es por ello que este estudio tiene como objetivo evaluar la aceptación de los nuevos cortes de Ternasco, analizando los hábitos de consumo, las actitudes de los consumidores hacia los nuevos cortes y su intención de compra. En esta comunicación se presentan los resultados de la primera fase de esta investigación, un estudio cualitativo. La segunda fase del estudio se realizará mediante encuestas a consumidores y carniceros para conocer su opinión sobre los nuevos cortes y evaluar las herramientas que están siendo más efectivas en su promoción.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se organizaron dos Focus Groups en los que participaron un total de 16 personas (un grupo de hombres n = 8 y otro grupo de mujeres n = 8). Los participantes fueron reclutados a través de una asociación de consumidores siguiendo los siguientes criterios de selección: todos ellos debían de ser consumidores de carne de cordero y dentro de cada grupo debía de haber integrantes cuyas edades estuvieran comprendidas entre 25-35 años, entre 35-55 años y mayores de 55. Las reuniones duraron aproximadamente 60 minutos y fueron dinámizadas por un moderador siguiendo una guía de discusión diseñada en forma de entrevista semiestructurada para asegurar el debate de todos los temas de interés. La guía estaba organizada en dos partes: primero una serie de preguntas generales sobre hábitos de consumo relacionados con la carne de cordero: razones de consumo, evolución del consumo, lugar de compra, aspectos a tener en cuenta a la hora de comprar y ocasiones de consumo. La segunda parte de la guía consistió en preguntas más específicas sobre los nuevos cortes de Ternasco de Aragón. Se comenzó preguntando a los participantes si conocían o si habían consumido los nuevos cortes de Ternasco. A continuación, se les dio una pequeña explicación sobre los nuevos cortes, para que aquellos que no los conocieran pudieran dar su opinión al respecto y se les mostró un folleto con imágenes de cada uno de los cortes. En este punto de la entrevista se enseñaron los carteles promocionales que estuvieron distribuidos por la ciudad durante los meses de mayo y junio de 2016 y se preguntó por el grado de recuerdo y su efectividad. También se les pidió que hicieran



asociaciones con estos nuevos cortes, preguntándoles por la primera imagen o palabra que les evocaban. La última parte del Focus Group se centró en conocer la opinión de los participantes sobre cada uno de los nuevos cortes. Para esto se les enseñó el producto fresco envasado con una etiqueta que mostraba el precio y el moderador fue proponiendo preguntas que animaran la conversación. Tras la discusión se les pidió rellenar una ficha con su intención de compra para cada uno de los cortes y el motivo de su elección. Las ideas surgidas durante la reunión se agruparon por nodos temáticos con ayuda del software NVIVO.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los hábitos de consumo indican que el consumo de cordero continúa descendiendo. La mayoría de los participantes afirmó haber reducido su consumo, principalmente por una cuestión económica. Además coincidiendo con Bernués et. al., (2012) el lugar de compra de la mayoría de los integrantes seguía siendo la carnicería tradicional.

Para evaluar el grado de recuerdo de la campaña publicitaria, se mostraron los carteles publicitarios, mediante los que se daban a conocer dos de los nuevos cortes, el filete de pierna deshuesada y los churrasquitos y se preguntó a los participantes si los recordaban. Solo en el grupo de mujeres algunas de las participantes, menos de la mitad, afirmaron haberlos visto en las paradas de los autobuses. La mayoría de los participantes estuvieron de acuerdo en que a primera vista con ninguno de los dos carteles les quedaba claro que lo que se anunciaba era Ternasco de Aragón. De las dos imágenes, la que más llamó la atención fue la de los churrasquitos, ya que el producto destacaba por el envasado, aunque algunos participantes pensaron que podía tratarse de alitas de pollo o patatas fritas. La mayoría coincidieron en que si no leían el cartel, no sabían que se trataba de Ternasco de Aragón y que tanto el sello de la IGP, como la frase de 'nuevos cortes', eran demasiado pequeños como para verlos en un primer vistazo.

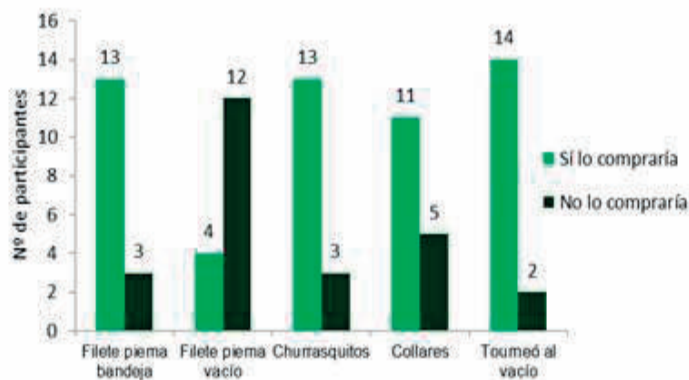
Aproximadamente un tercio de los participantes, la mayoría en el grupo de hombres, conocían los nuevos cortes gracias a la *Carpa del Ternasco* y los *Food Trucks* presentes durante las fiestas del Pilar. Los cortes más conocidos por los participantes fueron el filete de pierna y los churrasquitos. Ninguno de los participantes había visto los nuevos cortes en su establecimiento de compra, salvo una participante que había comprado el Tournedó. La principal asociación que se hace de los nuevos cortes es con su consumo fuera del hogar: en restaurantes, para ir de cañas y con comida para llevar. También se asociaron a comodidad, facilidad de comer y de cocinar así como a una mayor versatilidad en sus preparaciones. Además, los relacionaron con los niños de forma positiva. Por otro lado se asociaron a otras carnes debido a su apariencia, como el solomillo de ternera (el Tournedó) o a las costillas de cerdo (los churrasquitos). En cuanto a la percepción de cada uno de los cortes (Tabla 1), en general los que mayor aceptación tuvieron fueron el filete de pierna envasado en bandeja, los churrasquitos y el Tournedó, este último fue el corte que más les sorprendió. Por el contrario, el filete de pierna envasado al vacío generó opiniones negativas debido al tipo de envasado que no les permitía una buena visibilidad del corte. Los collares recibieron evaluaciones positivas y negativas. Las negativas fueron principalmente por su apariencia en fresco. Al igual que en el estudio de Vad Andersen y Hyldig, (2015) un factor importante que apareció durante el proceso de evaluación de los nuevos cortes fue la expectativa generada antes de probar el producto. Por último se les preguntó por su intención de compra para cada uno de los cortes como se muestra en la Figura 1.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antelo A. 2015. Alimarket Gran Consumo. Nº 290
- Bernués A., Ripoll & Panea B. 2012. Food Quality and Preference 26: 211–220.
- INTEROVIC 2016. <http://www.interovic.es>
- Mathijs E. 2015. Meat Science 109: 112–116
- Vad Andersen, B. & Hyldig, G. 2015. Appetite 95: 9-16.

**Tabla 1.** Percepción de los consumidores de cada uno de los nuevos cortes.

<b>Filete de pierna</b>	
Corte atractivo	"Tiene buena pinta. Está muy bien partido."
Más atractivo para los niños	"Para los críos sería apropiado el filete de pierna, para mí no."
Es un corte que resulta familiar	"Sí que es adecuado para lo que yo suelo tomar."
<b>Filete de pierna al vacío</b>	
Mala visibilidad del corte y la cantidad	"No veo el corte, no sé si me llevo una pieza entera o fileteada"
La presentación no resulta atractiva	"El envasado al vacío es el que tiene peor pinta."
La etiqueta tapa la carne	"La etiqueta la pondría detrás porque tapa el producto."
Precio alto	"Es que el envasado al vacío es el doble de precio que la bandeja."
<b>Churrasquitos</b>	
La apariencia es atractiva	"Esto es un producto que yo creo que a los jóvenes y los niños les gustaría. No es como los pucheros, sino algo que te podrías llevar".
Adecuado para jóvenes y niños	
Rápidos de hacer	
Por su sabor	"Yo creo que para los niños es mejor los churrasquitos." "Los churrasquitos tienen que estar de cine."
<b>Collares</b>	
La apariencia no resulta agradable	"Tiene mejor pinta cocinado (en el folleto) que así visto en fresco"
El precio es adecuado	"El precio está bien"
El sabor del cuello es bueno	"Además el cuello tiene muy buen sabor."
<b>Tournedó</b>	
Muy atractivo visualmente	"A mí me recuerda al solomillo de ternera. Me ha sorprendido."
Probar la novedad-calidad	"Yo lo compraría una vez para probar y si gusta en la familia repetiría."
Precio alto	
Para ocasiones especiales	"Es caro pero antes compraría el Tournedó a ese precio que la pierna envasada al vacío." "Posiblemente los puedo comprar para algo especial."



**Figura 1.** Intención de compra de los participantes.

## CONSUMERS PERCEPTION OF NEW TERNASCO CUTS: A QUALITATIVE STUDY

**ABSTRACT:** Lamb sector is facing a decrease in lamb consumption. The strategy followed to recover from this situation is based on promotional activities with the aim of modernising sheep meat image. New lamb cuts and new presentations have been designed. In Zaragoza, this has been applied on Ternasco de Aragón. In order to know consumers opinion towards this new cuts, two focus groups were organised. Lamb consumption habits, purchase intention and associations with the new cuts arose.

**Keywords:** new lamb cuts, promotion, consumer perception, focus group.

# **Sanidad y bienestar animal**



## **EFFECTO DE LA SUBNUTRICIÓN PERI-IMPLANTACIONAL SOBRE LAS SERIES BLANCA Y PLAQUETARIA DE VACAS Y TERNEROS DE DOS RAZAS BOVINAS**

Noya<sup>1</sup>, A., Serrano-Pérez<sup>2</sup>, B., Villalba<sup>2</sup>, D., Casasús<sup>1</sup>, I., Molina<sup>2</sup>, E., López-Helguera<sup>2</sup>, I., Ferrer<sup>1</sup>, J. y Sanz<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España. <sup>2</sup>Universitat de Lleida (UdL). Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España. anoya@cita-aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

Los sistemas de producción de vacuno de carne son cada vez más extensivos con el objetivo de reducir costes en la alimentación, esto hace que los animales puedan sufrir periodos de subnutrición en alguna fase de su ciclo productivo. Una restricción alimentaria durante el inicio de la gestación puede afectar a la implantación del embrión y a su posterior programación metabólica fetal (Reyes y Fernández, 2015), así como a los perfiles hematológicos de los animales. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto que tiene la subnutrición durante el primer tercio de gestación sobre los parámetros de las series blanca y plaquetaria de vacas al inicio y final de gestación y de terneros recién nacidos de las razas Parda de Montaña (PA) y Pirenaica (PI).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 74 vacas PA multíparas (560 ± 55 kg de peso vivo (PV); 2,73 ± 0,26 puntos de condición corporal (CC) en la escala de 5 puntos) y 40 PI multíparas (579 ± 51 kg PV; 2,95 ± 0,28 CC). Las vacas se sincronizaron e inseminaron a los 76 ± 14 días postparto con semen de 7 machos de probada fertilidad. A continuación, las vacas se alimentaron con una mezcla *unifeed* seca (10,96 MJ EM/kg MS y 124 g PB/kg MS), distribuidas en dos lotes en función de la alimentación recibida durante los primeros 82 días de gestación. El grupo control (CONTROL) recibió una dieta que cubría el 100% de sus necesidades de mantenimiento, gestación y lactación (10,9 y 10,0 kg MS/animal/día para PA y PI respectivamente), mientras que en el grupo subnutrido (SUBNUT) se cubrió el 65% de sus requerimientos (7,0 y 6,4 kg MS/animal/día para PA y PI respectivamente). Finalizada esta fase, todos los animales se alimentaron hasta el parto con una dieta que cubría el 100% de sus necesidades.

En las vacas, se recogieron muestras de sangre de la vena coccígea a los 19 días post inseminación artificial (IA) (periodo de peri-implantación), y posteriormente en las que quedaron gestantes, a los 253 días de gestación (aproximadamente un mes preparto). En los terneros se obtuvo sangre de la vena yugular entre el primer y undécimo día de vida.

Las muestras se analizaron mediante un citómetro de flujo (Sysmex XT-2000 i V, Sysmex Corporation, Kobe, Japón) estandarizado para valores hematológicos bovinos. Los parámetros estudiados fueron: número de leucocitos (LEU), linfocitos (LIN), monocitos (MON), granulocitos (GRAN) y plaquetas (PLQ) (expresados en células/mm<sup>3</sup>), y el volumen plaquetario medio (VPM, fl).

Los resultados se analizaron estadísticamente con el programa SAS y JMPPro (SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.) mediante un análisis de varianza con un modelo lineal general con la edad de la vaca, el estado de preñez, el sexo del ternero (S), la raza (R), el tratamiento nutritivo (TN) y sus interacciones como efectos fijos. En el caso de los terneros, el padre se consideró como efecto aleatorio. La significación de los resultados se estableció con un P-valor < 0,05. Los valores están expresados como las medias de mínimos cuadrados.

Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité Ético de Experimentación Animal del CITA (Ref. 2014-16).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Todos los valores hematológicos obtenidos estuvieron dentro del rango de normalidad para la especie bovina (Brun-Hansen et al., 2006; George et al., 2010), excepto los valores de VPM obtenidos al mes preparto, que fueron superiores a los referenciados debido a un incremento fisiológico descrito en la última fase de la gestación (Fay et al., 1983). Ni la edad de la vaca, ni el estado de preñez afectaron a ninguno de los parámetros analizados.

A los 19 días post IA, se observó un efecto racial sobre el leucograma, mostrando las vacas PI valores inferiores de LEU y LIN que las PA ( $P < 0,05$  y  $P < 0,01$  respectivamente, Tabla 1). Estos resultados concuerdan en parte con los de García-Belenguer et al. (1996), quienes encontraron que en condiciones fisiológicas las PI presentaban valores inferiores de LIN que las PA, pero valores más elevados en LEU. Respecto a los GRAN, se observó una interacción entre el tratamiento nutritivo y la raza, presentando las PI-CONTROL valores superiores que las PI-SUBNUT ( $3,7 \pm 0,25$  vs.  $3,0 \pm 0,21$  células/mm<sup>3</sup>, respectivamente,  $P < 0,05$ ). Esta interacción sugiere que las PI podrían ser más susceptibles a una restricción alimentaria al disminuir el número de GRAN. Además, la bibliografía recoge que déficits en los niveles de cobre a causa de una malnutrición pueden producir una disminución del número de neutrófilos circulantes (Percival, 1995). Con relación a las plaquetas, las PA mostraron valores de PLQ superiores a las PI ( $P < 0,001$ ) pero con un VPM más bajo ( $P < 0,001$ ), de acuerdo con la relación fisiológica inversa no lineal entre PLQ y VPM descrita por Bessman et al. (1981). En cuanto al tratamiento nutricional, el grupo CONTROL obtuvo valores más elevados de PLQ que el grupo SUBNUT ( $P < 0,05$ ). En este sentido, una carencia de nutrientes esenciales como el cobre o las vitaminas B9 y B12 podría producir una disminución del número de plaquetas (Bonham et al., 2002).

Un mes antes del parto ni la raza ni el tratamiento nutritivo afectaron a los valores correspondientes a las series blanca o plaquetaria ( $P > 0,05$ ) (Tabla 1). Al restablecer una dieta que cubría el 100% de sus necesidades, los animales SUBNUT fueron capaces de normalizar sus valores de PLQ respecto a los CONTROL. En relación al efecto raza, las PA obtuvieron nuevamente valores más elevados de LEU que las PI, pero esta vez no fueron significativos ( $P > 0,05$ ). Al mes preparto desaparecieron también las diferencias halladas a día 19 post IA en LIN, PLQ y GRAN. Estas diferencias que únicamente se apreciaron durante la aplicación del tratamiento nutritivo pusieron de manifiesto que las vacas PI serían más sensibles a la subnutrición peri-implantacional que las vacas PA.

**Tabla 1. Parámetros hematológicos de las vacas a día 19 post IA y al mes preparto, en función de la raza, el tratamiento nutricional y su interacción.**

	R		eed	TN		eed	Significación		
	PA	PI		CONTROL	SUBNUT		R	TN	RxTN
Día 19 post IA									
LEU	7,5a	6,9b	0,29	7,2	7,2	0,30	*	ns	ns
LIN	3,6a	3,0b	0,19	3,2	3,4	0,19	**	ns	ns
MON	0,58	0,55	0,03	0,56	0,57	0,03	ns	ns	ns
GRAN	3,3	3,3	0,18	3,5	3,2	0,19	ns	ns	*
PLQ	264,5a	198,1b	11,9	244,8a	217,9b	12,3	***	*	ns
VPM	5,6b	6,0a	0,07	5,8	5,8	0,07	***	ns	ns
Mes preparto									
LEU	6,6	6,1	0,36	6,2	6,5	0,37	ns	ns	ns
LIN	3,3	3,7	0,24	3,7	3,7	0,24	ns	ns	ns
MON	0,43	0,48	0,05	0,46	0,46	0,05	ns	ns	ns
GRAN	2,5	2,2	0,31	2,3	2,4	0,32	ns	ns	ns
PLQ	250,7	256,8	31,1	259,0	248,5	31,6	ns	ns	ns
VPM	7,7	7,9	0,21	7,9	7,7	0,22	ns	ns	ns

LEU: n° leucocitos/mm<sup>3</sup>; LIN: n° linfocitos/mm<sup>3</sup>; MON: n° monocitos/mm<sup>3</sup>; GRAN: n° granulocitos/mm<sup>3</sup>; PLQ: n° plaquetas/mm<sup>3</sup>; VPM: volumen plaquetario medio, fl.. R: raza; TN: tratamiento nutricional; S: sexo; PA: parda de montaña; PI: pirenaica; eed: error estándar de la diferencia; ns: no significativo ( $P > 0,05$ ); \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

Análogamente, tampoco la raza ni el tratamiento nutritivo ni su interacción afectaron a los parámetros hematológicos de los terneros (Tabla 2). Acorde con los resultados de García-

Belenguer et al. (1996) y Blanco et al. (2009), no se hallaron diferencias entre los valores hematológicos de la serie blanca entre terneros PA y PI. Únicamente el sexo del ternero afectó al VPM, obteniendo las hembras valores más altos que los machos ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 2 . Parámetros hematológicos de los terneros, en función de la raza, el tratamiento nutricional, el sexo y su interacción.**

	R			TN			S		Significación	R	TN	S
	PA	PI	eed	CONTROL	SUBNUT	eed	Hembra	Macho				
LEU	9,1	7,4	0,7	7,7	8,8	0,67	8,1	8,4	0,71	ns	ns	ns
LIN	3,9	3,0	0,52	3,3	3,7	0,37	3,3	3,6	0,4	ns	ns	ns
MON	0,10	0,26	0,09	0,24	0,12	0,09	0,17	0,19	0,1	ns	ns	ns
GRAN	5,0	4,3	0,51	4,2	5,1	0,52	4,6	4,7	0,56	ns	ns	ns
PLQ	745,3	738,5	62	712,3	771,5	64	703,6	780,2	67	ns	ns	ns
VPM	6,6	6,6	0,11	6,6	6,6	0,09	6,7a	6,5b	0,09	ns	ns	*

En conclusión, a pesar de obtener unos resultados hematológicos dentro del rango de normalidad para la especie, la subnutrición aplicada durante el primer tercio de gestación en vacas nodrizas afectó a diversos parámetros leucocitarios y plaquetarios registrados a día 19 post IA. Estos resultados pusieron en evidencia una mayor sensibilidad de la raza Pirenaica a dicha restricción alimentaria. Las diferencias entre grupos desaparecieron al final de la gestación de las vacas, y tampoco se observaron en los terneros recién nacidos, atribuyéndose por tanto a un efecto nutricional inmediato que no se mantuvo a largo plazo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blanco, M., et al., 2009. *Animal* 3, 108-117
- Bonham, M., et al., 2002. *Br. J. Nutr.* 87, 393-403
- Brun-Hansen, H.C., et al., 2006. *Vet. Clin. Pathol.* 35, 182-187
- Bessman, J.D., et al., 1981. *Am. J. Clin. Pathol.* 76, 289-293
- Fay, R. A., et al., 1983. *Obstet. Gynecol.* 61, 238-240
- García-Belenguer, S., et al., 1996. *Vet. Res.* 27, 515-526
- George, J.W., et al., 2010. *Vet. Clin. Path.* 39, 138-148
- Percival, S.S., 1995. *Nutr. Rev.* 53, 59-66
- Reyes, R. y Fernández, LA., 2015. *Perinatol. Reprod. Hum.* 29.3: 99-105.

**Agradecimientos:** Al personal técnico del CITA. Financiación de INIA (RTA2013-059; RZP 2010-02, contrato FPI-INIA de A. Noya) y Gobierno de Aragón (Grupo de investigación A11).

#### PERI-IMPLANTATIONAL UNDERNUTRITION EFFECT ON WHITE AND PLATELET HAEMATOLOGICAL PARAMETERS OF COWS AND CALVES OF TWO CATTLE BREEDS

**ABSTRACT:** Undernourished periods can occur in extensive beef cattle farming systems. A poor nutrient diet during the peri-implantation period could affect the correct foetal development. Analogously, a deficient diet can also affect dam or calf haematological profiles. The aim of this study was to analyse the effects of peri-implantational undernutrition on white blood cell and platelet profiles in dams and calves of two beef breeds. Seventy-four Parda de Montaña (PA) and 40 Pirenaica (PI) cows were inseminated and allocated to a control (CONTROL) or nutrient-restricted (SUBNUT) group, which were fed at 100 or 65% of their estimated energy requirements during the first 82 days of pregnancy. Counts of leukocytes, lymphocytes, monocytes, granulocytes, platelets and mean platelet volume were determined on day 19 post insemination and one month before parturition in dams, and on the first days of life in calves. In the peri-implantation period Pirenaica breed showed lower values of leukocyte, lymphocyte and platelet counts than PA, and PI-SUBNUT had lower values of granulocytes than PI-CONTROL. All differences between groups disappeared one month before parturition and also in calves, suggesting that undernutrition had haematological effects in PI only during the treatment period.

**Keywords:** white blood cells, platelets, early gestation, newborn calf

## **USO DE ACEITES ESENCIALES COMO REFUERZO DE LA INMUNIDAD NATURAL EN TERNEROS DE CRÍA**

de la Fuente, G., Tutusaus, J., Xatruch, A., Mora, J., García, C.J., Seradj, R. y Villalba, D.

<sup>1</sup>Dpto. de Ciència Animal. Campus ETSEA. Av. Rovira Roure 191. 25198 Lleida  
gfuente@ca.udl.cat

### **INTRODUCCIÓN**

Existe una creciente preocupación pública y científica sobre el uso de antibióticos como aditivos para piensos en la producción animal. Esta preocupación es alimentada por la aparición de resistencia a los antibióticos en muchas bacterias patógenas humanas (Manero et al, 2006; Parveen et al., 2006), la liberación de residuos contaminantes en el medio ambiente (agua, suelo, etc.) (Yang y Carlson, 2004) y el riesgo de que se produzcan residuos de antibióticos promotores del crecimiento en los alimentos de origen animal.

El ternero durante el periodo predestete y postdestete va a estar sometido a distintos factores que afectarán su inmunidad y que lo harán más susceptible a enfermedades lo que tendrá un efecto negativo sobre su rendimiento productivo (revisado por Duff y Galyean, 2007). Las disfunciones fisiológicas debido a una alimentación inadecuada o estrés son causas importantes de enfermedades, ya que provocan un desequilibrio del triángulo animal-patógeno-ambiente, y por consiguiente la aparición de las enfermedades. Las respuestas biológicas a causa del estrés llevarán al animal a un estado prepatológico asociado a una mayor susceptibilidad a enfermedades.

En los últimos años, los productos naturales del reino vegetal se han investigado por su potencial de modulación inmune contra las enfermedades infecciosas y neoplásicas. La terapia a base de plantas, o "fitomedicina," el uso terapéutico de las plantas, partes de plantas o sustancias de origen vegetal, generalmente se considera una forma de medicina complementaria (Jonas, 1997; Israelsen, 1995). Agentes a base de hierbas parecen tener eficacia terapéutica para una variedad de problemas relacionados con la inmunidad, que van desde infecciones respiratorias superiores (URI) para autoinmunes y trastornos neoplásicos (Wolf, 1994). Sobre la base de los primeros estudios, algunos de estos extractos de plantas parecen afectar la inmunidad humoral, pero la mayoría parece mejorar la inmunidad celular (innata principalmente) (Block y Mead, 2003).

El uso de extractos fitoterapéuticos se utiliza actualmente por especialistas veterinarios en terapias alternativas como potenciadores de la inmunidad natural, pero bajo nuestro conocimiento, no existe información científica relevante en el sector del cebo intensivo en España. Así pues, es necesario un estudio que valore su uso en condiciones locales y por el cual se pueda estimar su viabilidad sanitaria en este sector.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Un total de 61 terneros de raza Frisona de una semana de edad procedentes de diferentes explotaciones de la cornisa cantábrica fueron pesados y alojados aleatoriamente en 10 corrales colectivos. Los animales fueron alimentados con lactorreemplazante y pienso comercial ausente de coccidiostáticos. Durante la primera (días 1 a 7) y cuarta semana (días 29 a 35) animales pertenecientes al grupo tratamiento (N=30, alojados en 5 casetas) recibieron una dosis diaria de 20 mL de aceites esenciales de plantas (tomillo, árbol de té, pino rojo, eucalipto entre otros, proporcionado por AGAVET). A los 12, 32 y 54 días del inicio del experimento, todos los animales se pesaron y se tomaron muestras individuales de sangre y colectivas de heces. Asimismo el consumo de pienso por corral fue medido durante la duración del experimento.

Las muestras de sangre fueron trasladadas al laboratorio y analizadas con un analizador automático de sangre (BC-2800Vet, Mindray), estandarizado para el análisis de sangre bovina (número de hematíes, hematocrito, hemoglobina e índices eritrocitarios, así como el recuento y fórmula leucocitaria). Las muestras de heces se diluyeron en una solución floculante salina y se realizaron recuentos de oocistos de *Eimeria* spp. mediante cámara de McMaster en microscopio (Lucas et al. 2007).

Los resultados se analizaron por el procedimiento PROC MIXED (SAS, Cary, NC), siguiendo un diseño de medidas repetidas, tomando como covariable los valores obtenidos al inicio del



experimento y como unidad experimental el corral. Las diferencias entre medias se compararon mediante el test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales tratados con aceites esenciales crecieron más que los animales no tratados ( $P < 0,05$ ), además de observarse una tendencia a un consumo menor de pienso ( $P = 0,09$ , Tabla 1). También la concentración de ooquistes tendió a ser menor en animales tratados con aceites esenciales que en animales control. Una menor concentración parasitaria puede fomentar un desarrollo más rápido del organismo en fase de crecimiento, así como una mayor eficiencia en la utilización del alimento consumido. Hay que reseñar que el pienso consumido estaba libre de anticoccidiostáticos con lo que la presencia de parasitosis en las heces se fundamentó en la capacidad de los terneros de controlar mediante la inmunidad natural la carga parasitaria.

Ninguno de los parámetros sanguíneos analizados mostró diferencias entre tratamientos ( $P > 0,05$ ). Los niveles de linfocitos por lo general aumentaron a lo largo del estudio, así como los monocitos. En cuanto a los granulocitos (principalmente neutrófilos) fueron incrementando progresivamente pero no significativamente desde el día 12 hasta el fin del estudio. Hay que reseñar que los niveles iniciales de Granulocitos fueron muy superiores a los observados en días posteriores (4,37 en CTR y 4,16 en OLI), niveles dentro de los rangos observados en otros estudios anteriores (Knowles et al. 2000; Mohri et al. 2007). Los neutrófilos son las primeras células en responder a infecciones y en estados de alta exposición a agentes exteriores como en el caso de terneros recién destetados, presentan títulos muy superiores a los observados en animales adultos, mientras que los linfocitos están relacionados con la producción de anticuerpos, encargados de construir unas defensas más consistentes a medio-largo plazo.

**Tabla 1.** Consumo medio diario de pienso ofertado, crecimiento medio diario y concentración de ooquistes en heces en corrales tratados con aceites esenciales (OLI, N=5) o sin tratar (CTR, N=5)

	D12		D32		D54		EEM	p	
	CTR	OLI	CTR	OLI	CTR	OLI		T	t
Consumo medio (Kg/día)	0,15	0,16	0,71	0,67	1,59	1,34	0,065	†	*
Crecimiento (Kg/día)	0,15	0,24	0,37	0,45	0,65	0,71	0,046	*	NS
Ooquistes en heces (num/g)	450	315	270	220	305	235	56,1	†	*

eem, error estándar de la media; T, efecto del tratamiento; t, efecto del día de muestreo, NS = no significativo ( $P > 0,10$ ); † =  $P < 0,10$ ; \* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$

Tanto la concentración de glóbulos rojos, como otros parámetros sanguíneos asociados con el intercambio de oxígeno en la sangre y posible aparición de distintos tipos de anemia (Hb, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW) fueron aumentando a lo largo del experimento, pero tampoco se observó un efecto claro del uso de aceites esenciales. En general, los niveles observados en ambos grupos fueron muy bajos desde el momento inicial, lo cual pudo comprometer el posterior desarrollo de dichos parámetros.

A pesar de no ser estadísticamente significativo, se observó una mayor mortalidad (4 muertes) y tratamientos antibióticos (20 durante el experimento) en animales control que en animales tratados con aceites esenciales (2 muertes y 16 tratamientos antibióticos).

En conclusión podría decirse que el uso de aceites esenciales en terneros lactantes potencia el desarrollo temprano y estimula el crecimiento aunque no hay evidencias claras de que ello implique un refuerzo en la inmunidad natural, visto como un aumento en la fórmula leucocitaria.

**Tabla 2.** Parámetros hematológicos en animales tratados con aceites esenciales (OLI, N=5) o sin tratar (CTR, N=5) después de 12, 32 o 54 días del inicio del experimento.

	D12		D32		D54		eem	T	t	T x t
	CTR	OLI	CTR	OLI	CTR	OLI				
Glóbulos blancos totales (x10 <sup>9</sup> /L)	5,54	5,69	5,80	6,85	6,55	6,44	0,469	NS	NS	NS
Linfocitos(x10 <sup>9</sup> /L)	2,51	2,60	2,88	2,77	2,69	2,24	0,138	NS	*	NS
Monocitos(x10 <sup>9</sup> /L)	0,180	0,234	0,270	0,279	0,432	0,319	0,0307	NS	***	*
Granulocitos(x10 <sup>9</sup> /L)	2,85	2,82	2,61	3,35	3,35	3,83	0,379	NS	NS	NS
Glóbulos rojos totales(x10 <sup>12</sup> /L)	7,21	6,93	7,29	6,97	7,69	7,77	0,198	NS	***	NS
Hemoglobina(g/dL)	8,79	8,28	8,43	8,36	8,95	9,10	0,228	NS	*	NS
Hematocrito (%)	20,9	20,1	20,2	19,3	21,6	21,6	0,52	NS	**	NS
MCV (fl)	29,4	29,0	27,8	27,5	28,1	28,0	0,40	NS	***	NS
MCH (pg)	12,3	12,0	11,7	11,9	11,7	11,6	0,27	NS	†	NS
MCHC (g/dL)	41,8	41,0	41,9	43,4	41,7	41,5	0,57	NS	*	†
RDW (%)	24,8	24,0	22,9	22,1	22,9	22,2	0,47	NS	*	NS
Plaquetas(x10 <sup>9</sup> /L)	408	458	423	389	399	367	38,9	NS	NS	NS
MPV(fl)	4,86	4,97	4,60	4,57	5,03	4,96	0,123	NS	**	NS

eem, error estándar de la media; T, efecto del tratamiento; t, efecto del día de muestreo, NS = no significativo (P>0,10); † = P<0,10; \* = P<0,05; \*\* = P<0,01; \*\*\* = P<0,001

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Block y Mead. 2003. *Int. cancer ther.* 23:247-267. •Duff, GC, & Galyean, ML. 2007. *J. An. Sci.* 853:823-840. • Jonas WB. 1997. *J Fam Pract.* 451:34-37 • Israelsen LD. 1995. *J Altern Comp Med.*13:245-248 • Knowles, T. G., Edwards, J. E., Bazeley, K. J., Brown, S. N., Butterworth, A., & Warriss. 2000. *Vet. Rec.* 147:593-598 • Manero, A., Vilanova, X., Cerdà-Cuellar, M., & Blanch, A. R. 2006. *Env. Microb.* 8:667-674. • Mohri, M., Sharifi, K., & Eidi, S. 2007. *Res. Vet. Sci.* 83:30-39 • Lucas, A. S., Swecker, W. S., Lindsay, D. S., Scaglia, G., Elvinger, F. C., & Zajac, A. M. *Vet. Par.* 145(3):228-233. • Parveen, S., Lukasik, J., Scott, T.M., Tamplin, M.L., Portier, K.M., Sheperd, S., Braun, K. and Farrah, S.R.2006;*J. App. Microb.* 100:50-57 • Wolf H. 1994 *Immunotherapy of Infections.* 351-355 • Yang, S. y Carlson, K.H. 2004. *J.Chrom.* 1038:141-155.

#### UTILIZATION OF ESSENTIAL OILS TO INCREASE NATURAL IMMUNITY IN LACTATING CALVES

**ABSTRACT:** Utilization of essential oils as an alternative to antibiotics to enhance the natural immunity is being used recently by veterinary professionals but there is little research that can support both productive and physiologic benefits of such practice. We conducted a trial with 61 lactating calves (1 week old) and grouped into treated animals with essential oils or control animals. Animals were sampled for blood haematological tests at 12, 32 and 54 days, as well as faeces for oocysts concentration. ADG and feedstuff intake were also measured. Administration of essential oils increased the ADG and trended to reduce the feedstuff intake and the parasitic load. However no differences were found between both groups in any of the haematological parameters studied. Results suggest that essential oils can promote an early development of the animal but there are no evidences that link it with any type of boost in the natural immunity in the lactating calves.

**Keywords:** essential oils, lactating calves, natural immunity, blood parameters

## POSIBILIDADES DE CONTROL BIOLÓGICO DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN GALLINAS Ponedoras: ASCÁRIDOS

Palomero<sup>1</sup>, A.M., Hernández<sup>1</sup>, J.A., Silva<sup>1</sup>, M.I., Cazapal<sup>1</sup>, C., Bonilla<sup>2</sup>, R., Sánchez-Andrade<sup>1</sup>, R. y Arias Vázquez<sup>1</sup>, M.S.

<sup>1</sup>Zoonosis y Salud Pública, Departamento de Patología Animal, Universidad de Santiago de Compostela. <sup>2</sup>Laboratorios CARVAL, Bogotá, Colombia. [mariadol.arias@usc.es](mailto:mariadol.arias@usc.es)

### INTRODUCCIÓN

Las parasitosis gastrointestinales, y en concreto las ocasionadas por helmintos (trematodos, cestodos y nematodos), representan un grave problema para el sector ganadero a nivel mundial, debido a su importante repercusión sobre el estado sanitario de los individuos y su rendimiento, y en consecuencia sobre la rentabilidad económica de las explotaciones.

Las gallinas ponedoras suponen un caso particular puesto que, hasta hace algunas décadas, el 99% de los sistemas de explotación se basaba en la modalidad de mantenimiento en batería, lo que hace muy difícil la diseminación de la infección. Es por ello que los escasos estudios que abordan este tema, reflejan una baja incidencia de helmintosis en las explotaciones avícolas, razón por la cual estas parasitosis no se han tenido en consideración durante años.

La actual normativa europea sobre cría de gallinas ponedoras (Directiva 1999/74/CE) tiende a que estas se mantengan en condiciones similares a las de suelo -jaulas enriquecidas-; en el futuro, las normativas estatales de algunos países europeos prohibirán el uso de cualquier tipo de jaula. En un periodo en el que los sistemas de cría alternativos (suelo, campero y ecológico) están experimentando un auge notable, las parasitosis gastrointestinales de las ponedoras vuelven a situarse en el punto de mira tanto de productores como de veterinarios avícolas. Es más, con el resurgir de la cría de aves en semi-libertad, o el retorno a sistemas de explotación clásica, estas parasitosis pasan a considerarse enfermedades re-emergentes. Al igual que sucede en otros sistemas de producción animal, las restricciones en el empleo de antihelmínticos han incentivado la búsqueda de alternativas, entre las que se encuentran algunas estrategias de control biológico, que se fundamentan en el empleo de antagonistas naturales que se encuentran en el suelo, como ciertos hongos. En este estudio se evalúa el efecto de *Mucor circinelloides* y *Verticillium* sp. sobre los huevos de parásitos gastrointestinales en las heces de gallinas ponedoras.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### *Heces de gallinas ponedoras*

Se recogieron 40 muestras fecales frescas de una explotación avícola de Castroverde (Lugo, NO España), que se dividieron en 4 lotes. De cada uno, se tomaron 4 g, que se analizaron mediante la técnica de flotación con solución salina saturada para evaluar la presencia de huevos de nematodos gastrointestinales, que se expresaron como número de huevos por gramo de heces (HPG) (Cortiñas *et al.*, 2015).

#### *Diseño experimental del estudio*

Una vez identificados huevos de ascáridos, se colocaron 4 g de heces en 36 cajas de plástico, que se dividieron en 3 grupos (12 cajas/grupo). En las cajas del grupo Testigo (G-T) se añadieron 3 mL de agua destilada; en el G-M, 3 mL de medio de cultivo líquido que contenía 10<sup>5</sup> esporas del hongo *Mucor circinelloides*, y en el G-V, 3 mL del hongo *Verticillium* sp., aislados por el grupo de investigación COPAR (USC).

Las cajas se mantuvieron en un prado de la explotación durante 28 días. Cada 7 días, se analizó el contenido de 3 cajas de cada grupo mediante la técnica de flotación, para determinar el número de huevos que permanecían viables y los que habían sido alterados por acción de los hongos. De este modo, se calculó el porcentaje de reducción de viabilidad:

$$\% \text{ Reducción} = [1 - (\text{HPG}_{\text{día 28}} / \text{HPG}_{\text{día 0}})] \times 100$$

#### *Análisis estadístico*

Con el test de Kolmogorov-Smirnov se comprobó que la distribución de los valores de eliminación de huevos de ascáridos no seguía una distribución normal ( $Z= 1,619$ ,  $P= 0,011$ ), de modo que estos datos se analizaron con las pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis y

“U” de Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ). Se consideró que las diferencias eran significativas si  $P < 0,05$ . Todas las pruebas se realizaron con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al inicio del ensayo, se determinó que las gallinas eliminaban alrededor de 160 huevos viables de ascáridos por gramo de heces (HPG) (Fig. 1). En los coprocultivos del grupo testigo, prácticamente no se obtuvieron diferencias durante los 28 días, encontrándose en este momento 150 HPG. Sin embargo, la adición de esporas de *M. circinelloides* provocó la reducción de huevos viables, encontrándose al final del estudio 48 HPG. Similares resultados se observaron tras la pulverización de esporas de *Verticillium* sp. (45 HPG a los 28 días, Fig. 1). Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas ( $\chi^2 = 11,351$ ,  $P = 0,003$ ), estableciéndose entre el G-T y el G-M ( $U = -3,360$ ,  $P = 0,001$ ), y también entre el G-T y el G-V ( $U = -4,301$ ,  $P = 0,030$ ).

En la Tabla 1 se presentan los valores del porcentaje de reducción de huevos viables en los tres grupos. Transcurridos los 28 días de ensayo, en el G-T se observó una reducción del 10%, por 68% en el G-M y 71% en el G-V ( $\chi^2 = 11,351$ ,  $P = 0,003$ ). Se demostraron diferencias significativas entre el G-T y el G-M ( $U = -4,709$ ,  $P = 0,001$ ), así como entre el G-T y el G-V ( $U = -2,218$ ,  $P = 0,001$ ). Estos resultados coinciden con los de estudios previos en los que se empleó *Verticillium chlamyosporium* sobre huevos de ascáridos que afectan a personas (*Ascaris lumbricoides*) (Braga et al., 2007) y a cánidos (*Toxocara canis*) (Ciarmela et al., 2010), y al utilizar *M. circinelloides* en heces de suidos que eliminaban huevos de *Ascaris suum* (Cortiñas et al., 2015).

En el presente estudio, con la adición de esporas de *M. circinelloides* y *Verticillium*, a los 14 días se consiguió hacer inviables uno de cada tres huevos de ascáridos en las heces de gallinas ponedoras, y a los 21 días sólo el 33% de la carga inicial permaneció viables. Estos datos confirman la importante utilidad del control biológico de nematodos ascáridos en gallinas ponedoras, y suponen una contribución muy útil para desarrollar sistemas de producción avícola sostenibles y respetuosos con el ambiente, como la explotación ecológica. La posibilidad de reducir a 1/3 la presencia de huevos de ascáridos viables en el suelo contribuiría a disminuir la frecuencia de tratamientos antiparasitarios necesarios, lo que redundaría en un efecto beneficioso para las aves porque se limitaría el riesgo de infección, y con ello el desarrollo de posibles daños. También se lograría un efecto provechoso sobre el medio, puesto que algunos de los productos antiparasitarios empleados resultan tóxicos para determinados organismos, como los escarabajos coprófagos, que desempeñan un papel fundamental en la descomposición de la materia fecal y con ello en el enriquecimiento del suelo.

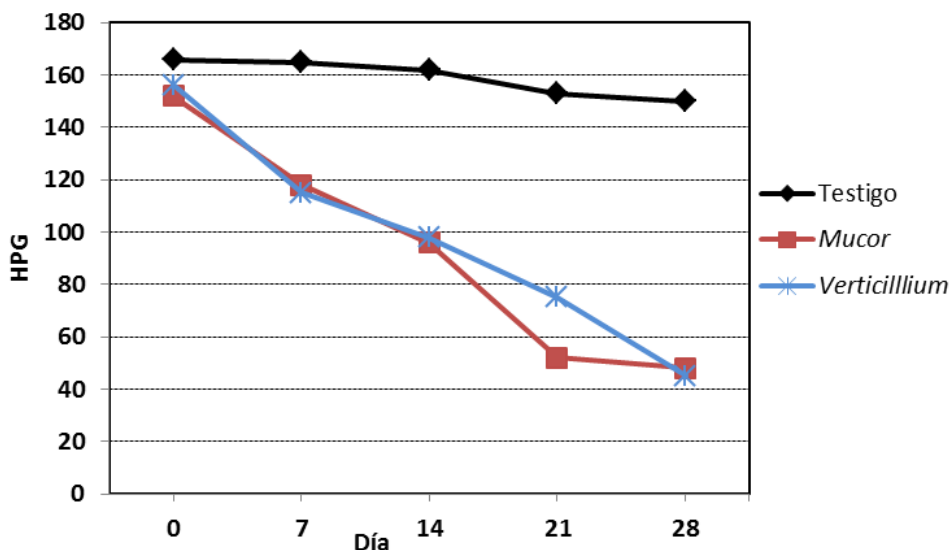
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Braga et al., 2007. In vitro observation of the action of isolates of the fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* and *Verticillium chlamyosporium* on the eggs of *Ascaris lumbricoides* (Linnaeus, 1758). Rev Soc Bras Med Trop. 40: 356-358. • Ciarmela et al., 2010. Minvielle, M. C. Effect of saprotrophic soil fungi on *Toxocara canis* eggs. Mal J Microbiol. 6: 75-80. • Cortiñas et al., 2015. Potential use of *Mucor circinelloides* for the biological control of certain helminths affecting livestock reared in a care farm. Biocontrol Sci Techn. 25: 1443-1452. • Directiva 1999/74/CE. <https://www.boe.es/doue/1999/203/L00053-00057.pdf>

**Agradecimientos:** El presente trabajo ha sido realizado con cargo a los Proyectos de Investigación AGL2012-34355 y CTM2015-65954-R (Ministerio de Economía y Competitividad, España; FEDER).

**Tabla 1. Porcentajes de reducción de huevos viables de ascáridos en heces de gallinas ponedoras.**

Día	Grupo		Grupo	
	Estadístico	Testigo	<i>Mucor</i>	<i>Verticillium</i>
7	% Reducción	1	22	28
	IC 95%	0-2	16-29	22-35
14	%	2	37	41
	IC 95%	0-5	29-45	33-48
21	%	8	66	66
	IC 95%	4-12	58-73	5-74
28	%	10	68	68
	IC 95%	5-14	61-76	61-75



**Figura 1. Evolución de huevos viables de ascáridos en heces de gallinas ponedoras. HPG: número de huevos por gramo de heces.**

**TITLE**  
**AN APPROACH TO THE BIOLOGICAL CONTROL OF GASTROINTESTINAL PARASITES AFFECTING LAYING HENS: ROUNDWORMS**

**ABSTRACT:** The impact of autochthonous fungi on eggs passed in the faeces of laying hens extensively reared has been assessed. Fresh faecal samples were collected directly from the soil of the pastures and then analysed by means of the flotation test. In this way, the presence of eggs belonging to the genera *Ascaridia* was recorded. After adding spores of the soil fungal species *Mucor circinelloides* and *Verticillium* spp. a significant reduction in the viability of the eggs was noted, ranging from 22 to 68% with *M. circinelloides*, and between 28 and 68% in the presence of *Verticillium*. It is concluded that this procedure represents an innovative choice for the control of gastrointestinal parasites in laying hens, which fulfils the requirements of organic farming.

**Keywords:** laying hens, gastrointestinal nematodes, biological control, nematophagous fungi.

## PREVENCIÓN DE ESTRONGILIDOSIS EN CABALLOS EN PASTOREO MEDIANTE CONTROL BIOLÓGICO

Silva<sup>1</sup>, M.I., Arroyo<sup>1</sup>, L.F., Hernández<sup>1</sup>, J.A., Palomero<sup>1</sup>, A.M., Sanchís<sup>2</sup>, J.M., Pedreira<sup>3</sup>, J., Paz-Silva<sup>1</sup>, A., Sánchez-Andrade<sup>1</sup>, R. y Arias<sup>1</sup>, M.S.

<sup>1</sup>Zoonosis y Salud Pública, Departamento de Patología Animal, Universidade de Santiago de Compostela. <sup>2</sup>Parasitología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, (Salto) Uruguay. [mariasol.arias@usc.es](mailto:mariasol.arias@usc.es).

### INTRODUCCIÓN

Los parasitismos gastrointestinales se encuentran entre las afecciones más frecuentes en animales en pastoreo. Por orden de importancia, cabe destacar en primer lugar las helmintosis, en especial las causadas por nematodos estromgilidos entre los équidos y los rumiantes, así como por ascáridos y oxiúridos. Se trata de organismos que desarrollan una fase exógena, lo que resulta importante para implementar cualquier programa de control en los caballos. Si no se tiene en cuenta que en el medio (suelo) se desarrolla un número importante de formas infectivas de parásitos, que van a provocar la infección de los equinos cuando se alimentan de especies vegetales, cualquier estrategia para el control de parásitos será temporal, y habrá que volver a administrar tratamiento antiparasitario en breve. En diferentes estudios se ha indicado que el uso excesivamente frecuente de fármacos antihelmínticos es una de las causas de desarrollo de resistencia entre gran parte de las poblaciones de nematodos parásitos (Canever et al., 2013).

La infección por estromgilidos ocurre cuando los caballos ingieren larvas de 3<sup>er</sup> estadio (L3) con el pasto, donde éstas pueden sobrevivir al menos durante tres meses (Corning, 2009), lo que incrementa el riesgo de infección, y sugiere la aplicación de medidas orientadas a reducir la presencia de L3 en el pasto. Se han sugerido diferentes medidas, entre las que destaca la *terapia selectiva*, que consiste en la desparasitación de los caballos que superan un valor predeterminado de eliminación de huevos en heces. Otros intentos recurren a procedimientos de control biológico, a través de la distribución de hongos parasitoides en el ambiente. Esta idea se fundamenta en especial en los resultados obtenidos con el empleo de hongos atrapanematodos como *Duddingtonia flagrans* o *Monacrosporium thaumassium*, frente a las larvas de nematodos estromgilidos. En este estudio se analiza la eficacia de alimentar caballos con pellets fabricados con esporas de hongos parasitoides (*Mucor circinelloides* y *D. flagrans*) para prevenir su infección por estromgilidos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se desarrolló en instalaciones de la Diputación Provincial de Lugo en Castro Riberas de Lea (Lugo, NO España, 43°15'83"N - 7°05'0"O).

#### *Hongos parasitoides*

Se emplearon dos especies de hongos de probada actividad parasitoides, *Mucor circinelloides* (ovicida) y *Duddingtonia flagrans* (larvicida) (Arias et al., 2013; Cortiñas et al., 2015). Para obtener las esporas, ambos hongos se cultivaron de forma simultánea en el medio líquido COPFr (patente PCT/ES2014/070110) durante 1,5-2 meses a temperatura ambiente, hasta alcanzar concentraciones  $\geq 10^8$  esporas / L medio (Arias et al., 2013).

#### *Diseño experimental*

Se distribuyeron 21 yeguas Pura Raza Galega (PRG) (2-8 años) de forma aleatoria en tres grupos de siete cada uno. Se trata de caballos autóctonos que se alimentan en silvopastoreo:

G-P: yeguas desparasitadas con 1 mg de ivermectina *pour on* / Kg p.v. (Noromectin 0.5%, Norbrook Laboratories, UK). Recibieron diariamente pellets con esporas de hongos.

G-T: yeguas desparasitadas con 1 mg de ivermectina *pour on* / Kg p.v. (Noromectin 0.5%, Norbrook Laboratories, UK). Se alimentaron diariamente con pellets sin esporas de hongos.

G-C: yeguas que se mantuvieron sin desparasitar, como testigos, a las que se les proporcionaron diariamente pellets sin esporas de hongos.

Cada grupo se mantuvo en tres praderas cercadas de una superficie aproximada de tres hectáreas, que contaban con bebederos, comederos y refugios de madera. Las yeguas dispusieron de agua *ad libitum*, y recibieron cada día 2,5 Kg de concentrado en pellets. En

las épocas de escasez de pasto (diciembre-febrero y julio-agosto) se suplementaron con heno. Las yeguas del G-P recibieron concentrado alimentario al que se añadieron  $2 \times 10^6$  de esporas de *M. circinelloides* y de *D. flagrans* / Kg durante la fase de mezcla de los ingredientes.

#### *Eficacia de la estrategia antiparasitaria*

Durante 18 meses, se recogieron heces directamente del recto de cada yegua, que se analizaron (5 g) con la prueba de flotación en solución salina ( $\rho = 1,20$  g/L) (Sensibilidad: 30 huevos por gramo de heces, HPG).

#### *Análisis estadístico*

La cinética de eliminación de HPG se representó como la media y la desviación estándar, y puesto que estos valores no se ajustaban a una distribución normal según la prueba de Levene (Estadístico= 8,127,  $P = 0,001$ ), se emplearon las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y "U" de Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ). Todas las pruebas se realizaron con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los recuentos fecales de huevos de estroñgílicos variaron entre 44 (8ª semana post-tratamiento, spt) y 247 HPG (60ª spt) (Fig. 1). En el grupo G-T (caballos tratados y alimentados con pellets sin esporas), los valores aumentaron de forma significativa a partir de la 8ª spt y alcanzaron un patrón similar al del G-C (testigos), oscilando entre 310 (20ª spt) y 773 HPG (44ª spt) (Fig. 1). Se demostraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores del G-P y G-T ( $U = -11,166$ ,  $P = 0,001$ ) y del G-P y G-C ( $U = -11,532$ ,  $P = 0,001$ ). En estudios previos en los que se administró ivermectina a los caballos y pellets con micelio de *D. flagrans*, se comprobó una reducción significativa de los recuentos de estroñgílicos (30,5%-73,2% con *D. flagrans*, 35,2%-87,5% con *Monacrosporium thaumasium*) (Braga et al., 2009; Tavela et al., 2011). Notables resultados se han obtenido al proporcionar esporas de *D. flagrans* como suplemento alimenticio (Larsen et al., 1995).

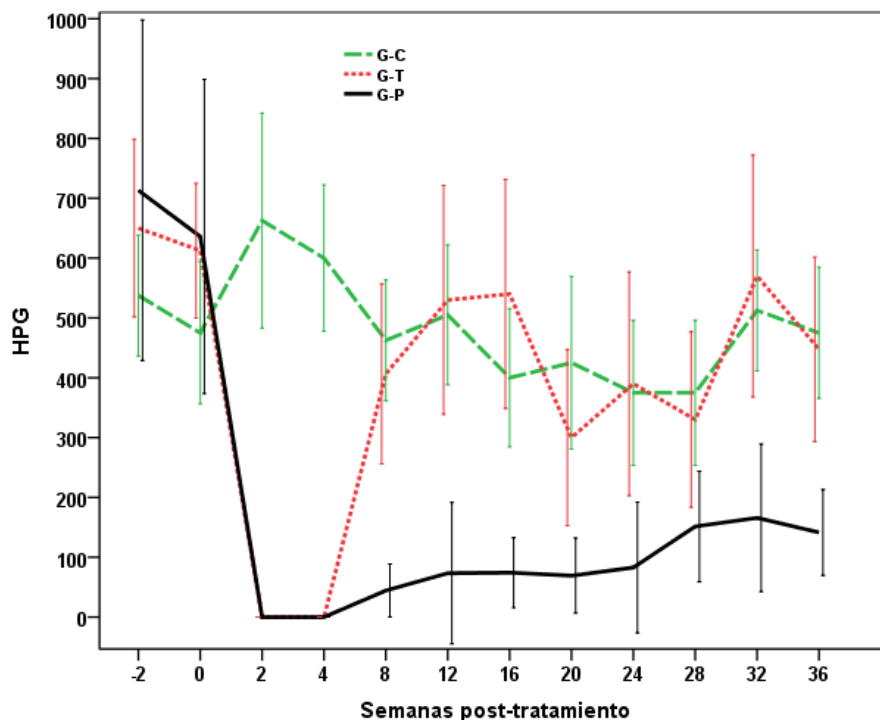
En las yeguas del G-P, que ingirieron pellets con esporas de hongos, no se observaron efectos secundarios en la función respiratoria, digestiva ni reproductiva; tampoco se registraron problemas cutáneos. Ninguna de estas yeguas rechazó la ingesta de los pellets.

En conclusión, el control de estroñgílicos en caballos se basa en la desparasitación para eliminar la infección, y en aplicar medidas para evitar su reinfección. La administración de ivermectina *pour on* suprime la presencia de estroñgílicos adultos. Los resultados obtenidos demuestran la posibilidad de reducir el riesgo de infección por nematodos gastrointestinales si se alimentan los caballos con pellets elaborados de forma industrial con una mezcla de esporas de un hongo ovicida (*M. circinelloides*) y otro atrapanematodos (*D. flagrans*), que no les provoca efectos adversos.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Arias et al., 2013. Mixed production of filamentous fungal spores for preventing soil-transmitted helminth zoonoses: a preliminary analysis. Biomed Res Int. 2013; 567876. doi: 10.1155/2013/567876.
- Braga et al., 2009. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. Vet Parasitol. 163, 335-340.
- Canever et al., 2013. Lack of Cyathostomin sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. Vet Parasitol. 194, 35-39.
- Corning 2009. Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. Parasit. Vectors 2 Suppl 2, S1.
- Cortiñas et al., 2015. Potential use of *Mucor circinelloides* for the biological control of certain helminths affecting livestock reared in a care farm Biocontrol Sci Technol. 25: 1443-1452.
- Larsen et al., 1995. Predacious activity of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against cyathostome larvae in faeces after passage through the gastrointestinal tract of horses. Vet Parasitol. 60, 315-320.
- Tavela et al., 2011. Biological control of cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) with nematophagous fungus *Monacrosporium thaumasium* in tropical southeastern Brazil. Vet Parasitol. 175, 92-96.

**Agradecimientos:** El presente trabajo ha sido realizado con cargo a los Proyectos de Investigación AGL2012-34355 y CTM2015-65954-R (Ministerio de Economía y Competitividad, España; FEDER).



**Figura 1.** Cinética de huevos de estrongídeos en caballos en pastoreo. HPG: número de huevos por gramo de heces; G-P: yeguas desparasitadas con 1 mg de ivermectina pour on / Kg p.v. y alimentadas diariamente con pellets con esporas; G-T: desparasitadas con 1 mg de ivermectina pour on / Kg p.v., que recibieron pellets sin esporas; G-C: yeguas sin desparasitar y alimentadas con pellets sin esporas.

#### TITLE

### AVOIDING INFECTION BY STRONGYLES AMONG GRAZING HORSES BY MEANS OF BIOLOGICAL CONTROL MEASURES

**ABSTRACT:** The usefulness of pellets industrially manufactured with spores of parasiticide fungi was assessed in grazing horses throughout nine months. Group G-P was provided daily with commercial pellets enriched with a mixture of fungal spores during the industrial manufacturing ( $2 \times 10^6$  spores of *Mucor circinelloides* and same dose of *Duddingtonia flagrans* / Kg), and G-T and G-C received pellets without spores.

Strongyle egg-output values remained lower than 300 eggs per gram of faeces in the G-P, whereas numbers between 330 and 772 in G-C and G-T were recorded. It is concluded that feeding horses with pellets industrially manufactured with fungal spores represents a very useful tool to implement an integrated control of helminths affecting horses. This strategy allows a decrease in their risk of infection, aids in reducing the frequency of anthelmintic treatment.

**Keywords:** Horse, strongyles, biological control



## LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROGESTERONA NO SE VE ALTERADA EN NOVILLAS GESTANTES QUE NO ABORTARON TRAS LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *NEOSPORA CANINUM*

Mur-Navales, R., Serrano-Pérez, B., Almería, S., Alabart, J.L., López-Gatius, F., y García-Ispuerto, I<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Lleida- Agrotecnio Center; Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida; irinag@ca.udl.cat

### INTRODUCCIÓN

El feto mamífero es antigénicamente un cuerpo extraño para la madre y para sobrevivir se producen una serie de interacciones de inmunosupresión entre la madre y el mismo. La hormona clave que provoca inmunotolerancia fetal por parte de la madre es la progesterona (Hansen et al. 1986), produciendo un cambio hacia la respuesta inmune tipo Th2 y evitando así el aborto que produciría una excesiva respuesta Th1 (Roberston, 2000). El efecto regulador de la progesterona es ejercido directa o indirectamente a través de mediadores secundarios como las serpinas uterinas, conocidas como SERPINA14, que se encuentran presentes en el endometrio, fluidos fetales y el ovario (Padua y Hansen, 2010).

*Neospora caninum* es un protozoo intracelular obligado considerado la causa más importante de aborto en vacuno lechero a nivel mundial. En las granjas lecheras la ruta de infección más frecuente es la transplacentaria, donde las madres infectadas naturalmente transmiten el parásito a los fetos durante la gestación (Almería y López-Gatius, 2013). La mayoría de terneros nacen clínicamente normales, aunque aproximadamente un 95% están infectados por *N. caninum*. El aborto o la infección congénita ocurren cuando el parásito atraviesa la barrera placentaria e infecta al feto, provocando el aborto principalmente hacia los 5-7 meses de gestación (Almería y López-Gatius, 2013). Las razones por las cuales algunas vacas infectadas abortan y otras no, siguen siendo desconocidas. Es bien conocido que la infección por *N. caninum* modifica los patrones hormonales durante la gestación en vacuno lechero. Por ejemplo, la seropositividad frente a este parásito ha sido asociada con incremento de prolactina y progesterona plasmática (García-Ispuerto et al. 2010, 2013) y reducción de glicoproteínas asociadas a gestación (PAGs) (García-Ispuerto et al., 2015). También, se ha observado una correlación negativa entre la expresión génica de SERPINA14 en la placenta y la respuesta adaptativa humoral y celular en la placenta y linfonodos uterinos de vacas infectadas experimentalmente con *N. caninum* (Serrano-Pérez et al., 2016, 2017). El presente estudio se realizó durante el segundo trimestre de gestación en terneras gestantes experimentalmente infectadas con *N. caninum* el día 110 de gestación. Se seleccionó este momento de infección debido a que es cuando la mayoría de abortos tienen lugar en animales infectados en condiciones de campo. Debido al tropismo del parásito por el folículo ovárico (Silva et al., 2012) y al aumento de progesterona detectado en animales seropositivos a *N. caninum*, el objetivo de este estudio fue determinar si las novillas infectadas experimentalmente mostraban cambios en la concentración plasmática de progesterona tras la infección. Un segundo objetivo fue correlacionar la expresión génica de SERPINA14 en el cuerpo lúteo con la concentración plasmática de progesterona.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales utilizados y el protocolo de infección han sido descritos por Almería et al. (2016) y aprobados por el Comité de Ética de Animales de Experimentación de la Universidad Autónoma de Barcelona (CEEAH.1426-08/02/2012) y la Universidad de Lleida (CEEA.06-01/12). En resumen, diez novillas de 14-16 meses de edad de raza frisona libres de agentes infecciosos abortivos y seronegativas a *N. caninum* (CIVTEST®, Hipra, Girona, España) fueron sincronizadas e inseminadas artificialmente. La seronegatividad fue reconfirmada los días 60, 90 y 110 de gestación. La gestación fue determinada mediante ecografía transrectal los días 30, 45, 90 y 110 tras la IA. En el día 110 de gestación, 6 novillas fueron inoculadas vía intravenosa con 10<sup>7</sup> taquizoitos de *N. caninum* Nc-Spain7 cedidos por el Dr. Ortega-Mora (SALUVET, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España). Dos novillas abortaron los días 14 y 21 tras la infección, y en otra novilla se encontró un feto momificado tras la eutanasia, por lo que se excluyeron del análisis. Las restantes 3 novillas que no abortaron fueron eutanasiadas el día 152 de gestación, al igual

que las controles no inoculadas. A día 152 de gestación (42 días postinfección), se recogió sangre de la vena de la cola en tubos heparinizados (BD Vacutainer, Becton-Dickinson and Company, Plymouth, RU) para determinar la concentración de progesterona plasmática. El plasma se obtuvo de la centrifugación de las muestras antes de 30 minutos de la extracción y se congelaron a -20°C hasta su posterior análisis. Las concentraciones de progesterona se analizaron mediante un kit ELISA diseñado para plasma bovino (Ridgeway Science, St. Briavels, Gloucestershire, RU) de acuerdo con las instrucciones de la casa comercial. La sensibilidad del análisis fue de 0,3 ng/ml. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado. Los coeficientes de variación intra-análisis para los controles de 1 y 2 ng/ml fueron 6,4 y 4,8%, respectivamente. En el momento del sacrificio se tomaron muestras de los cuerpos lúteos (CL) que se conservaron en nitrógeno líquido hasta el momento de su extracción. El ARN de los CL se extrajo mediante el protocolo Trizol (Invitrogen), se trató con DNAsas y se obtuvo ADN copia (cDNA) mediante transcripción reversa en presencia de iniciadores random con el kit High Capacity cDNA Reverse Transcription (Life Technologies, Carlsbad, CA, EEUU). La expresión de ARN mensajero para la *SERPINA14* y el gen de referencia  $\beta$ -*ACTINA* se determinó mediante PCR a tiempo real empleando el sistema SYBR Green (Thermoscientific) en un aparato de detección ABI PRISM TM 7500 (Applied Biosystem, Foster City, CA, EEUU) según lo descrito en Serrano-Pérez et al., (2016). Los resultados se expresaron en expresión relativa (RQ). Se compararon las concentraciones de progesterona plasmática entre novillas controles (seronegativas) e infectadas con *N. caninum* no abortadas mediante el test T de Student. Se empleó el coeficiente de correlación de Spearman,  $\rho$  (rho) para estudiar la relación entre la concentración de progesterona y la expresión génica de *SERPINA14* en el cuerpo lúteo. Para ello se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). La significancia utilizada fue de  $P \leq 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La infección experimental con *Neospora caninum* no afectó a la concentración de progesterona plasmática. La concentración en las madres control e infectadas no abortadas fue de  $12,53 \pm 1,5$  ng/ml y  $12,85 \pm 3,7$  ng/ml, respectivamente. Estos análisis parecen demostrar que la infección no afecta a la función luteal, como mínimo en términos de concentraciones de progesterona. Este resultado parece contradecir a Garcia-Ispuerto et al. (2010), que observaron que las vacas en lactación seropositivas infectadas naturalmente presentaron mayor concentración de progesterona que las seronegativas. Esta hormona reduce la respuesta Th1 (respuesta proinflamatoria), y se ha determinado que un aumento de respuesta de este tipo provoca aborto en animales seropositivos crónicamente infectados (Bech-Sàbat et al., 2007). Por eso, es lógico pensar que la respuesta de los animales sea aumentar la progesterona para evitar el aborto. La neosporosis es una enfermedad de la placenta o el feto, y su patogénesis aún no está completamente elucidada. Quizás, las novillas que aún no tienen estrés de producción no necesitan aumentar el nivel de progesterona para prevenir el aborto causado por *N. caninum*, mientras que vacas de alta producción que ya tienen un metabolismo hormonal elevado, sí necesitan hacerlo. Otro factor es el corto periodo de estudio en la infección experimental mientras que el estudio en vacas naturalmente infectadas se llevó a cabo a lo largo de la gestación. A pesar de que la secreción de *SERPINA14* luteal está regulada por esteroides (Ulbrich et al., 2009), la correlación entre la concentración plasmática de P4 y la expresión de *SERPINA14* no alcanzó la significación estadística ( $r: 0,607, P=0,148$ ), quizás debido al bajo número de casos estudiados, por lo que debería confirmarse en una muestra mayor. Más estudios son necesarios para determinar la patogénesis del parásito sobre la funcionalidad del cuerpo lúteo, tanto en vacas como en novillas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almería, S. & López-Gatius, F., 2013. Res Vet Sci 95:303-309.
- Almería, S., Serrano-Pérez, B., Darwich, L., Domingo, M., Mur-Novales, R., Regidor-Cerrillo, J., Cabezón, O., Pérez-Maillo, M., López-Helguera, I., Fernández-Aguilar, X., Puig-Ribas, M., Ortega-Mora, L.M., García-Ispuerto, I., Dubey, J.P. & López-Gatius, F., 2016. Exp Parasitol 168:62-69.
- Bech-Sàbat, G., López-Gatius, F., Santolaria, P., García-Ispuerto, I., Pabón, M., Nogareda, C., Yániz, J.L., Almería, S., 2007. Vet Parasitol 145:164-167.
- García-Ispuerto, I., Nogareda,

C., Yániz, J.L., Almería, S., Martínez-Bello, D., de Sousa, N.M., Beckers, J.F. & López-Gatius, F., 2010. *Theriogenology* 74:212–220. • García-Ispierto, I., Almería, S., Serrano, B., de Sousa, N.M., Beckers, J.F. & López-Gatius, F., 2013. *Reprod Domest Anim* 48:613-618. • García-Ispierto, I., Serrano-Pérez, B., Almería, S., Martínez-Bello, D., Tchimbou, A.F., de Sousa, N.M., Beckers, J.F., & López-Gatius, F., 2015. *Theriogenology* 83:491–496. • Hansen, P.J., Bazer, F.W. & Segerson, E.C. Jr., 1986. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 12:48-54. • Roberston, S.A., 2000. *Rev Reprod* 5:164-164. • Padua, M.B. & Hansen, P.J. 2010. *Am J Reprod Immunol*. 64:265-74. • Serrano-Pérez, B., Hansen, P.J., Mur-Navales, R., García-Ispierto, I., de Sousa, N.M., Beckers, J.F., Almería, S., & López-Gatius, F. 2016. *Theriogenology*. 86:824-30. • Serrano-Pérez, B., Almería, S., Mur-Navales, R., López-Helguera, I., García-Ispierto, I., Alabart, J.L., Darwich, L. & López-Gatius, F. *Reprod Domest Anim*. 2017 doi: 10.1111/rda.12937. • Silva, A.F., Rangel, L., Ortiz, C.G., Morales, E., Zanella, E.L., Castillo-Velázquez, U. & Gutiérrez, C.G., 2012. *Vet Parasitol* 188:175-178. • Ulbrich SE, Frohlich T, Schulke K, Englberger E, Waldschmitt N, Arnold GJ, Reichenbach HD, Reichenbach M, Wolf E, Meyer HH, Bauersachs S. 2009. *Biol Reprod*. 81:795-805.

**Agradecimientos:** Este estudio fue financiado por MINECO (AGL2012-39830-C02-01/02) y fondos FEDER. R. Mur-Navales disfruta de una beca FPI (BES-2013-063215).

### **PLASMA PROGESTERONE CONCENTRATION IS NOT REDUCED IN PREGNANT NON-ABORTING HEIFERS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *NEOSPORA CANINUM***

**ABSTRACT:** *Neospora caninum* is a major cause of abortion in cattle worldwide. However, immune-endocrine interactions during pregnancy in *Neospora*-infected cows remain unknown. This study examines plasma progesterone concentration in dairy heifers experimentally infected with *N. caninum* that did not abort, and also assessed possible interrelations between expression patterns of *SERPINA14* in corpus luteum tissues and plasma progesterone concentrations. The study population was constituted of four non-infected controls and three heifers experimentally infected with *N. caninum* on Day 110 of pregnancy with live fetuses at euthanasia. Both groups were euthanized on Day 152 of gestation. At euthanasia, blood samples were collected to determine progesterone concentrations. Samples of corpus luteum tissues (CL) were collected to determine gene expression of *SERPINA14*. No relationships were detected between infection and plasma progesterone concentration ( $12.5 \pm 1.5$  ng/ml in controls vs.  $12.8 \pm 3.7$  ng/ml in infected dams). There was not significant correlation between plasma progesterone concentration and *SERPINA14* expression in CL ( $r: 0.607, P=0.148$ ). In conclusion, *N. caninum* had no impacts on luteal function, at least in terms of repercussions on plasma progesterone concentrations.

**Keywords:** Neosporosis, reproduction, endocrinology, parasite

## CARACTERIZACIÓN DE LAS CITOQUINAS INVOLUCRADAS EN LA LUTEOLISIS DEL CUERPO LÚTEO DE VACAS ABORTADAS POR LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *NEOSPORA CANINUM*

Serrano-Pérez, B.<sup>1</sup>, Almería, S., Mur, R., Alabart J.L., López-Helguera, I., Garcia-Ispuerto, I., y López-Gatius, F.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Lleida- Agrotecnio Center; Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida; bserrano@ca.udl.cat

### INTRODUCCIÓN

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina efímera que regula la duración del ciclo éstrico y cuya presencia es crítica para el establecimiento y mantenimiento de la gestación (Sakumoto, 2016). En la vaca, células residentes luteales regulan la homeostasis interna, mediante la activación de poblaciones de linfocitos T que modulan los procesos luteotróficos mediante la secreción de citoquinas anti-inflamatorias (IL-4, IL-10), o luteolíticas mediante citoquinas pro-inflamatorias (IL-8, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) (Walusimbi y Pate, 2014). Recientes trabajos han mostrado como un ambiente uterino comprometido puede impactar negativamente sobre la función luteal, y aumentar el riesgo de aborto en animales gestantes (Dubey et al., 2006; Lüttgenau et al., 2016). Sin embargo, el ambiente creado por dichas células durante la luteolisis queda confinado al cuerpo lúteo y no se extiende al resto del ovario (Poole y Pate, 2012). *Neospora caninum* es un parásito intracelular obligado considerado una de las causas más importantes de aborto en ganado vacuno a nivel mundial (Dubey and Schares, 2011). Sin embargo, no se conocen las interacciones inmuno-endocrinas que tienen lugar en vacas infectadas por *N. caninum* durante la gestación que puedan relacionarse con los abortos. En estudios recientes, en novillas gestantes experimentalmente infectadas con *N. caninum* en el segundo trimestre de gestación, no se han observado efectos claros de la infección sobre la homeostasis del cuerpo lúteo. Sin embargo, se ha observado una correlación positiva entre la expresión de citoquinas T reguladoras (*IL10*) en células luteales, y de Th1 (*IFNG*) y Th2 (*IL4*) en tejidos luteales y placentarios de novillas que no abortaron, indicador del equilibrio inmunológico durante el transcurso de la infección (Serrano-Pérez et al., 2017). Para profundizar en los mecanismos inmuno-endocrinos asociados a la infección por *N. caninum*, el objetivo de este estudio fue caracterizar el patrón de citoquinas involucradas en la regresión del cuerpo lúteo de vacas que abortaron como consecuencia de la infección experimental por *N. caninum*.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El protocolo de infección y la recogida de muestras se han descrito en Almería et al. (2016a) y aprobado por el comité de Ética de Animales de Experimentación de la Universidad Autónoma de Barcelona (CEEAH.1426-08/02/2012) y la Universidad de Lleida (CEEA.06-01/12). Brevemente, 10 novillas frisonas sanas seronegativas a *N. caninum* se sincronizaron y se inseminaron artificialmente (IA). El diagnóstico de gestación se realizó los días 28-34 post IA mediante ecografía transrectal, y se confirmó la gestación a los días 90, 120, 150 mediante palpación rectal. La infección experimental se realizó en 6 animales el día 110 de gestación con 10<sup>7</sup> taquizoitos de la cepa Nc-Spain7, altamente patógena cedidos por el Dr. Ortega-Mora (SALUVET, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España). Se sacrificaron en total cuatro novillas controles y 6 novillas infectadas. Dos novillas infectadas abortaron los días 14 y 21 post-infección, respectivamente. Otra novilla infectada presentó un feto momificado en el momento del sacrificio, por lo que se excluyó del estudio. En el momento del sacrificio, 42 días post-infección, se extrajeron muestras de sangre para la determinación plasmática de progesterona (P4) y se tomaron muestras de los cuerpos lúteos (CL) presentes en los ovarios que se conservaron en nitrógeno líquido hasta el momento de su extracción. La determinación plasmática de P4 se realizó mediante un kit ELISA diseñado para plasma bovino (Ridgeway Science, St. Briavels, Gloucestershire, RU) de acuerdo con las instrucciones de la casa comercial. La sensibilidad del análisis fue de 0,3 ng/ml. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado. Los coeficientes de variación intra-análisis para los controles de 1 y 2 ng/ml fueron 6,4 y 4,8%, respectivamente. El procesado del ARN y la determinación de la expresión por PCR a tiempo real de citoquinas (*TNFA*, *IFN $\gamma$* , *IL4*, *IL10*) se realizó según lo descrito en Almería et al. (2014). Los cebadores empleados para la *IL8* se describen en Talbott et al., (2014). El ARN de los CL se extrajo

mediante el protocolo Trizol (Invitrogen), se trató con DNAsas y se obtuvo ADN copia (cDNA) mediante transcripción reversa en presencia de iniciadores random con el kit High Capacity cDNA Reverse Transcription (Life Technologies, Carlsbad, CA, EEUU). La expresión de ARN mensajero para los genes *TNFA*, *IL8*, *IFN $\gamma$* , *IL4*, *IL10* y el gen de referencia *GAPDH* se determinó mediante PCR a tiempo real empleando sondas Taqman en un aparato de detección ABI PRISM™ 7700 (Applied Biosystem, Foster City, CA, EEUU). La cuantificación de los niveles de expresión génica de las citoquinas en los CL se realizó mediante el método comparativo 2- $\Delta\Delta$ Ct (ABI PRISM7700 sequence detection system, user bulletin #2). Los datos se analizaron estadísticamente mediante prueba de Kruskal-Wallis con el paquete SPSS v.17 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). La significancia utilizada fue de  $P \leq 0.05$ .

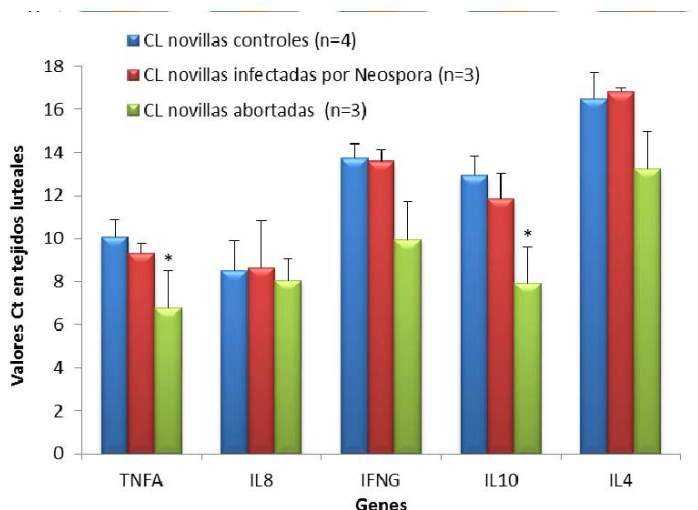
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron en total cuatro CL de las novillas control, tres CL de novillas infectadas con feto viable y tres CL de las novillas que abortaron, ya que una presentaba dos cuerpos lúteos en distinto grado de regresión en el momento del sacrificio. Los tejidos luteales del grupo control no alcanzaron los niveles umbral para la detección de la expresión de *IL4*. Cuando los niveles normalizados se compararon, se observaron niveles de expresión similares para *TNFA*, *IFNG*, *IL4*, *IL10* entre novillas controles e infectadas no abortadas (Serrano-Pérez et al., 2017). Sin embargo, las novillas que abortaron presentaron mayor expresión de *TNFA* ( $P=0,043$ ), *IL10* ( $P=0,034$ ), *IFNG* ( $P=0,055$ ) e *IL4* ( $P=0,095$ ), respecto a las novillas controles e infectadas con fetos viables en el momento del sacrificio. Está ampliamente descrito como las citoquinas proinflamatorias secretadas por las células inmunitarias del CL poseen la capacidad de inducir tanto la regresión funcional (disminución de la P4) como la regresión luteal estructural (muerte celular) (Hojo et al., 2010). Fruto de esta actividad, los niveles plasmáticos de P4 de las novillas abortadas se encontraban disminuidos respecto a las novillas gestantes ( $1,5 \pm 0,1$  ng/ml vs.  $12 \pm 2,9$  ng/ml). A pesar del papel de la *IL8* en el reclutamiento de neutrófilos durante la luteolisis, no se observaron diferencias entre grupos (Talbot et al., 2014). Por otro lado, la presencia de citoquinas antiinflamatorias podría ser debida a la actividad reguladora de estas citoquinas ante la presencia del parásito. Las novillas que abortaron presentaron menores niveles de citoquinas Th2 (*IL-4*) y Treg (*IL10*) en el momento del sacrificio respecto a las que no abortaron (Almería et al., 2016b). Posiblemente esto fue debido a la bajada de los niveles de expresión de citoquinas en los animales abortados unas semanas después del aborto (Almería et al., 2016b). Fruto de la cooperación de las respuestas Th1 y Th2 podría explicarse la rápida recuperación reproductiva observada en vacas abortadas en condiciones de granja (Santolaria et al., 2009). Los resultados de este estudio muestran cómo la regresión del cuerpo lúteo de novillas que abortaron como consecuencia de la infección experimental por *N. caninum* involucra tanto citoquinas proinflamatorias como antiinflamatorias.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almería, S., Serrano-Pérez, B., Darwich, L., Araujo, R.N., Lopez-Gatius, F., Dubey, J.P. & Gasbarre, L.C. 2014. *Vet Parasitol.* 204:146-52.
- Almería, S., Serrano-Pérez, B., Darwich, L., Domingo, M., Mur-Navales, R., Regidor-Cerrillo, J., Cabezón, O., Pérez-Maillo, M., Lopez-Helguera, I., Fernández-Aguilar, X., Puig-Ribas, M., Ortega-Mora, L.M., García-Ispuerto, I., Dubey, J.P. & López-Gatius, F. 2016a. *Exp Parasitol.* 168:62-9.
- Almería, S., Serrano-Pérez, B., Darwich, L., Mur-Navales, R., García-Ispuerto, I., Cabezón, O. & López-Gatius, F. 2016b. *Vet Parasitol.* 227:138-42.
- Dubey, J.P., Schares, G. 2011. *Vet Parasitol.* 180:90-108.
- Dubey, J.P., Buxton, D. & Wouda, W. 2006. *J Comp Pathol.* 134:267-89.
- Hojo T., Oda, A., Lee S.H., Acosta, T.J. & Okuda K. 2010. *J Reprod Dev.* 56:515-9.
- Lüttgenau, J., Lingemann, B., Wellnitz, O., Hankele, A.K., Schmicke, M., Ulbrich, S.E., Bruckmaier, R.M. & Bollwein, H. 2016. *J Dairy Sci.* 99:6639-53.
- Poole, D.H., Pate, J.L. 2012. *Biol Reprod.* 86:29.
- Sakumoto, R. 2016. *Reprod Biol.* 16:182-8.
- Santolaria, P., López-Gatius, F., Yániz, J., García-Ispuerto, I., Nogareda, C., Bech-Sabat, G., Serrano, B. & Almería, S. 2009. *Theriogenology.* 72:798-802.
- Serrano-Pérez, B., Almería, S., Mur-Navales, R., López-Helguera, I., García-Ispuerto, I., Alabart, J.L., Darwich, L. & López-Gatius, F. 2017. *Reprod Domest Anim.* doi: 10.1111/rda.12937.
- Talbot, H., Delaney, A., Zhang, P.,

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por MINECO (AGL2012-39830-C02-01/02). R. Mur-Navales disfruta de una beca FPI (BES-2013-063215).



**Figura 1.** Expresión génica de citoquinas TNFA, IL8, IFNG, IL10, IL4 (valores umbral del ciclo (Ct) normalizados) entre grupos (grupo control, novillas *N. caninum* infectadas no abortadas, novillas *N. caninum* infectadas abortadas) en tejidos lúteales 42 días post-infección. Cuanto mayor es el valor Ct normalizado, menor es el nivel de expresión. CL: Cuerpos lúteos. \*  $P < 0,05$

#### CHARACTERIZATION OF CITOKINES INVOLVED IN CORPUS LUTEUM LUTEOLYSIS IN ABORTING HEIFERS AFTER EXPERIMENTAL INFECTION WITH *NEOSPORA CANINUM*

**ABSTRACT:** Corpus luteum (CL) is an ephemeral ovarian endocrine gland that regulates the length of the estrous cycle and is critical for the establishment and maintenance of pregnancy. Cells resident in the bovine CL regulate internal homeostasis, through activation of T-cell subsets that control secretion of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. This study characterizes cytokine gene expression involved in corpus luteum luteolysis in dams suffering abortion after *N. caninum* experimental infection. Gene expression of Th1 (*IFNG*, *TNFA*), Th2 (*IL4*) and Treg (*IL10*) cytokines was examined by real time PCR using the TaqMan approach in control and infected animals dams after infection with the isolate Nc-Spain7 at 110 days of pregnancy and euthanasia 6 weeks after infection. Abortion was observed in two of six infected dams. Aborting dams presented upregulated expression of *TNFA* ( $P=0.043$ ), *IL10* ( $P=0.034$ ), *IFNG* ( $P=0.055$ , trend) and *IL4* ( $P=0.095$ , trend) in CL compared to controls and non-aborting infected dams. Inflammatory cytokines in CL have the capacity to induce both functional and structural luteal regression. As a consequence, these dams presented the lowest progesterone concentrations at euthanasia. However, upregulation of anti-inflammatory cytokines in CL suggest a cooperation between Th1 and Th2 responses in *N. caninum* infection.

**Keywords:** neosporosis, abortion, corpus luteum regression, heifers, immune response.

## REACCIONES LOCALES GRANULOMATOSAS PERSISTENTES OCASIONADAS POR ADYUVANTES ALUMÍNICOS EN OVINO: ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO Y ULTRAESTRUCTURAL

Asín<sup>1</sup> J., Molín J., Lacasta D., Gimeno M., Pinczowski P., Pérez M., Crespo H., Muniesa A.,  
Fernández A., de Blas I., de Pablo L., Navascués N., de Andrés D., Reina R., Luján L.

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Miguel Servet, 177. 50013.

Zaragoza. [jasinros@unizar.es](mailto:jasinros@unizar.es)

### INTRODUCCIÓN

Los adyuvantes vacunales a base de sales de aluminio son los más usados en ganado ovino y otras especies animales. Su utilización permite al sistema inmune establecer una respuesta rápida y eficaz frente al antígeno vacunal (Lindblad, 2004). A nivel local, su uso está asociado a reacciones transitorias en forma de nódulo (HogenEsch, 2013) que, generalmente, se monitorizan *in vivo* por unos pocos meses mediante la valoración de su severidad. El presente estudio pretende valorar la evolución de estas reacciones a largo plazo, estudiar su morfología *post mortem* y establecer el papel del aluminio en su génesis; así como definir su posible rol en episodios de reacciones adversas a vacunas con adyuvantes alumínicos, como los ocurridos durante las campañas de vacunación frente a la Lengua Azul entre 2008 y 2010 (González et al., 2010; Luján et al., 2013) actualmente adscritos al Síndrome Autoinmune/inflamatorio Asociado a Adyuvantes (ASIA syndrome) (Shoenfeld y Agmon-Levin, 2011; Luján et al., 2013).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 84 corderos, machos castrados, de 3 meses de edad que se distribuyeron en 3 grupos de 28 animales cada uno. Cada grupo siguió un protocolo de inoculación intensivo mediante la aplicación de distintos productos por vía subcutánea. El Grupo A recibió inyecciones de vacunas comerciales ovinas con hidróxido de aluminio como adyuvante. El Grupo B fue inoculado solo con el adyuvante, siempre con la misma concentración de aluminio que la vacuna usada en el Grupo A. El Grupo C fue inyectado con PBS. Cada grupo recibió un total de 19 inoculaciones del producto respectivo, 16 en el lado derecho de la espalda y 3 en el izquierdo, siempre en puntos distintos. Los protocolos de aplicación indicados por el fabricante de cada vacuna fueron respetados. Los animales fueron sacrificados tras 15 meses. Solo los datos recogidos de las inoculaciones del lado derecho han sido considerados para su análisis. Las reacciones se monitorizaron periódicamente *in vivo* mediante palpación. Tras el sacrificio, se llevaron a cabo distintos estudios en los puntos de inoculación y el linfonodo preescapular derecho: i) Estudio anatomopatológico macro y microscópico: Presencia y número de nódulos en el punto de inoculación, forma, caracterización del componente celular, presencia de necrosis y/o mineralización y estatus de reactividad del linfonodo regional; ii) Microbiología; iii) Microscopía Electrónica para caracterización morfológica de las partículas de aluminio; iv) Espectroscopia de rayos X (EDX) para identificación del aluminio. Se realizó un estudio estadístico de los distintos caracteres mediante el programa IBM SPSS Statistics para Windows, versión 19 (IBM Corp., Armonk, NY., USA). El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal (ref: P115/14).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*In vivo*, los animales de los grupos vacunados e inoculados con adyuvante presentaron reacciones en el punto de inoculación en forma de nódulo subcutáneo. La severidad fue siempre mayor ( $p < 0,001$ ) en los animales vacunados que en los inoculados con aluminio. En ambos grupos las valoraciones mostraban más severidad cuando la inyección anterior se había realizado con concentraciones altas de aluminio. *Post mortem*, el 100 % de los animales vacunados presentaron nódulos subcutáneos en el pániculo adiposo del área de inoculación (Fig. 1) mientras que solo el 84,6 % de los inoculados con aluminio lo hicieron. Estos nódulos fueron más numerosos ( $p < 0,001$ ) en el grupo vacunado, presentando un 76,9% de ellos más de 7 nódulos. Algunos animales vacunados llegaron a presentar hasta 15-16 nódulos. El análisis microbiológico descartó cualquier tipo de contaminación bacteriana. A nivel macroscópico, los nódulos de los animales inoculados con vacunas eran redondeados mientras que en el caso de los inoculados con adyuvante eran más aplanados.

Microscópicamente, estas reacciones tisulares fueron clasificadas como granulomas que estaban compuestos mayoritariamente por macrófagos reactivos, en ocasiones formando células gigantes multinucleadas y observándose también neutrófilos dispersos. El centro del granuloma se presentaba necrótico y con mineralización distrófica. En la periferia de los granulomas aparecían grupos de linfocitos que de forma muy ocasional formaban tejido linfoide terciario. El tamaño del granuloma, la necrosis y la mineralización presentaban mayor frecuencia y severidad patológica en los animales vacunados. En todos los casos se observaron numerosos vasos con activación endotelial en el interior de los granulomas. Habitualmente se observaba una cápsula fibrosa alrededor de los nódulos de ambos grupos, además de cierta fibrosis interna, esta última con una frecuencia algo superior en los granulomas procedentes del grupo de inoculados con adyuvante. En el caso de los linfonodos, tanto los animales inoculados con adyuvante como los vacunados mostraron características de activación como hiperplasia cortical con mayor frecuencia y severidad que los controles. Además, ambos grupos presentaron -en sus linfonodos regionales- agregados de macrófagos voluminosos con citoplasma basofílico espumoso a espiculado con mucha más frecuencia que los controles. A nivel ultraestructural, el estudio de microscopía electrónica llevado a cabo en los granulomas reveló agregados intracitoplasmáticos de partículas espiculadas en los macrófagos. Estos agregados fueron identificados como aluminio mediante EDX (Fig. 2). La longitud de las partículas era mayor en el caso de los granulomas vacunales ( $p < 0,001$ ), mientras que el área de los agregados era similar en ambos grupos ( $p = 0,637$ ).

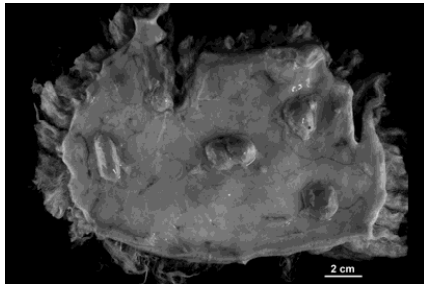
Las reacciones subcutáneas inducidas por la inyección de sales de aluminio corresponden a granulomas inmunomediados estériles y altamente persistentes. Tanto los estudios clínicos *in vivo* como los llevados a cabo tras el sacrificio revelaron mayor severidad y persistencia en los granulomas de los animales inoculados con vacunas. Los estudios *in vivo* no muestran la severidad y número de nódulos con exactitud. Es necesaria una disección *post mortem* cuidadosa del panículo adiposo subcutáneo para recuperar todos los granulomas. Características histológicas como la mayor presencia de necrosis o de mineralización indican un mayor grado lesional a nivel microscópico en los animales vacunados. La presencia de otros componentes en las vacunas además del adyuvante podría explicar estas diferencias entre los dos grupos. A nivel ultraestructural, el mayor tamaño de las partículas de aluminio observado en los vacunados podría deberse a la asociación de éstas con el antígeno (Shardlow et al., 2017). El mayor tamaño de partícula podría inducir un mayor daño celular en las células fagocíticas (Mold et al., 2016), llegando a ser irreversible por las altas concentraciones intracitoplasmáticas de aluminio. Este nivel de daño celular superior es compatible con las características tisulares macro y microscópicas observadas en los animales vacunados, así como con el incremento de la persistencia.

La presencia de granulomas subcutáneos persistentes podría estar relacionada con algunos de los efectos adversos sistémicos observados a largo plazo tras el uso de vacunas con adyuvante aluminico en ovino (González et al., 2008; Luján et al., 2013). Se trata de focos con altas concentraciones de metal que pueden inducir la translocación de éste a otros tejidos (Khan et al., 2013). Este tipo de patogenia ha sido demostrada en el caso de la miofascitis macrofágica (MMF) en medicina humana (Gherardi et al., 2001), en la cual grupos de macrófagos con aluminio intracitoplasmático persisten en el punto de inyección originando síntomas neuromusculares a largo plazo.

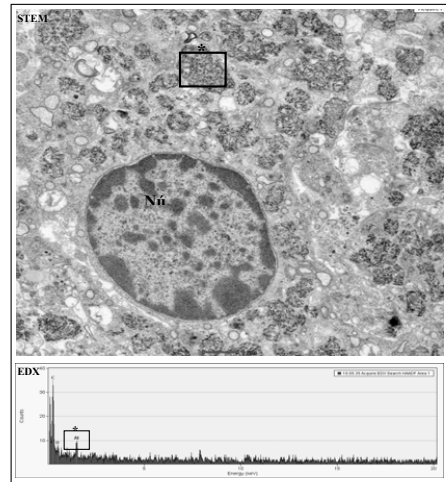
#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Lindblad E.B. Vaccine. 2004; 22:3658-68. • HogenEsch H. Front Immunol. 2013; 3:406. • González J.M. et al. Vet Rec. 2010; 166:757-8. • Luján L et al. Immunol Res. 2013; 56:317-24. • Shoenfeld Y. & Agmon-Levin N. J Autoimmun. 2011; 36:4-8. • Shardlow E. et al. Front Chem. 2017; 4:48. • Mold M. et al. Sci Rep. 2016; 6:31578. • Khan Z. et al. BMC Med. 2013; 11:99. • Gherardi R.K. et al. Brain. 2001; 124:1821-31.





**Fig. 1**



**Fig. 2**

**Figura 1.** Presencia de múltiples granulomas vacunales en el tejido subcutáneo de un animal vacunado (la grasa ha sido retirada).

**Figura 2.** Microscopía electrónica (STEM) de un macrófago de un animal vacunado con agregados intracitoplasmáticos de un material espiculado electrodenso identificado como aluminio mediante EDX. Nú.:Núcleo.

#### **PERSISTENT LOCAL REACTIONS CAUSED BY ALUMINIUM ADJUVANTS IN SHEEP: PATHOLOGIC AND ULTRASTRUCTURAL STUDIES**

The use of aluminium-based adjuvants is very important in sheep and other animal species. They are related to transient local reactions which are thought to disappear in a few months. The present work aims to study the long-term evolution of these reactions and to fully characterize them by different methods, including gross and microscopical pathology, microbiology, Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM) and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX) in order to establish the role of the aluminium in its genesis. A total of 84 neutered, 3 month old lambs were used. They were divided into 3 groups (n=28 each). Each group was repetitively inoculated with a different substance: Group A) Commercial vaccines against main ovine diseases containing aluminium adjuvant; Group B) The adjuvant alone at the same concentration of aluminium as the vaccine used; Group C) PBS. Local reactions consisted in subcutaneous foreign body sterile granulomas which showed more severity in the vaccinated group. They were composed mainly by macrophages with intracytoplasmic aggregates of a needle-shaped material observed by STEM and identified as aluminium by EDX. They were highly persistent. The persistency of aluminium containing nodules and the chronic and constant immune stimulation they produce could be related with some adverse systemic effects occasionally associated with the use of aluminium-adjuvant containing vaccines as it has previously described in the ovine ASIA syndrome.

**Keywords:** Adjuvants, aluminium, granulomas, ASIA syndrome

## TEST DE CALIFORNIA PARA MASTITIS Y MICROBIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA EN EXPLOTACIONES DE VACAS LECHERAS

Cerqueira, J.O.L.<sup>1,2</sup>, Cruz, A.F.S.<sup>1</sup>, Correia, J.F.V.B.<sup>3</sup>, Blanco-Penedo, I.<sup>4</sup>, Cantalapiedra J.<sup>5</sup>, Araújo, J.P.<sup>1,6</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 Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal. <sup>3</sup>Cooperativa Agrícola Vila do Conde, R. da Lapa, nº293, 4480-757 Vila do Conde, Portugal. <sup>4</sup>Subprograma Bienestar Animal, IRTA, Monells, Girona, España. <sup>5</sup>Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España. <sup>6</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo.

### INTRODUCCIÓN

El Test de California para la detección de mastitis (TCM) es un método indirecto que permite estimar la cantidad de ácido desoxirribonucleico (ADN) de las células nucleadas en la leche. El reactivo del TCM es un detergente con indicador de pH que, al mezclarse con la leche en partes iguales, disuelve las paredes celulares y nucleares de los leucocitos presentes, liberando el material nuclear. El ADN libre forma una masa gelatinosa que aumenta de consistencia proporcionalmente al número de leucocitos presentes en la leche (Mellenberger, 2001). Se considera un método fiable para determinar la mastitis subclínica de una forma rápida durante el ordeño (Ruegg, 2003). Esta prueba tiene una alta correlación con el recuento de células somáticas en la ubre, siendo un excelente indicador de los cuartos sospechosos de la ubre en las vacas con descargas celulares (Divers y Peek, 2008). Las mastitis de origen bacteriano se clasifican en contagiosas y ambientales teniendo en cuenta el agente causal presente. Los agentes contagiosos más comúnmente aislados en la mastitis son el *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus agalactiae*. El principal reservorio de estos patógenos es la ubre de un animal infectado, y las infecciones se extienden entre las vacas durante el ordeño a través del equipo contaminado, manos de los operarios o los paños de limpieza. Los microorganismos ambientales son considerados agentes oportunistas que causan generalmente mastitis transitorias, aunque pueden ocasionar casos clínicos severos. Los agentes ambientales de mayor relevancia son los estreptococos y los coliformes. La principal fuente de agentes ambientales se sitúan en las camas de los animales y áreas de pastoreo. Normalmente la mastitis ambiental se presenta en forma clínica y se caracteriza como una infección corta, que se acompaña de una caída repentina de la producción de leche, que incluso en casos severos puede conducir a la muerte del animal (Tomazi y Santos, 2012). El objetivo del presente estudio fue detectar la presencia de infección en la ubre de las vacas a través del TCM y en los cuartos positivos hacer la recogida de muestras de leche para la identificación de los agentes bacterianos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en 26 granjas lecheras de raza Frisona, situadas en el norte de Portugal. Se realizaron 1069 TCM, aplicando la metodología publicada por Ruegg (2003), que valora en una escala de 5 puntuaciones: 0, T, 1, 2 y 3, la reacción visible después de mezclar cantidades iguales de leche y reactivo. Se recogieron muestras de leche de todos los cuartos mamarios que obtuvieron clasificación positiva al TCM. En la recogida fueron adoptados los procedimientos adecuados para reducir al máximo la contaminación. Las muestras se acondicionaron en recipientes isotermos refrigerados con termoacumuladores y se transportaron al laboratorio de la Cooperativa Agrícola de Vila do Conde, donde permanecieron en el frigorífico hasta su análisis microbiológico. El tratamiento estadístico de los datos fue realizado utilizando los programas Microsoft Excel 2013 y SPSS para Windows, versión 22.0.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de los 1069 TCM realizados, el 92% de los cuartos de la ubre resultaron negativos y sólo el 8% de los cuartos se consideraron infectados. En las clasificaciones de TCM se verificaron ligeras diferencias entre los cuartos mamarios, aunque los valores más altos se observaron en los grados 2 y 3 para los cuartos posteriores (Tabla 1). En la clasificación de agentes bacterianos, se encontró que el microorganismo que aparecía con mayor frecuencia (14,2%) en las muestras totales recolectadas fue el *Staphylococcus coagulasa negativo*. Los

agentes bacterianos que resultaron más comunes fueron el *Streptococcus uberis* (15,2%), el *Corynebacterium spp* (11,9%) y el *Streptococcus spp* (10,0%). Se aprecia también una frecuencia de 18,6% de las muestras recolectadas con cultivo negativo (Tabla 2). Para Tomazi y Santos (2012), los agentes infecciosos más comúnmente aislados de la mastitis son el *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus agalactiae*, mientras que en nuestro estudio predominaron los *Staphylococcus coagulasa negativo* (17,4%), y el *Staphylococcus aureus* con una incidencia del 8,7% de los aislamientos. La mayoría de los agentes bacterianos se clasificaron en el grupo ambiental (79,1%), y el resto en el contagioso (20,9%) (Tabla 3). Los agentes bacterianos contagiosos y ambientales más frecuentes aislados fueron el *Corynebacterium spp* (11,9%) y el *Staphylococcus coagulasa negativo* (17,4%), respectivamente. Aires (2010), al realizar una caracterización de los principales agentes microbianos responsables de la aparición de la mastitis en 5 explotaciones de Entre Douro e Minho también identificaron como los agentes predominantes el *Staphylococcus coagulasa negativo* (32%) y el *Streptococcus spp*, con una frecuencia del 9,2%, muy similar al valor obtenido en este estudio, que fue del 10%. Para este autor cerca del 25% de las muestras dieron lugar a cultivos negativos, mientras que en nuestro caso fue del 18,6%. Bexiga et al. (2005) obtuvieron un porcentaje promedio de cuartos afectados del 15% en 12 granjas lecheras en el Alentejo, con valores superiores a nuestro estudio que fueron del 8%. Sin embargo los agentes patógenos *Staphylococcus coagulasa negativo* y el *Staphylococcus aureus* mostraron resultados bastante similares al presente estudio en relación de 18,1% vs 14,2% y 7,8% vs 7,1% respectivamente. Teniendo en cuenta la alta frecuencia de agentes ambientales encontrados en este estudio se recomendaría a los productores una mayor higiene en las camas de los animales, así como una correcta desinfección de la ordeñadora. Para la disminución de la mastitis ambiental es importante también que los productores realicen un ordeño limpio en un ambiente seco, así como controlar los lugares donde las vacas permanecen durante el secado, ya que este tipo de mastitis aparecen en esta etapa (Tomazi y Santos, 2012).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aires, T.A.C.P., 2010. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, UTL, Portugal, 87pp.
- Bexiga, R., Cavaco, L.M., Vilela, C.L., 2005. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 100: (553-554) 39-44.
- Divers, T.J., Peek, A.F., 2008. "Diseases of Body Systems" in Rebhun's Diseases of dairy cattle, 2ª Ed, Elsevier, 358: 378-386.
- Mellenberger, R., 2001. California Mastitis Test (CMT), an invaluable tool for managing mastitis; Dept of Animal Sciences, Michigan State University.
- Ruegg, P., 2003. Food Animal Practice, 19(1): 47-74.
- Tomazi, T., Santos, M.V., 2012. Site disponível em: <http://www.milkpoint.com.br> consultado em 29 de junho de 2016.

**Agradecimientos:** A los productores de leche que participaron en este estudio. Este estudio ha sido realizado gracias a los proyectos del CECAV UID/CVT/00772/2013 y UID/CVT/00772/2016, financiados por Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), para el trienio 2015-2017.

**Tabla 1. Frecuencia de resultados del TCM en las explotaciones en estudio (%)**

Puntuación del TCM	PD	PI	AD	AI	TOTAL
0	22,8	22,7	23,0	23,5	92,0
T	0,2	0,2	0,3	0,2	0,9
1	0,7	0,8	0,8	0,7	3,0
2	0,8	0,5	0,6	0,3	2,1
3	0,5	0,8	0,4	0,3	2,0

Posición de los pezones: PD - Posterior derecho; PI - Posterior izquierdo; AD - Anterior derecho y AI - anterior izquierdo

**Tabla 2. Identificación de los agentes bacterianos y respectivas frecuencias**

Agente bacteriano	Frecuencia de las muestras (%)	Frecuencia de los aislamientos (%)
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	14,2	17,4
<i>Streptococcus uberis</i>	12,3	15,2
<i>Corynebacterium spp</i>	9,7	11,9
<i>Streptococcus spp</i>	8,1	10,0
<i>Staphylococcus spp</i>	7,9	9,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,1	8,7
<i>Escherichia coli</i>	7,1	8,7
Levaduras	5,0	6,1
<i>Enterobacteriaceae</i>	4,7	5,8
Otras bacterias	5,2	6,5
Cultivo negativo	18,6	-

**Tabla 3. Agrupamiento de los agentes bacterianos por tipología de contagiosos y ambientales**

Microorganismos contagiosos	Frecuencia de aislamiento (%)	Microorganismos ambientales	Frecuencia de aislamiento (%)
<i>Corynebacterium spp.</i>	11,9	<i>Staphylococcus coag. neg.</i>	17,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,7	<i>Streptococcus uberis</i>	15,2
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	0,3	<i>Staphylococcus spp</i>	10,0
		<i>Streptococcus spp</i>	9,7
		<i>Escherichia coli</i>	8,7
		Levaduras	6,1
		<i>Enterobacteriaceae</i>	5,8
		<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0
		<i>Bacillus spp</i>	1,0
		<i>Proteus spp</i>	1,0
		<i>Prototheca spp</i>	1,0
		<i>Pasteurella spp</i>	0,6
		Fungos	0,6
		<i>Actinomyces pyogenes</i>	0,6
		<i>Klebsiella spp</i>	0,3
<b>Total</b>	20,9		79,1

### CALIFORNIA MASTITIS TEST AND MICROBIOLOGY OF THE MAMMARY GLAND IN FARMS OF DAIRY COWS

**ABSTRACT:** The California Mastitis Test (CMT) is a rapid, accurate, cow-side test to help determine somatic cell counts (SCC) in a specific cow to sample individual quarters. The test was developed to determine the presence of subclinical mastitis. Despite the high reliability and efficiency for the implementation of programs to improve the quality of raw milk, it was only carried out by 15.4% of the producers of the present study. From the total TCM performed, it was observed that 92% were negative, which demonstrated high level of udder health of the herds under study. In the bacterial identification of the samples, it was verified that the majority were in the group of environmental agents (79.1%), being more frequent the *Staphylococcus coagulase negative* (17.4% of isolates) and the *Streptococcus uberis* (15.2% of isolates).

**Keywords:** Dairy cows, California Mastitis Test, contagious microorganisms, environmental microorganisms.

## PCR dúplex a tiempo real para la detección de la variante clásica (RHDV) y nueva (RHDV2) de la enfermedad hemorrágica del conejo.

Sarto<sup>1</sup>, P., Mendoza<sup>1</sup>, M., Calvo<sup>2</sup>, A.J., Monroy<sup>2</sup>, F., Jiménez de Bagüés<sup>1</sup>, M.P., Calvete<sup>1</sup>, C. y Calvo<sup>1,3</sup>, J.H.

<sup>1</sup>Unidad de Tecnología en Producción y sanidad animal, CITA-IA2, Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. <sup>2</sup>TRAGSATEC, Gerencia Sanidad Animal, Seguridad Alimentaria y Salud Pública, Julián Camarillo 6 B, 28037 Madrid. <sup>3</sup>ARAID, 50004 Zaragoza. [jhcalvo@aragon.es](mailto:jhcalvo@aragon.es)

### INTRODUCCIÓN

La enfermedad hemorrágica (RHD) es uno de los principales factores de mortalidad del conejo silvestre en la península ibérica. Desde su aparición a finales de los años 80 el agente etiológico predominante han sido cepas víricas pertenecientes a un único genogrupo (RHDV). Sin embargo, en 2011 se detectó, inicialmente en el tercio norte de España, una nueva variante vírica (RHDV2) que cursó de forma atípica, modificando la epidemiología de la enfermedad y afectando a animales con menos de 30 días de edad.

Entre los años 2009 y 2016 se ha estudiado la epidemiología de la RHD en cuatro poblaciones experimentales de conejo silvestre mediante captura-recaptura, encontrándose en 2011 el primer aislado de RHDV2 en estas poblaciones (Calvete et al., 2014).

Debido a la necesidad de llevar a cabo un diagnóstico rápido y sensible de las dos variantes y estudiar la epidemiología de la enfermedad antes y después de la aparición del RHDV2, se presenta en este trabajo la puesta a punto de un protocolo que permite identificar los dos genotipos de la enfermedad (RHDV y RHDV2) mediante PCR dúplex a tiempo real (qPCR-dúplex).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras biológicas fueron obtenidas dentro de un proyecto de colaboración entre TRAGSATEC y el CITA orientado a profundizar en el conocimiento de la epidemiología de la RHD. Entre los años 2009 y 2016 se ha estudiado la epidemiología de la RHD en cuatro poblaciones experimentales de conejo silvestre, en cercados de 1 ha, mediante captura-recaptura. Esta población fue monitorizada con una frecuencia bisemanal, con el objetivo, entre otros, de hallar cadáveres de conejos muertos que fueron llevados al laboratorio para proceder a su necropsia e identificación del virus RHD en tejido hepático. Los diagnósticos de RHD fueron llevados a cabo en base a las lesiones observadas en los cadáveres y a la qPCR-duplex. Además se llevó a cabo un test ELISA directo (Ingezim Rabbit DAS. INGENASA Lab., España) en el hígado. Este test se utilizó para detectar posibles nuevas cepas víricas con nuevas mutaciones en las zonas de unión de sondas y cebadores, y que por lo tanto fallase la qPCR-duplex.

Para la identificación del virus, la extracción del ARN se realizó usando *TRI@REAGENT* (*Sigma Life Science, España*). El ADNc fue obtenido utilizando el kit *SuperScript®III Reverse Transcriptase* (*Invitrogen, España*) y el cebador específico del gen que codifica la proteína de la cápside VP60: 5'-CCAATTGTTACTGGCAGTGGT-3' (Moss et al., 2002). Los cebadores y sondas para la qPCR-dúplex se diseñaron en base a regiones conservadas del gen VP60 tras el alineamiento de secuencias de 524 bp (correspondiendo a los nucleótidos 871-1394 de las secuencias del Genbank acc. nº KY498582 and KY498543 para la RHDV y RHDV2, respectivamente) de aislados de ambas variantes de España, Francia, Italia y Portugal. Con los cebadores utilizados (5'-CAGATTGTTGCCAAGTCCAT-3' y 5'-CGCAACATGATGGGTGTGTT-3') se amplificó un fragmento de 200 pb, utilizando sondas específicas "molecular beacon" para cada variante (FAM-5'-CGCGATCCCAGACAGAATTGTGACCACGATCGCG-3'-BHQ1 y CGCGATCGGGTTGTTTGTGATGGCAGATCGCG-3'-BHQ1 para las variantes RHDV y RHDV2, respectivamente), diseñadas por Mycrosynth (Mycrosynth, Suiza). La qPCR-dúplex se llevó a cabo en una plataforma ABI Prism 7500 (Applied Biosystems, España). La amplificación se realizó en un volumen final de 10 µl conteniendo 5µl de Premix Ex Taq (2x) master mix (Takara, Japón), 0,1 µl de Rox ref dye II, 0,2 y 0,4 µM de cada cebador y sonda, respectivamente, 3,1µl de agua ultrapura, y 1 µl de ADNc (500ng). Las condiciones de amplificación incluyeron un ciclo a 95°C durante 30s para desnaturalizar el ADN y 50 ciclos de amplificación (95°C durante 5s y 59°C durante 34s). La especificidad de la qPCR-dúplex fue evaluada mediante el genotipado de los aislados procedentes de conejos muertos

encontrados en los cercados con lesiones características de la enfermedad (n=221) y muestras de conejos domésticos sanos (n=25) que fueron usados como control negativo. Además, 99 muestras fueron secuenciadas para genotipar los aislados (RHDV o RHDV2): 61 muestras fueron secuenciadas para la secuencia completa del gen VP60 (1740 pb) y 38 para un fragmento de 524 bp. La identidad de la variante aislada se confirmó mediante estudios de homología con las secuencias del GenBank a través de la aplicación BLAST del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

Se utilizaron curvas estándar con diluciones seriadas 1:10 (con rangos entre 1 y 10<sup>-6</sup>) para determinar la eficiencia de la amplificación de cada variante. Para ello se realizaron dos mezclas independientes de ADNc procedentes de 5 animales muertos en fase aguda de la enfermedad para RHDV o RHDV2. La muestra sin diluir (500ng de ADNc de RHDV o RHDV2) y sus diluciones seriadas fueron amplificadas por triplicado en el mismo experimento. Las condiciones utilizadas fueron las descritas para la qPCR-dúplex. La eficiencia de la qPCR-dúplex para cada genotipo se calculó con la ecuación  $E=10^{-1/\text{pendiente}}$ . Los valores Cq medios, desviaciones estándar (DE) y % del coeficiente de variación (%CV) fueron obtenidos mediante la realización de tres experimentos diferentes realizados en tres días diferentes, y calculados independientemente para cada dilución de ADNc. Finalmente, se utilizó el ELISA directo para comparar sus resultados con la qPCR-dúplex.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha puesto a punto una qPCR-dúplex rápida, sensible y específica que es capaz de detectar las dos variantes de la enfermedad RHD de manera simultánea. La qPCR-dúplex fue estandarizada mediante curvas estándar. La robustez del método se evidenció por la consistencia de los datos obtenidos de los tres análisis de regresión independientes que se llevaron a cabo. Las eficiencias variaron entre 2,01-2,04 y 1,96-1,98 para las variantes RHDV y RHDV2, respectivamente, con una correlación de 0,99 para ambas, lo que demostró la buena linealidad de la curva estándar. Los valores medios de Cq variaron entre 16,84-16,98 (con un % del CV entre 0,36 y 0,91) para muestras sin diluir de ADNc y 38,23-39,91 (con un % del CV entre 0,57 y 1,11) en la dilución 10<sup>-6</sup> para la variante RHDV. Similares resultados fueron encontrados para la variante RHDV2 con unos valores medios de Cq que oscilaron entre 18,03-18,30 (con un % del CV entre 0,70 y 0,77) para ADNc sin diluir y 38,14-39,21 (con un % del CV entre 0,98 y 0,66) en la dilución 10<sup>-6</sup>. Los valores Cq medios, desviaciones estándar (DE) y % del coeficiente de variación (%CV) mostraron muy poca variación para ambos genotipos indicando una alta repetibilidad del método (Tabla 1). El rango de amplificación encontrado para la variante RHDV fue mayor que el descrito por Benevides et al. (2015) quienes encontraron unos valores medios de Cq que variaron entre 14,34 en muestras sin diluir (animales muertos en fase aguda de la enfermedad) y 31,67 en una dilución 10<sup>-5</sup>. Por el contrario, Dias-Duarte et al. (2015) encontraron un menor límite de detección, en una dilución 10<sup>-11</sup>, con valores de Cq que oscilaron entre 10,24 en una dilución 10<sup>-2</sup> y 37,56 en una dilución 10<sup>-11</sup> para la variante RHDV2. Sin embargo, estos autores estandarizaron su método mediante diluciones seriadas de transcritos de ARN obtenidos *in vitro* de plásmidos recombinantes que contenían el fragmento de interés del genotipo RHDV2. Comparativamente, nuestros valores de Cq en muestras obtenidas de animales muertos en fase aguda de la infección (16,91 y 18,23 para la RHDV y RHDV2, respectivamente) son un poco menores a los descritos por Benevides et al. (2015) (14,34 para RHDV) y Dias-Duarte et al. (2015) (15,7 para RHDV2).

Las 221 muestras analizadas en este estudio y procedentes de conejos muertos encontrados en los cercados con lesiones características de la enfermedad fueron positivas a RHDV o RHDV2 mediante qPCR-dúplex, mientras que las muestras procedentes de conejos sanos resultaron negativas. Las secuencias de unión de los cebadores y sondas en el gen VP60 estuvieron conservadas en todas las muestras analizadas, presentando un 100% de sensibilidad y especificidad, ya que todas las muestras fueron correctamente genotipadas como RHDV (n=18) o RHDV2 (n=81) por la qPCR-dúplex de acuerdo con los datos obtenidos de secuenciación. La sensibilidad y especificidad del ELISA directo comparado con la qPCR-dúplex fue menor (Tabla 2). Por este motivo, podría ser recomendable el uso de esta qPCR-dúplex en lugar del ELISA directo en las campañas de vigilancia de la enfermedad, especialmente en las granjas de conejo doméstico donde

podrían estar circulando ambas variantes. Sin embargo, es remarcable que estos virus tienden a acumular mutaciones en su proceso de evolución, y por lo tanto sería recomendable la secuenciación de nuevos aislados que puedan ir apareciendo para detectar posibles nuevas mutaciones que pudieran afectar a los sitios de unión de cebadores y sondas que podrían producir la aparición de falsos negativos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Benevides et al. 2015. Rev. Port. Ciências Veterinárias 110: 79-85. • Calvete et al. 2014. World Rabbit Sci. 22: 91. • Dias-Duarte et al. 2015. J. Virol. Methods 219: 90-95. • Moss et al. 2002. J. Gen. Virol. 83: 2461-2467.

**Agradecimientos:** Estos resultados derivan del desarrollo de los proyectos de I+D “INMUNE 8011” e “INMUNIZADOS 1316” realizados en el marco de un convenio de colaboración entre el CITA y TRAGSATEC, así como del proyecto E-RTA2014-00009-00-00 del INIA.

**Tabla 1.** Variabilidad de la qPCR-dúplex en tres experimentos independientes. Se muestra el rango (valores mínimos y máximos) para cada parámetro. DE: Desviación estándar; % CV: Porcentaje del coeficiente de variación

Dilución	Genotipo					
	RHDV			RHDV2		
	Cq	DE	%CV	Cq	DE	%CV
1	16,84-16,98	0,06-0,15	0,36-0,91	18,03-18,31	0,13-0,14	0,71-0,77
10 <sup>-1</sup>	18,42-18,84	0,32-0,35	1,73-1,89	20,45-20,83	0,07-0,20	0,46-1,00
10 <sup>-2</sup>	21,27-21,28	0,16-0,39	0,76-1,82	23,46-23,89	0,19-0,34	0,81-1,43
10 <sup>-3</sup>	24,68-24,97	0,25-0,36	1,03-1,44	26,88-27,57	0,04-0,20	0,14-0,74
10 <sup>-4</sup>	28,19-29,32	0,11-0,35	0,40-1,18	30,58-31,22	0,22-0,38	0,72-1,21
10 <sup>-5</sup>	32,08-32,30	0,09-0,37	0,28-1,17	34,01-34,99	0,08-0,18	0,23-0,54
10 <sup>-6</sup>	38,23-38,91	0,21-0,40	0,57-1,11	38,14-39,21	0,26-0,38	0,66-0,99

**Tabla 2.** Sensibilidad y especificidad del ELISA directo comparado con la qPCR-dúplex

ELISA	qPCR-dúplex	
	RHDV	RHDV2
Positivo	23 (45,01%)	133 (78,2%)
Negativo	28 (54,99%)	37 (21,8%)

### DUPLEX REAL TIME PCR DETECTION OF RABBIT HAEMORRHAGIC DISEASE VIRUS GENOTYPES RHDV AND RHDV2.

**ABSTRACT:** We have developed a rapid, sensitive and specific duplex-qPCR for detection of RHDV and RHDV2 genotypes of the rabbit haemorrhagic disease (RHD) in the same assay. The primers and probes target sequences are conserved in all samples analysed showing 100% sensitivity and specificity, being all RHDV or RHDV2 isolates correctly genotyped by duplex-qPCR according to their sequence data. Standardisation was performed using standard curves. Efficiencies ranged from 2.01-2.04 and 1.96-1.98 for the RHDV and RHDV2 genotypes, respectively, and correlation of 0.99 for both genotypes reflecting a good linearity of the standard curve. High repeatability and reproducibility of the assay was found with very low variation, with CV lower than 1.89 and 1.21% for RHDV and RHDV2, respectively. The sensitivity of detection was higher for the duplex-qPCR assay than a direct ELISA assay.

**Keywords:** Rabbit haemorrhagic disease, Lagovirus, RHDV2, qPCR.

## EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE SRLV EN EL MEDITERRÁNEO

Lorena de Pablo-Maiso<sup>1</sup>, Carmen Gómez-Arrebola<sup>1</sup>, Luigi Bertolotti<sup>2</sup>, Sergio Rosati<sup>2</sup>, Ricard Farriols<sup>3</sup>, Damián de Andrés Cara<sup>1</sup>, Ramsés Reina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Agrobiotecnología. CSIC - UPNA - Gobierno de Navarra. Avda. Pamplona 123, Mutilva (Navarra). <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Veterinarie – Università degli Studi di Torino.

<sup>3</sup>Veterinario, DVM. lorena.depablo@unavarra.es

### INTRODUCCIÓN

Los virus visna maedi (VMV) y de la artritis encefalitis caprina (CAEV) forman un único grupo denominado Lentivirus de Pequeños Rumiantes (Small Ruminant Lentiviruses, SRLV) que afecta a ovinos y caprinos (Zanoni, 1998). En Europa, los SRLV son endémicos y su efecto económico es innegable debido a la reducción de la productividad animal, disminución de la fertilidad, del número de corderos, del peso al nacer y en el engorde y de la calidad de la carne (Keen et al., 1997). En España la enfermedad se encuentra ampliamente distribuida y su prevalencia es media alta. La presencia del virus se ha detectado allá donde se ha explorado, estudios que comprenden la zona sur de Navarra y La Rioja (Lujan et al., 1993), Aragón, Euskadi y León indican una amplia distribución de la infección (Minguijon et al., 2015).

Tras las primeras caracterizaciones genéticas, los SRLV actualmente se dividen en 5 grupos genéticos (genotipos del A al E) que difieren hasta aproximadamente en un 40% de su secuencia nucleotídica, basándose en los segmentos largos *gag-pol* de su genoma (Ramirez et al., 2013). Además, dentro de cada genotipo viral se pueden diferenciar subgrupos que difieren en un 15% de su secuencia. Concretamente, los grupos predominantes del genotipo A, estirpes clásicas tipo VMV, se subdividen en 15 (A1-A15) y el grupo B, estirpes de CAEV, en 3 (B1-B3), mientras que el genotipo C aún no presenta subtipos y el E comprende dos subtipos (E1- E2).

Dentro de los genotipos predominantes, el subtipo 3 del genotipo B, el menos heterogéneo, es uno de los últimos que se han descrito y está formado por las estirpes italianas Fonní y Volterra (Bertolotti et al., 2011). Los estudios realizados hasta ahora han mostrado fuertes vínculos epidemiológicos en la cuenca mediterránea. Ejemplos de estos vínculos se proporcionan a partir de los genotipos B y E.

El presente estudio muestra por primera vez la presencia de infección por SRLV en las Islas Baleares debida a estirpes procedentes o bien de brotes descritos en la Península Ibérica (Glaría et al., 2009; Glaría et al., 2012; Pinczowski et al., 2017) o bien circulantes en la isla de Cerdeña (Bertolotti et al., 2011).

El aislamiento geográfico relativo de los sistemas de producción ganadera en zonas como la isla de Mallorca, requiere de una especial vigilancia epidemiológica para evitar la aparición de la enfermedad, en poblaciones animales que se enfrentan a variantes virales exóticas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han analizado un total de 277 animales pertenecientes a distintas explotaciones de la zona este de la isla de Mallorca, se han obtenido muestras de sangre total que tras centrifugación se separaron en plasma y *buffy coat* que se recogió en PBS y se sometió a centrifugación en gradiente de Lymphoprep (d=1,077; Nycomed), para la obtención de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs).

Mediante diagnóstico serológico, las muestras de plasma se analizaron con un test comercial (Eradikit Screening, In3Diagnostic) basado en la detección de los anticuerpos reactivos frente a proteínas del core viral, junto con la proteína transmembrana codificadas por distintos genotipos de SRLV. Tras el primer análisis, se analizaron los sueros con otro test (Eradikit Genotyping) capaz de detectar el virus infectante entre los genotipos A, B y E.

Tras la extracción de ADN de los PBMCs, se realizaron reacciones de amplificación con cebadores descritos en la literatura, de la mayoría de los animales incluidos en el estudio serológico. Los amplicones de la talla esperada se purificaron y se clonaron en plásmidos (pJET, Thermo) para su posterior secuenciación (StabVida). Se secuenciaron tres clones empleando el cebador pJETfw (Thermo).



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el 82% de los rebaños se encontraron animales seropositivos por lo que al igual que en otras zonas geográficas de nuestro país, la seroprevalencia frente a los SRLV es muy elevada. Intra-rebaño la seroprevalencia varía entre el 9 y el 40%, dentro de los valores descritos en la literatura.

Tras la primera clasificación serológica, empleamos un kit capaz de determinar el genotipo infectante en el animal (ELISA Genotyping) hallando un 5,6% de sueros reactivos frente al genotipo E, un 9% frente al A, un 66% frente al genotipo B y un 18% con resultados positivos no atribuibles a ningún genotipo en concreto o negativos. Los resultados no atribuibles a ningún genotipo podrían corresponder a dobles infecciones. Sin embargo, los negativos reflejan la menor sensibilidad del kit Genotyping en comparación con el Screening que incluye más epitopos. La presencia de genotipo E hasta el momento tan solo se ha descrito en caprinos de Italia, concretamente en la Región Piemonte y en Cerdeña (Reina et al., 2010; Reina et al., 2009). La reacción serológica frente a antígenos del genotipo E en Mallorca podría también indicar la presencia de genotipos divergentes propios de la isla, que guarden cierta similitud con el ancestral genotipo E.

El análisis por PCR indicó la presencia de infección en el 64% de los rebaños incluidos en el análisis. Al igual que con el ELISA, la presencia de animales positivos por PCR intra-rebaño fue inferior. Individualmente la PCR resultó ser menos sensible que el ELISA. La baja carga viral presente en los animales infectados y/o la heterogeneidad de las estirpes circulantes en la zona de unión de los cebadores, pueden explicar esta menor sensibilidad de la PCR. Sin embargo, se detectaron animales positivos entre los seronegativos, por lo que se confirma el valor añadido de la PCR en el diagnóstico de los SRLV.

La secuenciación de las estirpes amplificadas por PCR indicó que al menos los genotipos A y B circulan actualmente en la población ovina de la isla de Mallorca, siendo el genotipo B el predominante en un 80% de las muestras. Dentro del genotipo B el 83% de las secuencias correspondieron al subtipo B3, cuya presencia se había limitado hasta el momento a la isla de Cerdeña (Bertolotti et al., 2011). La comparación con las secuencias B3 descritas en Italia muestra una gran similitud en los epitopos inmunodominantes responsables de la reacción en el ELISA screening. Sin embargo, existen diferencias en otras regiones del genoma indicando una evolución particular en Mallorca que las sitúa en un *cluster* diferenciado. El estudio filogenético ha datado el ancestro común más probable hace 15-20 años. Un estudio en profundidad de los intercambios comerciales entre ambas islas podría esclarecer definitivamente el origen del genotipo B3 en Mallorca.

Aunque presentes en un bajo porcentaje, el estudio de las secuencias halladas pertenecientes a los genotipos A y B2 indicaron la presencia de las estirpes 697 (genotipo A) y Ov496 (genotipo B2) muy probablemente procedentes de los brotes descritos en la península.

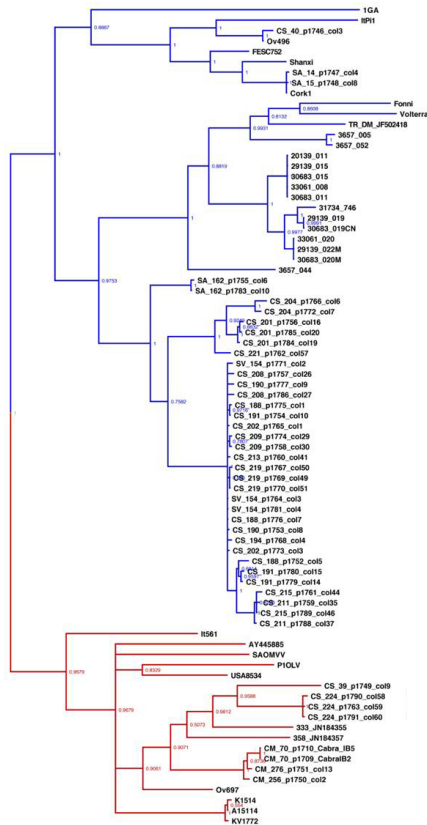
Sin duda uno de los factores que moldea la evolución de los virus es el hospedador, frente a todo el abanico filogenético de los SRLV las estirpes del genotipo B3 prevalecen en dos poblaciones ovinas pertenecientes a un tronco genético común.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bertolotti, L., Mazzei, M., Puggioni, G., et al. 2011. J. Gen Virol. 92, 1923-1929. • Glaria, I., Reina, R., Crespo, H., et al., 2009. Veterinary microbiology 138, 156-162. • Glaria, I., Reina, R., Ramirez, H., et al., 2012. Veterinary microbiology 155, 137-146. • Keen, J., Hungerford, L., Littlelike, E., et al., 1997. Prev Vet Med. 30, 155-169. • Lujan, L., Begara, I., Collie, D.D., et al., 1993. Clin Exp Immunol. 91, 272-276. • Minguíjon, E., Reina, R., Perez, M., et al. 2015. Veterinary microbiology 181, 75-89. • Pinczowski, P., Sanjose, L., Gimeno, M., Crespo, H., et al. 2017. Veterinary pathology. • Ramirez, H., Reina, R., Amorena, B., et al. 2013. Viruses 5, 1175-1207. • Reina, R., Bertolotti, L., Dei Giudici, S., et al. 2010. Veterinary microbiology 144, 24-31. • Reina, R., Grego, E., Bertolotti, L. et al. 2009. Journal of virology 83, 1152-1155. • Zanon, R.G., 1998. The Journal of general virology 79 ( Pt 8), 1951-1961.

**Agradecimientos:** Financiado por el Gobierno de Navarra (LENTIMOL; PI042). Lorena de Pablo es becaria FPI de la UPNA. Carmen Gómez procede del Fondo de Garantía Juvenil

del CSIC. Ramsés Reina es contratado Ramón y Cajal del MINECO. Agradecemos la colaboración de los ganaderos de la isla de Mallorca por su colaboración a lo largo de todo el estudio.



**Figura 1.** Árbol filogenético en el que se agrupan las nuevas secuencias obtenidas con las descritas en la literatura. En la parte superior se muestran las secuencias del genotipo B (código CS, SA y SV) y en la inferior las del genotipo A (códigos CS y CM).

**TITLE: MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF SRLV IN THE MEDITERRANEAN**

**ABSTRACT:** The small ruminant lentiviruses (SRLV) include visna maedi (VMV) and caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) and are widely distributed across the world. SRLV are now divided into 5 genotypes (A-E) being genotypes A and B worldwide distributed, whereas genotypes C and E are geographically restricted so far. Serological screening and serotyping of the circulating SRLV strains demonstrated the presence of the infection for the first time in Mallorca Island. PCR and sequencing further confirmed these results and highlighted the prevalent presence of the B3 subgroup only described in Italy until now. The timing of the most recent common ancestor, between B3 sequences from Sardinia and Mallorca islands was 15-20 years ago, indicating a possible transmission likely through animal trade. Similarly, strains previously isolated from arthritis and encephalitis high-impact outbreaks in the Iberian Peninsula were detected in Mallorca.

Serological surveillance of incoming animals is essential in controlling SRLV infection in order to avoid the spreading of infection and the disease onset, especially important in an epidemiologically uncharacterized isolated area.

**Keywords:** Small Ruminant Lentiviruses; Molecular epidemiology; Animal trade; Phylogeny.

## EVALUACIÓN DE LAS NEUROTROFINAS EN LOS MODELOS NATURAL Y EXPERIMENTAL DE SCRAPIE

Barrio, T.<sup>1</sup>, Otero, A.<sup>1</sup>, Garcés, M.<sup>1</sup>, García, M.<sup>1</sup>, Garza, M.C.<sup>1</sup>, Guijarro, I.M.<sup>1</sup>, López-Pérez, O.<sup>1</sup>, Manzano, M.D.<sup>1</sup>, Raksa, H.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Encefalopatías y Enfermedades Transmisibles Emergentes. Universidad de Zaragoza. C/Miguel Servet, 177. 50013 (Zaragoza). e-mail: [aliotg@unizar.es](mailto:aliotg@unizar.es)

### INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET) son un grupo de enfermedades neurodegenerativas causadas por la acumulación de la isoforma patológica (PrP<sup>Sc</sup>) de la proteína príon celular (Prusiner, 1982). La PrP<sup>Sc</sup> se acumula fundamentalmente en el tejido nervioso, induciendo la muerte neuronal y la aparición de vacuolas. Esta neurodegeneración progresiva se manifiesta como un conjunto de síntomas nerviosos que se instauran tras largos periodos de incubación. El scrapie ovino, como prototipo de las EET, ha sido ampliamente estudiado tanto en su hospedador natural como en modelos murinos transgénicos que expresan la PrP<sup>C</sup> ovina.

Por otro lado, las neurotrofinas son un grupo de factores de crecimiento con funciones críticas en el sistema nervioso. Constituyen un grupo de proteínas, que incluye el factor de crecimiento neuronal (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), y la neurotrofina 3 (NT-3), entre otros. Ejercen sus funciones a través de los receptores de membrana tirosina-quinasa TrkA, TrkB y TrkC, y el receptor p75<sup>NTR</sup>.

En diversos estudios, tanto *in vitro* como *in vivo*, se ha evidenciado una relación entre la patogenia de las EET y las neurotrofinas (Bai et al., 2008). Por ejemplo, en ratones transgénicos bovinos inoculados con encefalopatía espongiiforme bovina se observó una correlación entre las zonas del encéfalo con mayor cambio espongiiforme, astrocitosis y depósito de PrP<sup>Sc</sup> y las áreas con mayor expresión de p75<sup>NTR</sup> (Marco-Salazar et al., 2014).

El objetivo del presente estudio es mapear las neurotrofinas mediante técnicas inmunohistoquímicas en ratones transgénicos inoculados y en ovino naturalmente infectado con scrapie. Esto permitirá comparar ambos modelos y confirmar la correlación entre la expresión de las neurotrofinas y las lesiones asociadas a enfermedad priónica.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio, se emplearon muestras de hipocampo y médula oblongada de ovejas naturalmente infectadas con scrapie procedentes de diversos focos de la enfermedad en Aragón, y de cerebro completo de ratones experimentalmente inoculados con homogenizados de cerebro de ovejas afectadas. En ambos casos, se introdujeron muestras de animales no infectados como control de experimento. El uso de ratones en este experimento fue aprobado por el Comité Ético para Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza (número de permiso: PI19/14).

Primero se realizó un estudio preliminar con muestras de 3 ovinos y 2 ratones para evaluar la distribución de los 7 marcadores. Posteriormente se amplió el estudio con muestras de 3 ovejas y 2 ratones adicionales; la valoración de estas muestras se encuentra en proceso.

Se aplicaron técnicas inmunohistoquímicas para mapear las neurotrofinas en los tejidos seleccionados. Para ello, se utilizaron anticuerpos monoclonales para detectar las distintas neurotrofinas, y las uniones se revelaron empleando el sistema EnVision+ (Dako).

Adicionalmente, se emplearon técnicas de microscopía confocal para valorar la colocalización de los depósitos de PrP<sup>Sc</sup> y p75<sup>NTR</sup>. Los anticuerpos primarios empleados fueron L42 (R-Biopharm), que detecta la proteína príon ovina, y un anticuerpo monoclonal anti-p75<sup>NTR</sup> (Abcam). El proceso se reveló empleando anticuerpos secundarios fluorescentes Alexa 594 y Alexa 488 (Invitrogen).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras la realización de la técnica inmunohistoquímica para la detección de NGF en las muestras procedentes de ratones (modelo experimental) y ovejas (modelo natural) se observaron patrones muy similares. En los animales control no infectados se observó un marcaje del citoplasma y núcleo de las neuronas, así como del neuropilo, localizado en diversas áreas del encéfalo. En el caso de los animales infectados, si bien el marcaje de esta neurotrofina en el neuropilo fue más débil en determinadas zonas, se observó un patrón similar.

El patrón de inmunotinción de BDNF fue muy similar a lo observado con el marcador NGF, no existiendo diferencias claras entre los animales sanos e infectados.

En ratones, en las muestras positivas a priones se detectó una mayor intensidad de marcaje intraneuronal para NT-3 que en los controles, aunque en general no se observaron grandes diferencias entre los dos tipos de animales. En el modelo ovino se observó una mayor intensidad de marcaje para NT-3 que en el modelo experimental, viéndose, al igual que con NGF, una mayor intensidad de tinción del neuropilo en las ovejas sanas.

Con respecto a la inmunodetección de los receptores se observó que el inmunomarcaje para el receptor TrkA fue poco específico en las muestras de ratones, detectándose depósitos suaves en el neuropilo y un marcaje débil y de detección variable en el interior de las neuronas. En el caso de las ovejas se obtuvieron resultados similares a lo observado en ratones.

En el caso del receptor TrkB, se observó una inmunotinción de la membrana neuronal en el modelo murino. Este marcaje de la membrana de las neuronas no se observó en las muestras ovinas; sin embargo, sí se detectaron depósitos de aspecto granular en el citoplasma neuronal (Figura 1A y B).

Por otra parte, cuando se realizó la técnica inmunohistoquímica para la detección del receptor TrkC se apreció una tinción intensa de las células de Purkinje en las muestras de cerebelo del modelo murino infectado. Curiosamente, esta reactividad frente al receptor TrkC en las células de Purkinje se observó sólo en las ovejas sanas (Figura 1C y D).

Finalmente, para el marcador p75<sup>NTR</sup> se observó un patrón de inmunotinción característico en el caso de los ratones control: un marcaje muy evidente de los astrocitos que contrasta con un marcaje leve de las neuronas. En el caso de los ratones infectados el patrón fue similar, si bien el marcaje de las neuronas fue mayor. En el caso de las ovejas, tanto infectadas como controles, se observó marcaje neuronal; sin embargo, no se detectó el claro marcaje astrocítico que se observó en el modelo experimental.

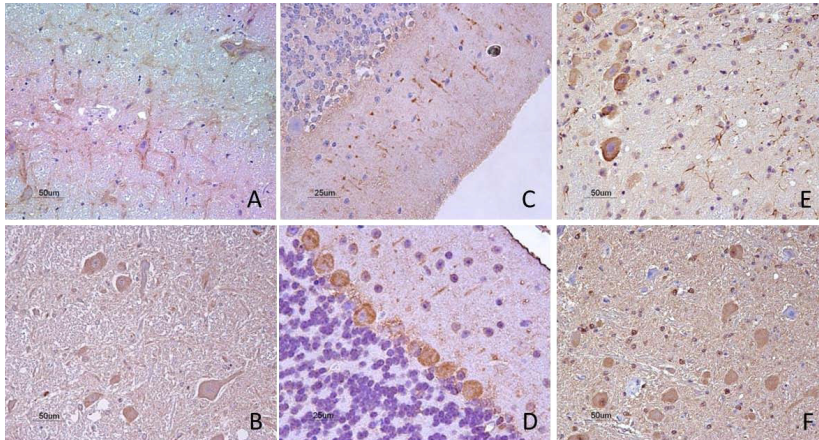
Por otro lado, en el estudio de microscopía confocal se observó un patrón similar al descrito en la inmunohistoquímica para el marcador p75<sup>NTR</sup>. En ciertas áreas pudo verse cierta colocalización entre la proteína príon patológica y este marcador.

En general, la expresión de las neurotrofinas y sus receptores es fundamentalmente neuronal, salvo para el receptor p75<sup>NTR</sup> que también se expresa en células gliales. Con respecto a las diferencias observadas entre animales infectados y controles, que podrían llevar a la identificación de alguna de estas moléculas como biomarcadores de la enfermedad, nuestros resultados coinciden parcialmente con lo observado en estudios anteriores (Marco-Salazar et al., 2014) pero se requiere continuar este estudio con mayor número de muestras para extraer conclusiones significativas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bai Y, et al., 2008. p75(NTR) activation of NF-kappa B is involved in PrP106-126-induced apoptosis in mouse neuroblastoma cells. *Neurosci Res.* SEP; 62(1):9-14.
- Marco-Salazar P, et al., 2014. Mapping of Neurotrophins and their Receptors in the Adult Mouse Brain and their Role in the Pathogenesis of a Transgenic Murine Model of Bovine Spongiform Encephalopathy. *J Comp Pathol*; 150(4):449-462.
- Prusiner S. 1982. Novel Proteinaceous Infectious Particles Cause Scrapie. *Science*;216(4542):136-144.

**Agradecimientos:** Los autores quieren agradecer a Sonia Gómez, Esther Blasco y María de la Sierra Espinar por su apoyo técnico.



**Figura 1.** Patrones de depósito de neurotrofinas en distintas muestras. (A y B) Patrones de depósito de TrkB perineuronal en ratón (A) e neuronal intracitoplasmático en oveja (B). (C y D) Patrones de depósito de TrkC con ausencia de marcaje en neuronas de Purkinje en ratón control (C) y con presencia de dicho marcaje en ratón infectado (D). (E y F) Patrones de depósito de p75NTR con marcaje astrocítico en ratón (E) y ausencia de este marcaje en oveja (F).

#### ASSESSMENT OF NEUROTROPHINS IN NATURAL AND EXPERIMENTAL MODELS OF SCRAPIE

**ABSTRACT:** Neurotrophins are growth factors with a critical role the nervous tissue of mammals. The group includes the nerve growth factor (NGF), the brain-derived neurotrophic factor (BDNF), the neurotrophin 3 (NT-3), the tyrosine-kinase transmembrane receptors TrkA, TrkB and TrkC, and the p75 neurotrophin receptor (p75<sup>NTR</sup>). Neurotrophins are important in the development of the nervous system and its maintenance during adult life. In several studies, a relation between neurotrophins and prion diseases has been demonstrated.

In this study, immunohistochemical approaches were used to analyze the distribution of neurotrophins in the brain of scrapie-infected sheep and transgenic mice and to assess the relation between neurotrophins and prion protein deposits.

In our experiment, neurotrophins predominantly displayed an intracytoplasmic neuronal staining, while transmembrane receptors were mapped at the membranes and the neuropil. p75<sup>NTR</sup> also showed a conspicuous, branched glial pattern that probably corresponded to astrocytes.

In the ovine model, the labelling pattern mirrored that of the murine model for markers NGF, BDNF, NT-3 and TrkA, while for TrkB different patterns were disclosed. TrkC showed opposite stainings of Purkinje cells, and the astrocytic labeling of p75<sup>NTR</sup> was mouse-specific. Confocal microscopy yielded no significant results. Further studies are being carried on to verify our results and to assess the validity of these neurotrophins as biomarkers of scrapie.

**Keywords:** sheep scrapie, pathogenesis, neurotrophins.

## LA CASCARILLA DE ARROZ COMO ESTRATEGIA ALIMENTARIA EN EL CERDO IBÉRICO DURANTE LA PREMONTANERA: ESTUDIO COMPORTAMENTAL Y VALORACIÓN DEL BIENESTAR ANIMAL

García-Gudiño, J<sup>1</sup>; Blanco-Penedo, I<sup>1</sup>; Perea-Muñoz, J<sup>2</sup>; Hernández-García, F.I<sup>3</sup>; Matías, J<sup>3</sup>; Izquierdo, M<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>IRTA, Finca Camps i Armet, 17121 Monells (Gerona). Email: [jgarcia@irta.cat](mailto:jgarcia@irta.cat)

<sup>2</sup>UCO, Campus Rabanales, 14071 Córdoba.

<sup>3</sup>CICYTEX, Finca La Orden-Valdesequera, 06187 Guadajira (Badajoz).

### INTRODUCCIÓN

El cerdo Ibérico y la dehesa son los responsables de los productos curados designados “de bellota”. Estos alimentos se encuentran regulados por el R.D. 4/2014, según el cual los animales deben entrar en montanera con una edad y un peso determinados (12 meses de edad y un peso medio entre los 92 y 115 kg). Debido a la mejora genética de los animales y al desarrollo de la nutrición animal, cumplir estos requisitos previos a la montanera es complicado en la práctica, produciéndose una restricción alimentaria durante la “premontanera”. Por ello, se están buscando alternativas mediante la utilización de subproductos ricos en fibra como suplemento alimenticio, no sólo para el aprovechamiento de estos residuos agrícolas, llevando esto a una mayor sostenibilidad del medio, sino además para que los animales en periodo de premontanera encuentren una mayor sensación de saciedad y esto conlleve a una mejora del bienestar animal. Una de esas alternativas podría ser la cascarilla del arroz (rica en fibra), que representa alrededor del 20% del peso total del grano entero. Es la capa más externa del grano de arroz y se extrae durante la molienda. En cuanto al bienestar animal, el proyecto europeo *Welfare Quality*® ha desarrollado protocolos para evaluar de forma estandarizada el bienestar de los animales. Una de las innovaciones de este sistema de evaluación, es que se centra más en medidas tomadas sobre el animal (condición corporal, lesiones, comportamiento, etc.); aunque sin dejar de lado las instalaciones donde se encuentran los animales o el manejo recibido. El protocolo se basa en cuatro principios básicos (buena alimentación, buen alojamiento, buena salud y comportamiento adecuado), los cuales se encuentran comprendidos entre dos y cuatro criterios independientes entre sí. Las medidas tomadas sobre el animal, son las que forman cada uno de los criterios. En relación al comportamiento, en las especies domésticas que viven en grupo, los cambios en el comportamiento social pueden ser respuesta a desafíos ambientales; y por lo tanto, también pueden utilizarse como indicadores de bienestar animal (Améndola et al., 2016). Con este estudio, se pretende valorar si la cascarilla de arroz sería un subproducto óptimo en la dieta de premontanera para aumentar el grado de bienestar animal del cerdo Ibérico.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en la Finca Valdesequera (CICYTEX), situada en Extremadura. Se utilizaron 3 tipos de pienso con distintos porcentajes de fibra (control: 5%; fibra media: 8,5%; fibra alta: 12%), procedente de la cascarilla de arroz. Se evaluaron 45 cerdos Ibéricos machos castrados quirúrgicamente alojados en grupos de 15 animales (un grupo por tipo de pienso) en corrales de 600 m<sup>2</sup> (40 m<sup>2</sup>/animal) durante 4 meses (agosto-noviembre), hasta el inicio de la montanera. Durante 19 días se realizaron observaciones comportamentales (1 hora al inicio de la mañana y 1 hora al mediodía) en los 3 grupos de animales. Para la evaluación de comportamiento se empleó la metodología de Améndola et al. (2016), pero modificada a comportamientos específicos de porcino. En cada hora de observación se realizaban 6 barridos, en los cuales se observaron tanto comportamientos individuales como sociales en cada uno de los grupos (1 barrido cada 10 minutos). Los comportamientos individuales estudiados fueron: estar tumbado, estar sentado, estar parado, caminar, correr, confort, explorar corral, explorar material enriquecimiento, comer, beber, bañarse y otros comportamientos individuales. Además se registraron comportamientos de interacción entre ellos (comportamientos sociales), estos fueron: lucha, golpe cabeza, mordida, juego grupal, monta, nariz-cuerpo, nariz-nariz, nariz-vientre, nariz-zona ano-genital, así como otros comportamientos sociales. Los comportamientos registrados en este estudio, se agruparon bajo criterio de los autores en inactivos y activos, y dentro de los activos diferenciamos las interacciones sociales, la exploración y otros comportamientos. Por otra parte, el bienestar

animal de cada grupo fue evaluado mensualmente (4 evaluaciones por grupo) mediante el protocolo *Welfare Quality*®. Los datos obtenidos fueron introducidos en el simulador de INRA (<http://www1.clermont.inra.fr/wq>), obteniéndose como resultado la valoración de los doce criterios, los cuatro principios básicos y la evaluación global que contempla dicho protocolo (**Tabla 1**). Las observaciones comportamentales se analizaron, mediante un análisis de varianza factorial (ANOVA) con 2 factores fijos (hora del día y tipo de pienso) e interacciones, y la prueba de Tuckey. La asociación entre la dieta y el bienestar animal fue evaluada mediante chi-cuadrado. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa SPSS Statistics.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como patrón general de comportamiento en los tres grupos, el mayor porcentaje de animales activos se observó en la primera hora de la mañana, mientras que el mayor porcentaje de animales inactivos se concentró en la segunda hora de observación (mediodía) (**Tabla 2**). Esto coincide con otros estudios, que concluyen que los cerdos son más activos por la mañana y dicha actividad se reduce al máximo al mediodía (Blumetto et al., 2013). Además, dentro de los comportamientos activos, al igual que en el estudio anteriormente reseñado, la exploración ocupó el comportamiento más frecuente, seguido de otras conductas (beber, caminar, comer, etc.). En lo que a las interacciones sociales se refiere, se encontró un patrón similar para los tres grupos, siendo esta agrupación de comportamientos la menos habitual, con un total de un 1,3%. Esto difiere de lo observado en cerdos Ibéricos en intensivo (10% social negativo; 5% social positivo) y más próximo a lo observado en cerdos en extensivo (2,3% social positivo, 1% social negativo) (Temple et al., 2012). Este hallazgo podría ser debido a la baja densidad de animales que había en los corrales (40 m<sup>2</sup>/animal), que no se asemeja con la densidad fijada para cerdos Ibéricos en intensivo (2 m<sup>2</sup>/animal) según el RD 4/2014.

El ANOVA factorial (**Tabla 3**) indica que la inactividad de los animales no sólo se vio afectada por la hora de observación ( $p < 0,001$ ); sino que además se observaron diferencias significativas entre los diferentes tipos de pienso ( $p < 0,001$ ), siendo más habitual la inactividad en el grupo *Fibra alta*. Esto podría relacionarse con la sensación de mayor saciedad debido a la fibra aportada en el pienso; que en este caso contiene un 12% de fibra procedente de la cascarilla de arroz. Scharama y Bakker (1999) también observaron una reducción de actividad en aquellos cerdos en crecimiento alimentados con dietas ricas en fibra. De igual modo, los comportamientos activos se vieron influenciados tanto por la hora de observación ( $p < 0,001$ ), como por el tipo de pienso ( $p < 0,001$ ) aportado a los animales, pero en esta ocasión ocurrió en sentido contrario, siendo más frecuentes a primera hora de observación y menos frecuente en animales alimentados con un 12% de fibra. Con respecto al comportamiento exploratorio la situación fue análoga, siendo menos frecuente al mediodía y en los animales alimentados con el mayor porcentaje de fibra ( $p < 0,001$ ). Por último, las interacciones sociales no se vieron influenciadas ni por la hora de observación ni por el tipo de pienso aportado a los cerdos Ibéricos. Los resultados de la evaluación de *Welfare Quality*®, no mostraron diferencias significativas entre las evaluaciones globales. Por tanto, el nivel general de bienestar animal no va a sufrir modificaciones sustanciales relacionadas con la adicción de un mayor porcentaje de fibra al pienso en el rango de nuestro estudio. En cuanto a los principios básicos y criterios, no se observaron diferencias en los principios *buena alimentación*, *buen alojamiento* y *buena salud*, debido a que los tres grupos se encontraban en las mismas condiciones de nutrición, instalaciones y manejo. En cambio, aunque a nivel general en el principio básico *comportamiento adecuado* no se observaron diferencias, en su desglose, se encontraron diferencias en el criterio *estado emocional positivo* ( $p = 0,044$ ), a favor de los animales que se alimentaron con un mayor porcentaje de fibra en el pienso (fibra media y fibra alta).

Por lo tanto, podemos concluir que la cascarilla de arroz podría ser un subproducto adecuado a utilizar en el pienso de la fase de premontanera, siendo aconsejable que el nivel de fibra aportada se encuentre alrededor del 12%, ya que con este aporte de fibra extra aumenta la inactividad de los animales, debido probablemente al efecto saciante de dicha fibra. Esto conlleva a un aumento del bienestar animal, contrarrestando el estado de alteración que provoca la escasez de alimento en la premontanera. Además, los animales a los que se les aporta fibra extra en la dieta presentaron un mayor estado emocional positivo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- RD 4/2014, BOE de 11 de Enero de 2014, páginas 1569-1585 • Améndola, L; Solorio, F; Ku-Vera, J; Améndola, R; Zarza, H & Galindo, F. 2016. *Animal* 10(5): 863-867 • Blumetto, O; Calvet, S; Estellés, F & Villagrà, A. 2013. *Revista Brasileira de Zootecnia* vol. 42 n° 7 • Temple, D; Manteca, X; Velarde & A; Dalmau, A. 2012. *Applied Animal Behaviour Science* 131:29-39 • Schrama, J. & Bakker, G. 1999. *Journal of Animal Science* 77: 3274-3280 •

**Agradecimientos:** Proyecto *TREASURE* (programa Horizon-2020). INIA (beca de investigación del autor, J. García-Gudiño).

**Tabla 1.** Principios básicos y criterios que forman parte de la valoración final del protocolo Welfare Quality®

Principios básicos	Criterios
Buena alimentación	Ausencia de hambre prolongada Ausencia de sed prolongada
Buen alojamiento	Confort en el descanso Confort térmico Facilidad de movimiento
Buena salud	Ausencia de lesiones Ausencia de enfermedades Ausencia de dolor causado por el manejo
Comportamiento adecuado	Comportamiento social adecuado Otras comportamientos no sociales adecuados Buena relación hombre-animal Estado emocional positivo

**Tabla 2.** Porcentajes acumulados de los comportamientos observados

	Control			Fibra media			Fibra alta		
	1ª hora	2ª hora	Total	1ª hora	2ª hora	Total	1ª hora	2ª hora	Total
<i>Inactividad</i>	5,89	10,29	<b>16,18</b>	4,40	9,08	<b>13,48</b>	5,93	12,96	<b>18,19</b>
<i>Actividad</i>	10,77	6,38	<b>17,15</b>	12,26	7,59	<b>19,85</b>	10,73	4,40	<b>15,14</b>

**Tabla 3.** ANOVA factorial (hora de observación y tipo de pienso)

	<i>Inactividad</i>	<i>Actividad</i>	<i>Exploración</i>	<i>Sociales</i>	<i>Otras conductas</i>
<i>Hora</i>	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,2359	0,0000*
<i>Tipo pienso</i>	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,3408	0,7223

Sig.: nivel de significación: valor p <0,001 (\*)

## RICE HULL AS FOOD STRATEGY IN IBERIAN PIG DURING PREMONTANERA (STUDY BEHAVIOR AND ANIMAL WELFARE ASSESSMENT)

**ABSTRACT:** The Iberian pig is fed with small amounts in the stage of premontanera as a feeding strategy to meet the requirements of RD 4/2014. The rice hull could be an alternative feed supplement that provides fibre increasing satiety effect and welfare in pigs. In this study, each group of animals (15 pigs by group) was fed with a defined percentage of rice hull fibre in the ration (control, moderate fibre and high fibre) for a period of four months. Observations of individual and social behaviors were performed for a period of 19 days. The status of animal welfare was assessed by Welfare Quality® protocol monthly. From data analysis, it seems that the hour of the day and the type of food influences in the inactivity/activity of the Iberian pigs. In addition, the pigs fed with moderate and high fibre present an increased positive emotional state. Therefore, the rice hull can be a byproduct very appropriate for feeding the Iberian pig in premontanera and enhance animal welfare in this period.

**Keywords:** Iberian pig, rice hull, byproduct, animal welfare.



## EFFECTOS DEL ESTRÉS PRENATAL POR CALOR EN LA REACCIÓN EMOCIONAL Y CONDUCTUAL DE CABRITAS DURANTE LA CRIA

Coloma, W., Mehaba, N., Such, X., Salama, A.A.K., y Caja, G.  
Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments,  
Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra  
E-mail: [ahmed.salama@uab.cat](mailto:ahmed.salama@uab.cat)

### INTRODUCCIÓN

Existe evidencia de que las condiciones ambientales a las que se vean sometidas las madres durante la gestación, modifican la programación fetal por medio de cambios fisiológicos y epigenéticos (Viltart y Vanbesien-Mailliot, 2007). Como consecuencia se condicionan de forma permanentemente el comportamiento, la salud y la productividad de su descendencia. Estudios en animales han mostrado que episodios de estrés durante la gestación tienen efectos negativos en la vida postnatal de la descendencia. Entre ellos destacan: reducción de la duración de la gestación y del peso al nacimiento (Seckl, 2001; Schneider et al., 1998; Schroeder et al., 2012), alteración del sistema inmune (Tuchscherer et al., 2002), reducción de las capacidades neuromotoras (locomoción, exploración y aprendizaje) (Vallée, 1997; Schneider et al., 2002; Hove et al., 2014), alteración del comportamiento sexual (Ordian et al., 2006) y reducción de la interacción social con episodios consistentes con depresión (Weinstock, 2001).

Aunque los efectos conductuales y neuroendocrinos del estrés prenatal se han estudiado ampliamente, se sabe poco de los efectos del estrés por calor en la especie caprina y su desarrollo en etapas posteriores. Se desconoce además si, un tipo concreto de estrés durante la vida fetal, podría condicionar la respuesta a otros tipos de estrés durante la posterior vida postnatal.

El objetivo de este estudio fue investigar el efecto del estrés por calor en cabras al inicio de gestación, sobre la reacción de la descendencia a estreses de tipo emocional y conductual.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las condiciones de manejo y cuidado de los animales fueron realizados bajo procedimientos establecidos por el Comité Ético de Experimentación Animal y Humana de la Universitat Autònoma de Barcelona (Bellaterra, referencia CEEAH 3419).

*Características, tratamientos y manejo de las cabras:* Se utilizaron 30 cabras lecheras multíparas de raza Murciano-Granadina ( $41,8 \pm 5,7$  kg) que fueron divididas en 6 grupos equilibrados de 5 cabras, que se asignaron a tratamientos experimentales de temperatura ambiente durante el periodo anterior (d 1-12) y posterior (d 13-57) a la cubrición. Para ello se realizó una sincronización con esponjas vaginales (Sincropart 30 mg; Ceva Salud animal, Barcelona) y aplicación de eGC (400 UI) a su retirada (d 12). A partir del d 13, las cabras fueron cubiertas 2 veces por monta dirigida. Los tratamientos ambientales fueron (humedad relativa, 50-60%; fotoperiodo luz-oscuridad, 12-12 h):

- Termo-neutralidad (TN; n = 15):  $15-20^{\circ}\text{C}$  durante todo el día y la noche
- Estrés por calor (EC; n = 15):  $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante el día y  $30 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante la noche.

Las cabras se ordeñaron 2 veces al día (8 y 17 h), en las correspondientes condiciones ambientales, y recibieron una ración total mezclada (forraje: concentrado, 70:30) de acuerdo con sus necesidades y agua a voluntad. Durante los días de duración de los tratamientos se midió la ingestión de alimento, y 2 veces/sem, la temperatura rectal y la frecuencia respiratoria. A los 21 y 45 d después de la cubrición se realizó un diagnóstico de preñez mediante ecografía transrectal. A partir del día 45 de gestación todas las cabras se juntaron en un solo lote y siguieron el mismo manejo en condiciones semi-intensivas, con pastoreo (6 h/d) en praderas de secano y complementación en aprisco. Dos semanas antes de la fecha esperada de parto, las cabras se pesaron y se trasladaron a corrales de parto bajo vigilancia permanente.

*Características, tratamientos y manejo de los cabritos:* Inmediatamente después del parto los cabritos fueron separados de sus madres, pesados, desinfectados sus ombligos con una solución yodada e identificados con crotales oficiales. A continuación, recibieron el calostro de sus propias madres y se criaron todos juntos con leche artificial (150 g/L, Elvor, Saint-

Brice, Francia) mediante una amamantadora automática (Foerster-technik, Gerwigstr, Engen, Alemania) en un corral con calefacción (20°C) y cama de paja. Los cabritos macho se sacrificaron a los 9-10 kg de PV.

Los cabritos hembra (TN, n = 16; EC, n =10) a los 30 ± 15 d de edad (final del periodo de cría) se sometieron de forma individual a 2 test de comportamiento, de acuerdo con la metodología de Rouseel et al. (2005):

- Test de entorno nuevo (TEN): 5 d consecutivos.
- Test de objeto nuevo (TON): 1 d (48 h después de los TEN), utilizando un cono de tráfico con banditas rojas y blancas.

Ambos tests (8 min de duración) se realizaron en un local (arena) de 4×4×2 m, en cuyo suelo se pintaron con tiza blanca 9 cuadrados de 1.3×1.3 m. El acceso a la arena se realizó por una puerta de guillotina, colocada en el centro de uno de los lados, y conectada a una caja de 50×50×60 cm. Cada cabrita, elegida aleatoriamente, se colocó en la caja al inicio del test, abriendo la puerta 30 s después. Las variables medidas fueron: tiempo de recorrido hacia delante, número de cuadrados recorridos, número de saltos, número de husmeos de la arena y número de vocalizaciones.

Para el TON, las cabritas fueron llevadas nuevamente a la arena colocando el cono de tráfico en el centro del lado opuesto a la puerta de entrada. Además de las variables medidas en los TEN, se registró también el tiempo transcurrido hasta el primer husmeo del objeto nuevo y el número de husmeos.

*Análisis estadísticos:* Los datos obtenidos se analizaron como medidas repetidas mediante el procedimiento GLIMMIX para el TEN y PROC Genmod para el TON, ajustados a una distribución Poisson o a una negativa binomial para los datos de recuentos, o mediante el procedimiento MIXED bajo un modelo lineal mixto para los datos numéricos continuos con el paquete estadístico SAS v.9.1.3 (SAS Inst., Cary, NC, USA). Los modelos incluyeron el tratamiento (TN vs. EC) como efecto fijo y, en el caso de medidas repetidas, el día y su interacción con el tratamiento. Las diferencias se declararon a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo de estrés por calor las cabras EC tuvieron un 16% menos de ingestión ( $P < 0,05$ ) y mayores temperatura rectal (+0,68°C;  $P < 0,01$ ) y frecuencia respiratoria (+76 resp/min;  $P < 0,01$ ), que las TN. Por otro lado, las cabras EC acortaron 3 d ( $P < 0,01$ ) su gestación (Tabla 1). Consecuentemente, el peso al nacimiento de los cabritos fue un 7% menor en las EC, pero esta diferencia no fue significativa ( $P < 0,13$ ).

**Tabla 1.** Prolificidad, peso al nacimiento de los cabritos y duración de la gestación en cabras sometidas a condiciones termo-neutras (TN) o estrés por calor (EC).

Item	TN	EC	EED <sup>1</sup>	P valor
Prolificidad, cabritos/cabra parida	2,31	2,23	0,31	0,806
Peso al nacimiento, kgPV	2,34	2,18	0,10	0,123
Gestación, d	146	143	1	0,002

<sup>1</sup>EED = error estándar de la diferencia.

Los resultados de los test de comportamiento se han resumido en la Tabla 2. Durante los TEN, las cabritas EC realizaron un 21% menos de husmeos ( $P < 0,01$ ) que las TN. Este test se utiliza para evaluar la expresión del miedo en cabras y ovejas (Forkman et al., 2007), interpretando que mayores husmeos corresponden a bajos niveles de miedo en cabras (Ruiz-Miranda y Callard, 1992). Este resultado concuerda con lo indicado por Roussel (2005) en cabritas nacidas de cabras expuestas a estrés por transporte a final de gestación, observando también una disminución del husmeo cuando las madres fueron tratadas con corticotropina. En cuanto al resto de variables medidas en los TEN, las cabritas nacidas de madres EC disminuyeron el número de cuadros recorridos ( $P < 0,13$ ) y el número de vocalizaciones ( $P < 0,10$ ), indicando una conducta menos reactiva. Finalmente, no se observaron diferencias entre TN y EC en el número de saltos ni el recorrido hacia delante.

Respecto al TON, se observó también una tendencia a la reducción (16%;  $P < 0,10$ ) en el número de husmeos en las cabritas EC vs. TN, pero no se detectaron diferencias en el resto de variables medidas o en las interacciones con el objeto nuevo.

**Tabla 2.** Comportamiento de cabritas lactantes nacidas de madres sometidas a condiciones termo-neutras (TN) o de estrés por calor (EC) durante los primeros 45 d de gestación.

Variable	TN	EC	EED <sup>1</sup>	P valor
Cabritas, n	16	10	-	-
Test de entorno nuevo				
Cuadros recorridos, n	46,0	36,3	0,2	0,101
Saltos, n	3,2	2,2	0,5	0,442
Husmeos, n	32,8	26,2	0,1	0,008
Vocalizaciones, n	177	154	1	0,099
Recorrido hacia adelante, s	57,4	50,7	0,3	0,534
Test de objeto nuevo				
Cuadros recorridos, n	47,4	38,9	0,1	0,126
Saltos, n	4,8	2,3	0,5	0,412
Husmeos, n	36,1	30,0	0,1	0,093
Vocalizaciones, n	156	161	1	0,670
Recorrido hacia adelante, s	48,9	41,0	0,1	0,220
Husmeos del objeto nuevo, n	14,8	10,5	0,1	0,135
Latencia del primer husmeo al objeto nuevo, s	53,8	77,4	0,4	0,562

<sup>1</sup>EED = error estándar de la diferencia.

En conclusión, el estrés por calor durante el periodo de cubrición hasta los primeros 45 días de gestación, reduce la duración de la gestación con efectos probables en el peso de los cabritos. Los resultados de los tests de comportamiento sugieren que la reactividad emocional de las cabritas se vio alterada por el estrés por calor sufrido en el útero. Resulta especialmente interesante observar como la exposición del feto a un tipo de estrés en el medio uterino (i.e., estrés por calor) puede modificar su capacidad de repuesta a otros tipos de estrés (e.g., estrés del entorno) en la vida postnatal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Forkman, B., et al. 2007. *J. Physiol. Behav.* 92:340-374
- Hove, V., et al. 2014. *J. Neuropsychophar.* 24:595-607
- Ordian, N., et al. 2006. *J. Ross. Fiziol. Zh. Im. I. M. Sechen.* 92:1100-1110
- Roussel, S., et al. 2005. *Horm. Behav.* 47:256-266
- Ruiz-Miranda, C. & Callard, M. 1992. *J. Anim. Behav. Sci.* 33:277-285
- Schneider et al. 2002. *J. Psychoneuroendocrinology* 27: 285–298
- Schneider, M., et al. 1998. *J. Dev. Psychopathol.* 10(3): 40-427
- Schroeder, M., et al. 2012. *J. Dev. Psychobiol.* 55:176-192
- Seckl, J.R. 2001. *J. Mol. Cell. Endocrin.* 185:61-71
- Tuchscherer, M., et al. 2002. *J. Vet. Immunol. Immunop.* 86:195-203
- Valle, M., et al. 1997. *J. JNeurosci.* 17: 2626-2636
- Viltart, O., et al. 2007. *J. Sci. World* 1:1493-1537
- Weinstock, M. 2001. *J. Prog. Neurobiol.* 20:427-451.

**Agradecimientos:** Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2013-44061-R).

#### EFFECTS OF PRENATAL HEAT STRESS ON EMOTIONAL AND BEHAVIORAL REACTIONS OF MILK FED FEMALE GOAT KIDS

**ABSTRACT:** Murciano-Granadina goats (n=30; 41.8±5.70kg) were exposed to 2 treatments: thermal-neutral (TN; n=15; 15 to 20°C.); and heat stress (HS; n=15; 30 to 37°C). The TN and HS goats were maintained under the ambient treatment conditions from 15 d before mating until 45 d of pregnancy. Female kids born in TN (n=16) and HS (n=10) were used at 30±15 d age for novel arena test (NAT) and novel objet test (NOT). Compared to TN, HS goats had 3-d shorter pregnancy duration ( $P<0.01$ ), and kids had 7% lower birth weight ( $P<0.13$ ). In NAT, HS kids had lower number of sniffs ( $P<0.01$ ) and vocalizations ( $P<0.10$ ). In NOT, HS kids also tended to show lower number of sniffs ( $P<0.10$ ). In conclusion, heat stress during the first third of pregnancy shortened the gestation length. Exposing the fetus in utero to a specific type of stress (i.e. heat stress) modifies its response to a different kind of stress (i.e. isolation in different environment) during the postnatal life.

**Keywords:** Heat stress, fetal programming, emotional reactivity, goat kids.

## EL PERFIL METABOLÓMICO DE SANGRE EN CABRAS LECHERAS ESTRESADAS POR FRÍO

Mehaba, N., Coloma García, W., Salama, A.A.K. y Caja, G.  
Grupo de Investigación en Rumiantes (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra,  
08193, Barcelona, España.  
E-mail: ahmed.salama@uab.es

La variabilidad de las temperaturas produce olas de frío y calor extremas (IPCC, 2014). Ante estas circunstancias, la respuesta de los rumiantes al frío puede producirse mediante diferentes mecanismos. Por una parte, el estrés agudo por el frío produce un aumento de dos y cinco veces las concentraciones plasmáticas de epinefrina y norepinefrina en ovejas esquiladas, respectivamente (Thompson et al., 1978). Además, a través de la inervación somática, éstas provocan temblores, siendo la principal fuente de termogénesis en mamíferos adultos (Young, 1978). Estas catecolaminas producen un aumento en la concentración plasmática de glucosa y ácidos grasos libres (Thompson, 1973). En adición, producen también un cambio en los niveles de glucocorticoides y hormonas tiroideas, pero su actividad e interrelación en condiciones de estrés por frío y la adaptación fisiológica es indudablemente más compleja (Christopherson et al., 1978). Se ha observado la participación de las hormonas tiroideas en la termogénesis que representa aproximadamente el 50 % de la tasa metabólica basal en animales normales (Habeeb et al., 1992). Por su parte, la triiodotironina ( $T_3$ ) regula la lipólisis (Oppenheimer et al., 1991) y la tiroxina aumenta la resistencia al frío y la sensibilidad a la norepinefrina en animales pequeños de laboratorio (Johnson, 1976).

Se puede considerar que la adaptación fisiológica al estrés por frío es un proceso complejo. Por ello, el objetivo del presente estudio aplicó la técnica de resonancia magnética nuclear de protones (H-NMR) para evaluar los cambios en el perfil metabólico en sangre de cabras lecheras expuestas al estrés por frío.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales, manejo y tratamientos:** Los procedimientos utilizados fueron aprobados por el Comité de Ética de la facultad de veterinaria (1430/12). Se utilizaron 8 cabras lecheras multíparas de raza Murciano-Granadina ( $41,8 \pm 5,7$  kg PV) a mitad de lactación ( $77 \pm 2$  d;  $2,13 \pm 0,36$  L/d) pertenecientes al Servei de Granges i Camps Experimentals de la UAB en Bellaterra (Barcelona), previamente adaptadas a cajas metabólicas de tipo plástico con zona de reposo de goma y paredes con paneles cortaviento. Las cajas se situaron en una cámara climática ( $4 \times 6,2 \times 3,6$  m; ETS Lindgren-Euroshield Oy, Eura, Finlandia), equipada con un sistema de enfriamiento programable (Rele programable, Siemens logo; Inmasa, Tarragona) y registro de humedad (no programable).

Las cabras se asignaron aleatoriamente a 2 grupos a los que se aplicaron los tratamientos experimentales correspondientes a 2 temperaturas ambientales, con humedad relativa (60%) y fotoperiodo (luz-oscuridad, 12-12 h) constantes. Los tratamientos fueron:

- Termo-neutralidad (**TN**):  $15-20^\circ\text{C}$ , durante todo el día y noche.
- Estrés por frío (**EF**):  $-3$  a  $6^\circ\text{C}$ , con cambios graduales de temperatura ( $0,75^\circ\text{C/h}$ ) con mínima y máxima a las 2 h (noche) y 13 h (día).

El diseño experimental consistió en un crossover de 2 periodos (21 d cada uno) con 4 cabras en cada periodo. Las cabras recibieron una ración total mezclada (70% forraje y 30% concentrado) *ad libitum*, de acuerdo con sus necesidades (INRA, 2007) y se ordeñaron 2 veces al día (0800 y 1700 h) en el interior de la cámara utilizando un equipo portátil (GEA, Granollers) a 40 kPa, 120 ppm y 60:40% de pulsación. El agua se suministró libremente a temperatura ambiente.

**Muestreo y análisis:** Se recogieron las muestras de sangre semanalmente de la vena yugular en ayunas y antes del ordeño de la mañana, en un tubo de 10 mL con heparina de sodio (BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ). Se obtuvo el plasma por centrifugación a  $1500 \times g$  durante 15 min a  $4^\circ\text{C}$  y se almacenó a  $-30^\circ\text{C}$  hasta el análisis por H-NMR. Para este estudio se analizaron las muestras recogidas en TN justo antes de pasar por el EF (wk1) y las muestras recogidas durante las 3 semanas de EF (wk2, wk3 y wk4).

Para realizar el análisis de metabolitos, el plasma se transfirió a tubos de RMN de 5 mm (Wilmad, VWR International, Eurolab, Barcelona) y se procesaron de acuerdo con la

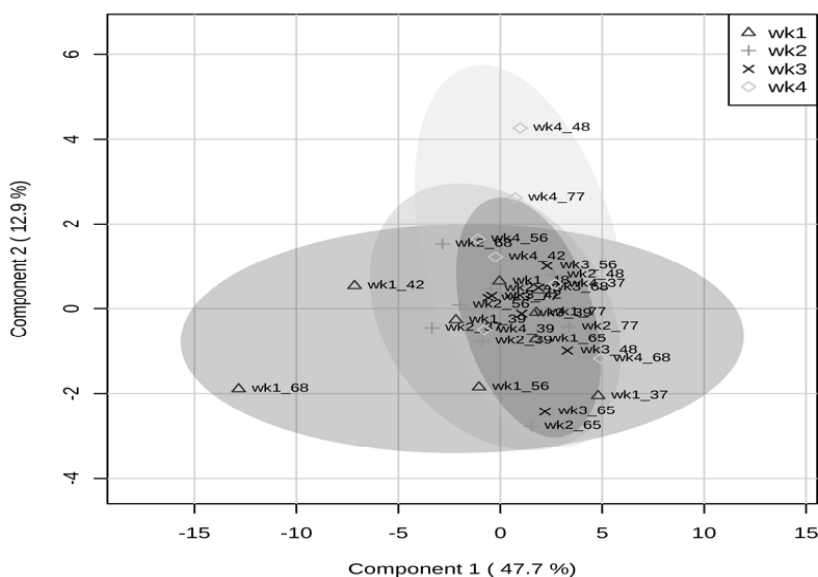
metodología descrita por Beckonert et al. (2007). Los espectros de NMR se obtuvieron utilizando un espectrómetro Bruker Avance-III operando a 600 MHz con temperatura de 298K. La detección de los espectros se controló con el software TopSpin 2.1 (Bruker, Germany).

**Análisis bioinformático:** Los datos se trataron con el paquete “Chemospec” del programa R. En primer lugar, se excluyó del análisis la región  $\delta$  5,0 a 4,6 ppm correspondiente al agua y se alinearon los picos. A continuación, se usó el programa MetaboAnalyst (v.3; <http://www.metaboanalyst.ca>) para la normalización de los datos y su análisis multivariante. Se aplicó el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para determinar el cambio químico de los metabolitos importantes que marcan la diferencia entre grupos. Los metabolitos se identificaron según la posición en el espectro, de acuerdo con la bibliografía disponible (Nicholson et al., 1995; Louis et al., 2014; Nagana et al., 2015) y la base de datos del metaboloma humano.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cabras bajo condiciones de EF (wk2, wk3 y wk4) tuvieron menos ( $P < 0,05$ ) temperatura rectal ( $-0.32^{\circ}\text{C}$ ), consumieron menos cantidad de agua ( $-1.25 \pm 0.24$  L/d;  $P < 0,05$ ) y produjeron menos ( $P < 0.01$ ) cantidad de leche ( $-0.19$  L/d) en comparación con el periodo TN (wk1). Estos resultados indican que las bajas temperaturas usadas en este experimento causaron un estrés por frío significativo en las cabras.

En la Figura 1 se observa una discriminación entre las 3 semanas del EF (wk2, wk3 y wk4) y la semana del TN (wk1). Esto indica un cambio significativo en el metabolismo cuando se exponen las cabras al EF.



**Figura 1.** Componentes principales del perfil de metabolitos de las cabras TN (wk1) antes de pasar al estrés por frío durante 3 semanas consecutivas (wk2, wk3 y wk4). Valores obtenidos por PLS-DA.

La Tabla 1 muestra los 10 metabolitos principales que marcan la diferencia entre semanas de experimento. Todos los metabolitos aumentaron bajo EF, a excepción de la leucina. El EF produjo un aumento de la fosfatidilcolina alcanzando el máximo nivel en la tercera semana de EF. La fosfatidilcolina está involucrada en la actividad de la fosfolipasa  $A_2$  que juega un papel esencial en la regulación de las propiedades fisicoquímicas de la membrana

neuronal, que influye en la función receptora y en la transducción de las señales (Farooki et al., 1995).

**Tabla 1.** *Metabolitos que discriminan entre cabras en condiciones termo-neutras (TN; wk1) y durante 3 semanas (wk2, wk3 y wk4) bajo estrés por frío (EF). El color negro indica la intensidad más alta del metabolito mientras el color blanco indica la intensidad más baja.*

Metabolito	Cambio químico (ppm)	TN	Tratamiento EF		
		Wk1	Wk 2	Wk3	Wk 4
Isoleucina	1,961	■	□	■	□
Fosfatidilcolina	3,599	□	■	□	■
Tirosina	3,029	□	■	□	■
Ketoleucina	0,941	□	■	■	□
Asparagina	2,999	□	□	■	■
β-glucosa	3,882 y 3,521	□	□	■	■
α-glucosa	5,263	□	□	■	■
Valina	2,307	□	□	■	■
Leucina	0,971	□	■	□	■

Es posible que algunos de los amino ácidos que aumentan durante el EF sean usados por el hígado para la gluconeogénesis. De acuerdo con esta observación los niveles de α- y β-glucosa fueron mayores durante las semanas de EF (Tabla 1). Finalmente, la tirosina es un precursor de las catecolaminas, cuyas concentraciones son altas durante el estrés por frío como se ha visto en el estudio de Talas y Yurekli. (2006), donde observaron niveles elevados de adrenalina, noradrenalina y tirosina hidroxilasa activada (catalizador de tirosina a dopamina) en plasma de ratas. En conclusión, el uso del H-NMR ha permitido detectar que el estrés por frío causa un cambio en el perfil metabolómico en las cabras lecheras. Este cambio se puede relacionar principalmente con la síntesis de glucosa y catecolaminas que ayudan al animal a hacer frente a estas condiciones ambientales extremas.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beckonert, O., et al. 2007. Nat Protoc.2 :2692-703.
- Christopherson, R. J., et al. 1978 Can. J. Physiol. Pharmacol.59 : 490.
- Farooqui, A. A., et al. 1995. Brain. Res. Rev. 21 :152-161.
- International Panel for Climate Change 2014.
- Louis, E. et al., 2014. Metabolomics.
- Nagana, G. A., et al., 2015. Anal Chem.
- Nicholson, J. K., et al. 1995. Lindon Anal. Chem. 67 (5), 793-811.
- Oppenheimer, J.H., et al. 1991. J Clin Invest. 87. 125–132.
- Talas, Z. S., & Yurekli, M. 2006. Cell Biochem Funct. 24 :537–540.
- Young, B. A. 1978. Joint Annu. Meet. of the ADSA & ASAS.
- Habeeb, A.A.M., et al.,1992. CAB Inter,Wal, UK, pp. 27–47.
- Johnson, H. D. 1976. Div. B.VOL. 1. Part 1.
- Thompson, G. E. 1973. J. Dairy Re. 40:441.
- Thompson, J. R. et al., 1978. Can. J. Anita. Sol. 58:23.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2013-44061-R).

### BLOOD METABOLOMIC PROFILE OF COLD-STRESSED DAIRY GOATS

**ABSTRACT:** This study is an explorative investigation of the potential biomarkers of cold stress in dairy goats. Eight lactating Murciano-Granadina dairy goats (41.75 ± 2.02 kg BW, 70 ± 2 DIM, 2.13 ± 0.36 kg milk /d) were maintained in metabolic cages and divided into 2 groups: thermo-neutral (TN; 15 to 20°C) and cold stress (CS; -4 to 8°C). The experimental design was a crossover with 2 treatments in 2 periods (21d each). Blood samples were collected weekly before and during the CS. Plasma were separated and analyzed by H-NMR based metabolomics. The metabolomics approach along with the multivariate analysis indicated differences in the metabolomics profile due to the CS. Dairy goats under CS had higher α- and β-glucose in plasma which could result from the use of some amino acids for gluconeogenesis. Also, an increment in tyrosine that could be used for the synthesis of catecholamines was observed. In conclusion, the H-NMR was a useful technique to define differences in the metabolome by cold stress. The metabolic changes detected were mainly related to the increment in glucose and neurotransmitters syntheses.

**Keywords:** Metabolomics, H-NMR spectroscopy, cold stress, dairy goats

## **PREDICCIÓN DE ENFERMEDADES PERIPARTO MEDIANTE EL COMPORTAMIENTO DE LAS VACAS EN EL PREPARTO.**

Belaid, M.A., M. Rodríguez-Prado y S. Calsamiglia.  
Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNIBA) Edifici V, Campus UAB, 08913,  
Bellaterra, Barcelona, Barcelona. Sergio.Calsamiglia@uab.cat

### **INTRODUCCIÓN**

La fase de transición pre-post parto en el vacuno lechero está asociada con un pico de incidencia de enfermedades metabólicas. Estas enfermedades tienen un gran impacto sobre la economía de las explotaciones a través de sus efectos negativos en la producción lechera, los costes de tratamiento y los efectos en la reproducción, entre otros. Su aparición en el postparto está relacionada, al menos en parte, con el manejo nutricional en las tres semanas anteriores al parto. La aplicación de medidas de prevención preparto puede ser una buena solución. Pero la estrategia puede ser cara por el hecho de que estamos tratando a todas las vacas sin saber las que van a estar enfermas. La capacidad de predicción de qué vacas pueden estar enfermas en el postparto ha centrado el interés de los investigadores en estos últimos años. Urton et al. (2005) observaron que el comportamiento de las vacas durante el preparto podía predecir el riesgo de padecer metritis postparto. Las mismas conclusiones fueron alcanzadas por Huzzey et al. (2007). Sin embargo, los equipos utilizados para la monitorización del comportamiento en estos estudios son caros, lo que limita su aplicación en condiciones de campo.

El objetivo de nuestro estudio fue usar los podómetros de última generación como alternativa para evaluar el comportamiento de las vacas antes del parto y relacionarlo con la incidencia de patologías post parto.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se instaló un sistema de podómetros de última generación (ENGS systems®, Israel) en una granja comercial situada en la provincia de Lérida. Se seleccionaron 129 vacas Holstein a las que se pusieron podómetros al menos 21 días previos al parto. Los podómetros instalados son capaces de medir el número de visitas al comedero, el tiempo de acceso al comedero, el tiempo tumbado, el tiempo de pie, los cambios de pie a tumbada (*Swaps*) y el número de pasos. El experimento se realizó de Marzo a Junio del 2015.

Los datos de los podómetros se obtuvieron del software ECOherd del sistema, y la incidencia de patologías postparto del registro sanitario de los veterinarios. Los datos se utilizaron para describir el comportamiento de los animales en el periodo preparto y analizar su relación con la incidencia de enfermedades postparto (desplazamiento de abomaso, retención placentaria, hipocalcemia, metritis y mastitis). Los datos fueron analizados mediante el procedimiento ANOVA GLM del programa SAS (Versión 9.1, SAS Institute, Inc., Cary, NC).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La tabla 1 muestra que las vacas sanas durante el secado permanecen el 51% del tiempo tumbadas, un 37% del tiempo de pie y el 12% restante en los comederos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros investigadores (Urton et al. 2005, Huzzey et al. 2007, Proudfoot et al., 2010; Grant y Albright, 2000; Sepúlveda et al. 2014).

La comparación de estos valores con los de las vacas enfermas permitió identificar patrones de comportamiento preparto que se asocian directa e inequívocamente con una enfermedad específica. El aumento en el tiempo tumbada, y la reducción en el número de visitas al comedero y el número de pasos permite predecir el riesgo de padecer un desplazamiento de abomaso. Cuando únicamente aumenta el tiempo tumbada puede sospecharse un mayor riesgo de mastitis. El aumento del tiempo de pie y la reducción del tiempo de acceso al comedero se asocian con la aparición de retención de placenta, metritis e hipocalcemia. La diferencia entre estas

enfermedades se puede realizar a partir del número de visitas al comedero, los cambios de pie a tumbado y el número de pasos. La hipocalcemia está asociada con una reducción significativa de todos estos índices, mientras que la metritis está asociada con una reducción del número de visitas al comedero y el número de pasos. Estos resultados no se pueden comparar directamente con otros trabajos en la bibliografía debido a que en el presente estudio se han utilizado unos podómetros de nueva generación que recogen mucha información del comportamiento animal. Además, y a diferencia de otros estudios, se ha analizado el comportamiento para predecir el riesgo de padecer diferentes enfermedades a la vez.

La aplicación de medidas preventivas en todo el rebaño sin saber la incidencia puede ser cara. Los resultados obtenidos pueden permitir predecir los animales en riesgo de padecer enfermedades posparto y, por lo tanto, hacer un tratamiento preventivo dirigido que reducirá el coste de prevención. Además el sistema de podómetros utilizado es económico comparando con los equipos usados en otro estudio y se puede aplicar en condiciones de campo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Grant, R. J., and Albright, J. L. 2000. Feeding behaviour. In Farm Animal Metabolism and Nutrition. J. P. F. D'Mello, ed. CABI Publishing. New York, NY.
- Huzzey, J. M., Veira, D. M. Weary, D. M., & von Keyserlingk M. A. G. 2007. Parturition behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. J. Dairy Sci. 90:3220-3233.
- Proudfoot, K. L., Weary, D. M. & von Keyserlingk, M. A. G. 2010. Behavior during transition differs for cows diagnosed with claw horn lesions in mid lactation. J. Dairy Sci. 93:3970-3978.
- Sepúlveda-Varas, P., Weary, D. M., & von Keyserlingk M. A. G. 2014. Lying behavior and postpartum health status in grazing dairy cows. In: J. Dairy Sci. 97:633-6343.
- Urton, G., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. 2005. Feeding behaviour identifies dairy cows at risk for metritis. J. Dairy Sci. 88:2843-2849.

**Agradecimientos:** Agradecimiento a María Angels y Jaume Torres por permitir la ejecución de este estudio en su explotación y su inestimable ayuda.

**Tabla 1.** Tabla que resume los análisis del conjunto de enfermedades (DA, Metritis, Hipocalcemia, Retención de placenta y Mastitis) y capacidad de identificación de enfermedades específicas.

Enfermedades	Tiempo de acceso al comedero (min/día)	Número de visitas al comedero (visita/día)	Cambio de pie a tumbado (número/día)	Número de pasos (número/día)	Tiempo tumbado (min/día)	Tiempo de pie (min/día)
Vacas sanas	200	9,4	12,1	1913	735	505
Desplazamiento de abomaso (DA)	-	- 3,8	-	- 562	+125	-
Metritis	- 69	-1,0	-	- 568	-	+ 29
Hipocalcemia	- 94	- 1,4	- 2,7	- 831	-	+ 95
Retención de Placenta	- 70	-	-	-	-	+119
Mastitis	-	-	-	-	+ 95	-

-: Los resultados no significativos; los resultados significativos se muestrearon con número positivo o negativo según su diferencia respecto a las vacas sanas.



## **PREDICTING PERIPARTURIENT DISEASE BASED ON PREPARTUM DRY COW BEHAVIOR**

### **ABSTRACT**

The transition period in dairy cows is often associated with a peak incidence of diseases (milk fever, ketosis, retained placenta (RP), displaced abomasum (DA), metritis and mastitis). These diseases have a large negative impact on the economy of dairy farms. Preventive treatments to the whole group can be a good solution, but preventive treatments to cows that will not be sick after calving are an important economic loss for farmers. Therefore, the prediction of postpartum diseases has become an important issue. Urton et al. (2005) found that feeding behavior of dry cows in the prepartum period can predict the risk of metritis. The same result was reported by Huzzey et al. (2007). The equipment used in these experiments to monitor feeding behavior is expensive and limits its use in field conditions. The aim of this research was to find a suitable alternative to monitor behavior to determine if we can predict different peripartum diseases at same time. The new generation pedometers can monitor cow's activities such as feedbunck access, lying and the standing time, the number of swaps and the number of steps. The experiment was conducted in a commercial farm located in Lleida (Spain). A total of 129 dry cows were fitted with pedometer from 21 days prior to the delivery until postpartum, and all activities and the incidence of postpartum pathologies were recorded. The statistical analysis was performed with SAS software (version 9.1) using a multiple regression model for prediction of diseases. Results indicated that data obtained from pedometers is able to predict which animals are at risk of specific peripartum diseases. Therefore, directed preventive treatment can be implemented reducing the overall cost of prevention strategies. In addition the pedometer system used is economical compared to the equipment used in other studies and can be applied in field conditions.

**Keywords:** prediction, pedometer, transition cow, postpartum problems.



CIHEAM

CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS  
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2016-17-18

	CURSOS	FECHA	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	* MÁSTER EN MEJORA GENÉTICA VEGETAL	26 Sep. 16/9 Jun.17	Zaragoza	IAMZ/UdL
	GESTIÓN DE RIESGOS EN LA AGRICULTURA MEDITERRÁNEA: SEGUROS AGRARIOS	21-25 Nov. 16	Zaragoza	IAMZ/ENESA-MAPAMA/CEIGRAM
	* MÁSTER EN OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	25 Sep. 17/25 Mayo 18	Córdoba	UCO/JA/CSIC/INIA/IAMZ/COI
	AVANCES EN MEJORA GENÉTICA Y AGRONOMÍA PARA AUMENTAR LA SOSTENIBILIDAD Y LA CALIDAD DE LOS CULTIVOS DE LEGUMINOSAS DE GRANO	16-20 Oct. 17	Zaragoza	IAMZ/Proyectos UE LEGATO y EUROLEGUME
	MICOTOXINAS EN CEREALES PARA ALIMENTACIÓN HUMANA Y ANIMAL: ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL PARA MINIMIZAR LA CONTAMINACIÓN	22-26 Ene. 18	Zaragoza	IAMZ/Agrotecnio
	MEJORA DE CEREALES DE GRANO PEQUEÑO EN UN CONTEXTO DE CAMBIO CLIMÁTICO	19-23 Feb. 18	Zaragoza	IAMZ/ClimBar FACCE-JPI/ICARDA
	MITIGACIÓN DE LAS EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO EN AGRICULTURA: CONCEPTOS, MÉTODOS Y HERRAMIENTAS DE SIMULACIÓN	12-16 Mar. 18	Zaragoza	IAMZ/ICARDA/Red REMEDIA/
	AGUA Y ENERGÍA EN ZONAS RURALES MEDITERRÁNEAS	7-11 Mayo 18	Zaragoza	IAMZ/FAO/ICARDA

(\* **Programas Máster** (120 ECTS) (\*marcados con asterisco en el listado). Se inician cada dos años. Las fechas corresponden al primer año de los Másteres.

- MEJORA GENÉTICA VEGETAL: 16-17; 18-19; 20-21
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 17-18; 19-20; 21-22
- NUTRICIÓN ANIMAL: 17-18; 19-20; 21-22
- MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN: 16-17; 18-19; 20-21
- PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 16-17; 18-19; 20-21
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 17-18; 19-20; 21-22
- ACUICULTURA: 16-17; 18-19; 20-21
- GESTIÓN PESQUERA SOSTENIBLE: 17-18; 19-20; 21-22

Se destinan primordialmente a titulados universitarios en vías de especialización de posgrado. No obstante el primer año se estructura 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 segundo año para la obtención del Título Master of Science. El plazo de inscripción para el Máster en Olivicultura y elaiotecnica finaliza el 15 de abril de 2017. El plazo de inscripción para los Másteres en Nutrición animal, Marketing agroalimentario y Gestión pesquera sostenible finaliza el 4 de mayo de 2017. El plazo de inscripción para los Másteres en 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 4 de mayo de 2018.

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, Líbano, Malta, Marruecos, Portugal, Túnez y Turquía) podrán solicitar becas que cubran los derechos de inscripción, así como becas que cubran los gastos de viaje y de estancia durante el curso. Los candidatos de otros países interesados en disponer de financiación deberán solicitarla directamente a otras instituciones nacionales o internacionales.

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	FECHA	LUGAR	ORGANIZACIÓN
<b>PRODUCCIÓN ANIMAL</b>	* MÁSTER EN MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN	3 Oct. 16/30 Jun. 17	Valencia/ Barcelona	UPV/UAB/IAMZ/ IVIA/INIA
	ADITIVOS EN ALIMENTACIÓN ANIMAL	13-17 Mar. 17	Zaragoza	IAMZ
	AVANCES EN REPRODUCCIÓN DE PEQUEÑOS RUMIANTES	3-7 Abr. 17	Zaragoza	IAMZ/CITA-GA
	VALORIZACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS DE OVINOS Y CAPRINOS EN EL ÁREA MEDITERRÁNEA. TECNOLOGÍAS ACTUALES Y PERSPECTIVAS DE MERCADO	15-19 Mayo 17	Vitoria	IAMZ/Univ. País Vasco
	*MÁSTER EN NUTRICIÓN ANIMAL	25 Sep. 17/1 Jun. 18	Zaragoza	IAMZ/UZ/FEDNA/UPM
<b>MEDIO AMBIENTE</b>	* MÁSTER EN PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	26 Sep. 16/9 Jun. 17	Zaragoza	IAMZ/UdL
	CONCEPTOS, MÉTODOS Y HERRAMIENTAS PARA UN ENFOQUE INTEGRADO DE LA RESILIENCIA DE LOS BOSQUES MEDITERRÁNEOS	12-16 Dic. 16	Zaragoza	IAMZ/INFORMED- Proyecto UE FORESTERRA/ EFIMED
	RESTAURACIÓN DE ZONAS ÁRIDAS DEGRADADAS Y SEGUIMIENTO DE LOS PROCESOS DE DESERTIFICACIÓN	5-9 Feb. 18	Zaragoza	IAMZ/UICN/ICARDA/ SER-Europe
	MITIGACIÓN DE LAS EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO EN AGRICULTURA: CONCEPTOS, MÉTODOS Y HERRAMIENTAS DE SIMULACIÓN	12-16 Mar. 18	Zaragoza	IAMZ/ICARDA/ Red REMEDIA
	AGUA Y ENERGÍA EN ZONAS RURALES MEDITERRÁNEAS	7-11 Mayo 18	Zaragoza	IAMZ/FAO/ICARDA
<b>CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MARKETING DE ALIMENTOS</b>	** MÁSTER ERASMUS MUNDUS EN GESTIÓN SOSTENIBLE DE LA CALIDAD DE LOS ALIMENTOS (EDAMUS)	Sep. 16-Jun. 18	Montpellier y otros países del Consorcio	UM/IAMM/IAMZ/ UNIBAS/UMC/UCP
	USO DE BIOSENSORES PARA EL CONTROL DE LA SEGURIDAD Y LA CALIDAD DE ALIMENTOS	16-20 Ene. 17	Zaragoza	IAMZ
	CÓMO LLEGAR A LOS MERCADOS INTERNACIONALES DE PRODUCTOS ALIMENTARIOS: EXPERIENCIAS DE ESTADOS UNIDOS Y DE EUROPA	8-12 Mayo 17	Zaragoza	IAMZ/ETP Food for Life-Spain/AIAA
	* MÁSTER EN MARKETING AGROALIMENTARIO	25 Sep. 17/1 Jun. 18	Zaragoza	IAMZ
	MICOTOXINAS EN CEREALES PARA ALIMENTACIÓN HUMANA Y ANIMAL: ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL PARA MINIMIZAR LA CONTAMINACIÓN	22-26 Ene. 18	Zaragoza	IAMZ/Agrotecnio
<b>PESCA Y ACUICULTURA</b>	* MÁSTER EN ACUICULTURA	3 Oct. 16/15 Jun. 17	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/IAMZ
	SOLUCIONES TECNOLÓGICAS PARA LA REDUCCIÓN DE DESCARTES DE LA PESCA	20-24 Feb. 17	Zaragoza	IAMZ/UE- Proyecto MINOUW
	EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD DE PRODUCTOS DEL MAR	24-28 Abr. 17	Derio	IAMZ/AZTI-Tecnalia/ FAO
	* MÁSTER EN GESTIÓN PESQUERA SOSTENIBLE	10 Oct. 17/15 Jun. 18	Alicante	UA/IAMZ/MAPAMA/ FAO-CGPM
	MONITORIZACIÓN DE LOS EFECTOS AMBIENTALES DE LA ACUICULTURA	18-22 Sep. 17	Zaragoza	IAMZ
	AVANCES EN REPRODUCCIÓN DE PECES Y SU APLICACIÓN AL MANEJO DE REPRODUCTORES	19-23 Feb. 18	Castellón	IAMZ/CSIC-IATS
	ANÁLISIS DE LOS IMPACTOS BIOECONÓMICOS DE LOS DESCARTES DE LA PESCA	9-13 Abr. 18	Zaragoza	IAMZ/UE- Proyecto MINOUW

**Información e inscripción.** Los folletos informativos de cada curso se editan 6-8 meses antes de la fecha de inicio. Dichos folletos pueden solicitarse a la dirección del IAMZ u obtenerse directamente de la página web, dónde se indica además el procedimiento para realizar la solicitud:

### 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)



# AIDA

Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario  
[www.aida-itea.org](http://www.aida-itea.org)



Universidad Zaragoza



UNIÓN EUROPEA  
Fondo Europeo de  
Desarrollo Regional



GOBIERNO DE ARAGON

Departamento de Innovación,  
Investigación y Universidad