

AIDA

Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

XVIII Jornadas sobre Producción Animal

(2019)



ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO (AIDA)

XVIII JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL

7 y 8 de mayo de 2019

Zaragoza

COLABORAN:

Gobierno de Aragón

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA)

Universidad de Zaragoza

Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (IAMZ)

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2)

Instituto Universitario de Ciencias Ambientales (IUCA)



Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

Título: XVIII Jornadas sobre Producción Animal

Edita: Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

Textos: Autores

Colección: Congresos y Jornadas

Serie: Producción Animal

Editores:

Mireia Blanco Alibés
Alfonso Abecia Martínez
Alberto Bernués Jal
Jorge Hugo Calvo Lacosta
M^a Ángeles Latorre Górriz
Sandra Lobón Ascaso
Daniel Martín Collado
Jorge Palacio Liesa
Guillermo Ripoll García

Secretario administrativo: Joaquín Moreno Miguel

Foto portada: Carlos Palacios

XVIII Jornadas sobre Producción Animal	DIRECCIÓN Y REDACCIÓN Montañana, 930 - Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)	ISBN: 978-84-09-10960-9 Depósito legal: Z-818-2019 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**

PATROCINADORES



COLABORADORES



PRÓLOGO

Este año tienen lugar las XVIII Jornadas sobre Producción Animal, que constituyen uno de los principales fines de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA).

El sector de la producción animal se enfrenta a situaciones de gran incertidumbre, ante las cuales los investigadores y técnicos tenemos la oportunidad de contribuir en la búsqueda de respuestas y alternativas. Su futuro está condicionado por 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, el previsible aumento de la variabilidad climática 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, los cambios socio-culturales de la población, como la creciente preocupación por la salud y por las cuestiones éticas, generan un gran impacto en estos sistemas. De igual forma, los cambios en las políticas agrarias, 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. Por todo ello, es necesario que la investigación e innovación en producción animal avance hacia modelos de producción sostenibles desde una perspectiva medioambiental, social y económica.

La mayoría de las cuestiones mencionadas se abordan en estas Jornadas, a través de las 235 comunicaciones que se han presentado en las secciones organizadas sobre los Sistemas de Explotación, Nutrición-Alimentación, Reproducción, Genética, Calidad de los Productos y Sanidad y Bienestar Animal. La ponencia inaugural “Retos de la Agencia Estatal de Investigación” nos dará ideas del futuro de la investigación a nivel estatal. El número de comunicaciones que se han presentado se mantiene con 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 presenta además una ponencia invitada.

Las jornadas se han consolidado con los años como un lugar de encuentro para los investigadores de Producción Animal. Queremos agradecer las contribuciones de todos los participantes de estas Jornadas, que asegurarán el éxito de las mismas y contribuyeron a su consolidación como referente en el ámbito de la investigación y la transferencia en Producción Animal. La implantación de los premios al mejor investigador joven en cada sección persigue animarlos a incorporarse a la carrera investigadora, fomentando la excelencia en su trabajo.

Así mismo, es imprescindible agradecer la colaboración de todas las personas que aseguran la celebración de estas Jornadas, en particular al comité de organización formado por Marga, Isabel y Albi, a los coordinadores de las secciones, Alberto, Alfonso, Daniel, Guillermo, Jorge, Jorge Hugo, M^a Ángeles y Sandra, a la Junta de AIDA, a Joaquín y María, 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 al Dr. Enrique Playán, director de la Agencia Española de investigación, por aceptar la invitación para impartir la ponencia inaugural. Y, por último, a todas las instituciones, organismos y empresas que han colaborado en la organización y financiación de estas Jornadas, en especial, al CITA, al IAMZ y a la Universidad de Zaragoza.

MIREIA BLANCO ALIBÉS
Secretaria de las XVIII Jornadas sobre Producción Animal

XVIII JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL

Martes, 7 de mayo de 2019

	Sistemas de explotación:	Nutrición-Alimentación		Reproducción	Genética	Calidad	Sanidad y Bienestar animal
		Rumiantes	Monogástricos				
<i>lugar</i>	Aula C	Aula A	Sala 1	Aula B	Salón de actos	Aula D	Sala 1
8:30-9:00		Entrega de documentación					
9:00-10:00		Cebo de terneros (4c) Mod. M. Devant	Miscelánea (4c) Mod. M. Gómez		Selección genómica (4c) Mod. M. Saura	Factores <i>antemortem</i> I (4c) Mod. V. Resconi	
10:00-10:30		<i>café</i>					
10:30-12:00	Ponencia inaugural "Retos de la Agencia Estatal de Investigación": Ponente: Dr. E. Playan. Director de la Agencia Estatal de Investigación						
<i>lugar</i>	Aula C	<i>biblioteca IAMZ</i>	Aula A	Aula B	Salón de actos	Aula D	Sala 1
12:00-14/14:30	Economía y uso de recursos (5c) Mod. M.J. Milán	Pósteres (14c)	Cerdas reproductoras y lechones (8c) Mod. A. Certisuelo	Manejo e inseminación artificial (8c) Mod. A. Sanz	Genética de poblaciones (5c) Mod. P. Hernández <i>biblioteca IAMZ</i>	Factores <i>antemortem</i> II (9c)	Bienestar animal (6c) Mod. Villagrà
14/14:30-15:30	<i>comida</i>	<i>comida</i>	<i>comida</i>	<i>comida</i>	Pósteres (8c) <i>comida</i>	Mod. D. Tejerina <i>comida</i>	<i>comida</i>

Martes, 7 de mayo de 2019

	Sistemas de explotación:	Nutrición-Alimentación		Reproducción	Genética	Calidad	Sanidad y Bienestar animal
		Rumiantes	Monogástricos				
<i>Lugar</i>	Aula C	Aula A		Aula B	Salón de actos	Aula D	<i>Sala 1</i>
15:30-16:30	Medioambiente I: Sostenibilidad (4c) Mod. T. Rodríguez	Fermentación <i>in vivo</i> (4c) Mod. M. Fondevila		Semen I (4c) Mod. R. Pérez	Mejora genética de monogástricos (4c) Mod. M. Piles	Factores <i>postmortem</i> I (4c) Mod. N. Aldai	Sanidad animal I (4c) Mod. X. Averós
16:30-17:00				<i>pausa</i>			
17:00-19:00	Varios sector lechero (5c) Mod. D. Yáñez-Ruiz	Rendimientos y metabolitos (7c) Mod. M. Joy		Semen II (6c) Mod. J. Yáñez	Ponencia J. Estellé Metodología (4c) Mod. J.P. Sánchez	Factores <i>postmortem</i> II (6c) Mod. V. Sarríes	Sanidad animal II (8c) Mod. F. Carrera.
19:00				<i>vino de AIDA</i>			

Miércoles, 8 de mayo de 2019

	Sistemas de explotación: Gestión-economía	Nutrición-Alimentación		Reproducción	Genética	Calidad	Sanidad y Bienestar animal
		Rumiantes	Monogástricos				
<i>lugar</i>	Aula C	Aula A	Sala 1	Aula B	Biblio IAMZ	Biblioteca IAMZ	
9:00-10:30	Mediambiente II: Emisiones (5c)	Producción y calidad de la leche (6c)		Embriones (5c)	Pósteres (8c) Salón de actos Mejora genética de rumiantes (4c)	Pósteres (8c)	
10:30-11:00	Mod. T. Rodríguez	Mod. F. Vicente		Mod. A. Casao	Mod. A. Legarra		
<i>café</i>							
<i>lugar</i>	Aula C	Aula A	Aula B		Salón de actos	Aula D	
11:00-12:30	Caracterización productiva (5c) Mod. R. Ruiz	<i>In vitro</i> I (6c) Mod. A. Belanche	Cerdos de cebo I (5c) Mod. S. Martín-Ortúe		Transcriptoma (5c) Mod. I. Martín-Burriel	Miscelánea (4c) Mod. M. Blasco	
12:30-14/14:30		<i>In vitro</i> II: Subproductos (5c) Mod. P. G. Torral	Cerdos de cebo II (5c) Mod. I. Fdez-Figares		Gen candidato y GWAS (5c) Mod. R. Ros-Freixedes	Consumidores (5c) Mod. M. Font-i-Furnols	
14:30-15:30							
<i>comida</i>							
15:30-17:00		Relación alimentación-sanidad (5c) Mod. E. Albanell	Avicultura (6c) Mod. M. García		Secuenciación de genoma completo (5c) Mod. J. J. Arranz	Metodología (4c) Mod. C. Sañudo	
17:15				Asamblea AIDA			

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

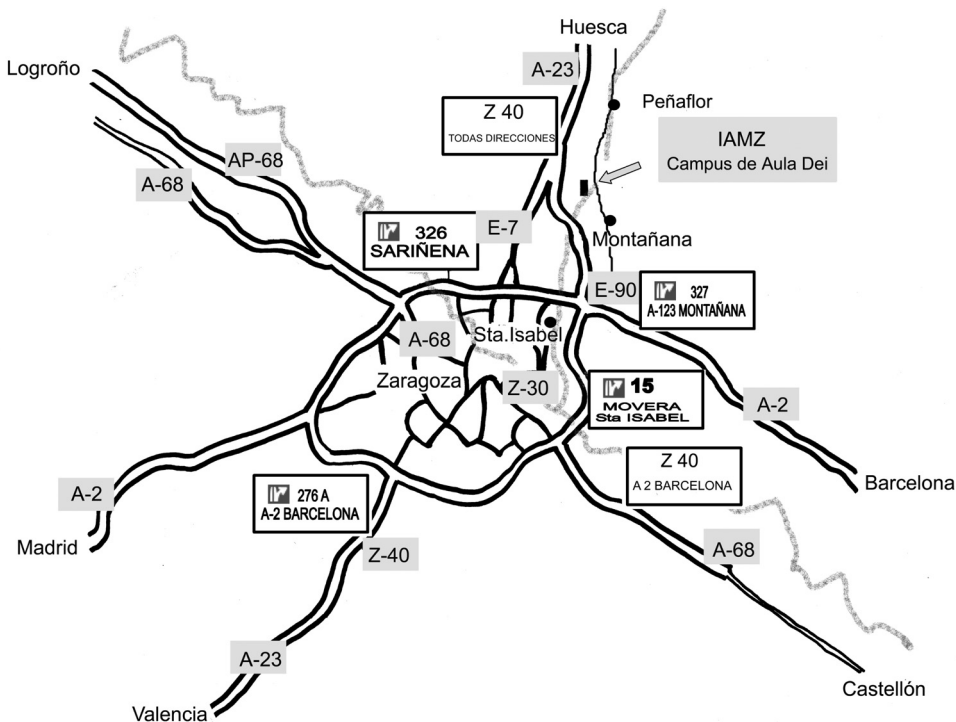
- En la a-68, tomar la dirección A-2 dirección Barcelona
- Seguir por la Z-40 hasta llegar a la salida 15 Movera-Santa Isabel
- En Santa Isabel tomar la A-123 Montañana

BARCELONA

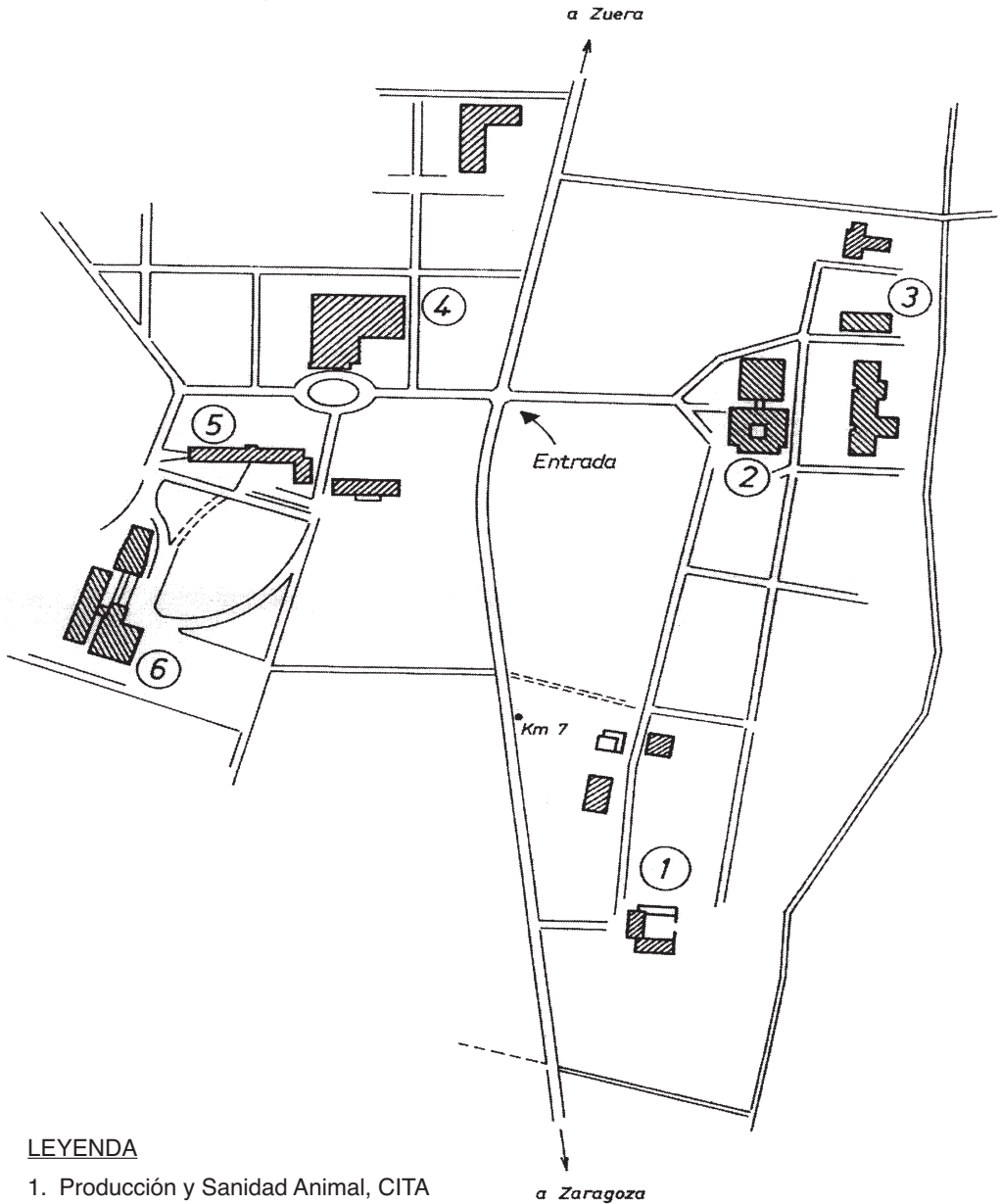
- En la A-2 tomar la salida 327 y seguir la indicación de la A-123 Montañana

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: Economía y uso de recursos

- RELACIÓN DE INDICADORES ESTRUCTURALES CON RESULTADOS ECONÓMICOS DE LAS EXPLOTACIONES OVINAS DE CARNE EN ARAGÓN. Chekmam, L., Maza, M.T. y Pardos, L. 3
- CARACTERIZACIÓN DE EXPLOTACIONES BOVINAS DEL CHACO PARAGUAYO. González, G.E. y Milán, M.J. 6
- LA PRODUCCIÓN AGROPECUARIA EN EL ENTORNO DEL PARQUE NACIONAL DE LA PENEDA-GERES. Vale, A., Sá, C., Silva, Simão Gomes, A., Nunes, F., César, J. y Afonso, I. 9
- ANALISIS DE LOS REBAÑOS DE LA CAPV ADSCRITOS A LA DOP IDIAZABAL CON RELACION A LA UTILIZACION DE ALIMENTOS DE LA ZONA PROTEGIDA. Ruiz, R., Goiri I., Mandaluniz, N., Arranz, J., García-Rodríguez, A. y Molina M. 12
- EL COMERCIO INTERNACIONAL DE PRODUCTOS CÁRNICOS Y LA SIMILITUD CON LAS NORMAS TÉCNICAS Y SANITARIAS DE LA UE. Sanjuán, A.I. y Peci, J. . . 15

Sistemas: Medioambiente (I): Sostenibilidad de sistemas ganaderos

- BIODIVERSIDAD ASOCIADA A LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN CON OVINO EN PORTUGAL. Fernandes, E., Cadavez, V., Celaya, R., Gonzales-Barron, U., Cerqueira, J.L. y García, R. 18
- ESTRUCTURA Y RESULTADO ECONÓMICO DE EXPLOTACIONES DE VACUNO ECOLÓGICO DE EXTREMADURA. Horrillo, A., Gaspar, P., Mesías, F.J., Escribano, M., Elghannam, A. y Eldesouky, A. 21
- LA INVESTIGACIÓN PARTICIPATIVA COMO MÉTODO PARA POTENCIAR LA GANADERÍA ECOLÓGICA EN SISTEMAS AGROFORESTALES DE DEHESA: FACTORES LIMITANTES. Horrillo, A., Gaspar, P., Mesías, F.J., Escribano, M., Elghannam, A. y Romero-Fernández, M.P. 24
- LA INVESTIGACION PARTICIPATIVA COMO MÉTODO PARA POTENCIAR LA GANADERÍA ECOLÓGICA EN SISTEMAS AGROFORESTALES DE DEHESA: PROPUESTAS DE MEJORA. Horrillo, A., Gaspar, P., Mesías, F.J., Escribano, M., Elghannam, A. y Romero-Fernández, M.P. 27

Sistemas: Varios sector lechero

- EFECTOS DE LA MELATONINA EN OVEJAS LECHERAS AL INICIO DE LA LACTACIÓN. Elhadi, A., Salama, A., Such, X. y Caja, G. 30
- CARACTERÍSTICAS TERMOFISIOLÓGICAS Y VARIACIÓN DE LA RESPUESTA A UN RETO DE ESTRÉS POR CALOR EN UN REBAÑO DE OVEJAS MANCHEGAS. Caja, G., Elhadi, A., González-Luna, S., Cedeño, M., Chaalia, B., Serham, S., Salama, A.A.K. y Such, X. 33
- RELACIÓN ENTRE MICROORGANISMOS AMBIENTALES DE LA GANADERÍA Y DE LA LECHE DE TANQUE. Quintana, A.R., Jiménez, L., Pérez-Guzmán, M.D., Garzón, A.I., Seseña, S., Palop, M.LI. y Arias, R. 36

- RÉGIMEN ALIMENTARIO Y TIEMPO DE PREPARACIÓN DE LAS RACIONES UNIFEED (TMR) EN VACAS LECHERAS. Cerqueira, J.O.L., Faria, M.F.C.G., Morgado, E., Blanco-Penedo, I., Cantalapiedra J. y Araújo, J.P. 39
- ANÁLISIS BIG DATA DE REGISTROS PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS INDIVIDUALES DE VACAS LECHERAS. López-Suárez, M., Henarejos, L., Calsamiglia, S. y Castillejos, L. 42

Sistemas: Medioambiente (II): Impacto y emisiones

- ANÁLISIS DE HUELLA DE CARBONO EN EXPLOTACIONES OVINAS DE CARNE Y LECHE EN EXTREMADURA. Eldesouky, A., Escribano, M., Elghannam, A., Horrillo, A., Gaspar, P. y Mesías, F.J. 45
- ESTIMACIÓN DE EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN PEQUEÑA ESCALA EN EL ALTIPLANO CENTRAL DE MÉXICO. Prospero-Bernal, F., López-González, F., Martínez-García, C.G., Flores-Calvete, G. y Arriaga-Jordán, C.M. 48
- EFECTO DEL TIPO DE ALOJAMIENTO (CUBÍCULOS CONVENCIONALES VS LECHO COMPOSTANTE) Y TEMPERATURA SOBRE LA PRODUCCIÓN DE N EN LAS DEYECCIONES EN VACUNO LECHERO. Seradj, A.R., Costa, S., Maynegre, J., Alonso, L., Navarro, L., Villalba, D. y Balcells, J. 51
- CUANTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PURINES PORCINOS EN EXPLOTACIONES DE ENGORDE. Parera, J., Ortiz, C., Murillo, G., Canut, N., Tugues, J. y Puigpinós, E. 54
- CARACTERIZACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE SISTEMAS DE SEPARACIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO PARA LA GESTIÓN DE LOS PURINES EN EXPLOTACIONES PORCINAS. Parera, J., Bonmatí, A., Riau, V., Burgos, L. y Ortiz, C. 57

Sistemas: Caracterización productiva

- CARACTERIZACIÓN PRODUCTIVA (HUEVOS) EN LAS RAZAS AVÍCOLAS AUTÓCTONAS PORTUGUESAS. Brito, N.V., Lopes, J.C. y Ribeiro, V.A. 60
- CARACTERIZACIÓN PRODUCTIVA (CRECIMIENTO) EN TRES RAZAS AVÍCOLAS AUTÓCTONAS PORTUGUESAS. Brito, N.V., Lopes, J.C., Sarandão, M.S. y Ribeiro, V.A. 63
- ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO DE CORDEROS DE LAS RAZAS CHURRA-GALEGA-BRAGANÇANA Y BORDALEIRA-DE-ENTRE-DOURO-EMINHO. Cruz, B.C., Cerqueira, J., Araújo, J.P., Gonzales-Barron, U. y Cadavez, V. . . . 66
- EFECTO DE LA RAZA Y LA EDAD DE SACRIFICIO SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS, DE CANAL Y CALIDAD DE LA CARNE EN TERNEROS ALIMENTADOS CON DIETAS RICAS EN CONCENTRADO. Verdú, M., González, J., Font, M., Cucurull, J. y Devant, M. 69
- CARACTERIZACIÓN DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA Y COMPORTAMIENTO ANIMAL SEGÚN EL SISTEMA PRODUCTIVO DE CEBO INTENSIVO DE TERNEROS ALIMENTADOS CON DIETAS RICAS EN CONCENTRADO. Verdú, M., Cucurull, J., Martí, S. y Devant, M. 72

NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN

Nutrición y alimentación: Cebo de terneros

- EFECTO DEL SISTEMA DE ALIMENTACIÓN SOBRE LA CONDUCTA ALIMENTARIA, SELECCIÓN DE INGREDIENTES, COMPORTAMIENTO ANIMAL, PH Y SALUD RUMINAL EN TERNEROS ANGUS ALIMENTADOS CON DIETAS RICAS EN CONCENTRADO. Genís, S., Verdú, M., Cucurull, J. y Devant, M. 77
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE PULPA DE REMOLACHA EN LA RACIÓN DURANTE LA TRANSICIÓN AL CEBO EN TERNEROS DE CARNE. Yuste, S., Amanzougarene, Z., Fondevila, M. y de Vega, A. 80
- EVOLUCIÓN DE LA POBLACIÓN MICROBIANA RUMINAL DE TERNEROS PASTEROS DURANTE EL PERÍODO DE TRANSICIÓN AL CEBO INTENSIVO. Yuste, S., Amanzougarene, Z., de la Fuente, G., Fondevila, M. y de Vega, A. 83
- IMPACTO DEL NIVEL DE PROTEÍNA Y DEL TIPO DE FORRAJE SOBRE LA MICROBIOTA RUMINAL EN TERNEROS DE ENGORDE. Costa, S., de la Fuente, G., Llanes, N., Balcells, J., Mora, J. y Villalba, D. 86

Nutrición y alimentación: Miscelánea

- EFECTO DEL NIVEL DE FIBRA INSOLUBLE Y SOLUBLE SOBRE LA CANTIDAD DE FIBRA FERMENTADA A NIVEL ILEAL, CECAL Y FECAL EN GAZAPOS EN CRECIMIENTO. Farias, C., Feijoo, D., Gratta, F., Brambillasca, S., Ocasio-Vega, C., Nicodemus, N., Carabaño, R. y García, J. 89
- OPTIMIZACIÓN PROTEICA USANDO EL CONEJO COMO MODELO: HACIA UNA PRODUCCIÓN MÁS SOSTENIBLE EN LA CONTAMINACIÓN POR NITRÓGENO. Marín-García, P.J., López, M.C., Ródenas, L., Martínez-Paredes, E., Blas, E. y Pascual, J.J. 92
- VALORACIÓN DE LA CAPACIDAD DE CIERTOS ADSORBENTES DE MICOTOXINAS DE SECUESTRAR AMINOÁCIDOS. Kihal, A., Rodríguez-Prado, M. y Calsamiglia, S. 95
- VALORACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ALGUNOS ADSORBENTES DE MICOTOXINAS DE SECUESTRAR VITAMINAS HIDROSOLUBLES Y LIPOSOLUBLES. Kihal, A., Rodríguez-Prado, M. y Calsamiglia, S. 98

Nutrición y alimentación: Cerdas reproductoras y lechones

- IMPACTO DE DISTINTOS ADITIVOS (ÁCIDOS + PREBIÓTICO) SOBRE EL RENDIMIENTO DE LECHONES DURANTE LA FASE DE TRANSICIÓN. de Mercado, E., Ciruelos, J.J., Tepstad, J., Ruiz, I., Mereu, A., Ipharraguerre, I.R. y Gómez-Izquierdo, E. . . 101
- LA SUPLEMENTACIÓN DIETÉTICA CON EL EXTRACTO DE LA PARED CELULAR DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE MODULA ALGUNOS INDICADORES BIOLÓGICOS DE CERDOS DESTETADOS. Martínez, Y., Cai, Y. y Liu, G. 104
- EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE ÓXIDO DE ZINC POR UNA COMBINACIÓN DE MONOGLICÉRIDOS DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA MEDIA Y ÁCIDOS ORGÁNICOS. Miranda, L., Fuentetaja, A., González, V. y García, M. 107
- EFECTO DE LA FUENTE Y NIVEL DE COBRE EN EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y ESTATUS MINERAL EN LECHONES DESTETADOS. Villagómez-Estrada, S., Solà-Oriol, D., van Kuijk, S., Melo-Durán, D. y Pérez, J.F. 110
- UN AMBIENTE ENRIQUECIDO DURANTE EL PERIODO DE LACTACIÓN ES CAPAZ DE MODIFICAR LA MICROBIOTA DEL LECHÓN TRAS EL DESTETE. Saladrigas-García, M., Heng-Lun, K., Llonch, P., Pérez, J.F. y Martín-Orúe, S.M. 113

- EVALUACION A LARGO PLAZO DE LA ADMINISTRACION DE DOS CEPAS PROBIÓTICAS DE BACILLUS SP. EN EL RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE CERDAS COMERCIALES Y SU MICROBIOTA INTESTINAL. Saladrigas-García, M., Solà-Oriol, D., López-Vergé, S., Nielsen, B., Pérez, J.F. y Martín-Orúe, S.M. 116
- ADITIVOS FITOGÉNICOS EN CERDAS HIPERPROLÍFICAS: EFECTOS SOBRE SUS PARÁMETROS PRODUCTIVOS, LA COMPOSICIÓN DEL CALOSTRO Y LECHE, Y LA TRANSFERENCIA MATERNA DE COMPUESTOS. Reyes-Camacho, D., Calvo, M.A., Pérez, J.F. y Solà-Oriol, D. 119
- PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE CERDAS IBÉRICAS EN LACTACIÓN ALIMENTADAS CON DIETAS DE DISTINTA CONCENTRACIÓN PROTEICA. Lachica, M., Fernández-Figares, I., Seiquer, I., Lara, L., Sánchez-Esquiliche, F., Gómez-Carballar, F., Pariente, J.M. y Nieto, R. 122

Nutrición y alimentación: Pósteres

- EFECTO DE FACTORES MATERNOS (EDAD Y METABOLISMO) Y NÚMERO Y PESO DE LOS CORDEROS SOBRE EL NIVEL DE PRODUCCIÓN LECHERA SUBSIGUIENTE. Pesántez Pacheco, J.L., Heras Molina, A., Torres Rovira, L., Sanz Fernández, M.V., García Contreras, C., Vázquez Gómez, M., Feyjoo, P., Cáceres, E., Mateos, M., Hernández, F., Vázquez Mosquera, J., Martínez Ros, P., González Martín, J.V., González Bulnes, A. y Astiz, S. 125
- EMPLEO DE SALES CÁLCICAS DE ÁCIDOS GRASOS N-3 EN LA RACIÓN DE OVEJAS CHURRAS: EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE, EL CRECIMIENTO Y LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE LOS LECHAZOS. Gallardo, B., Lavín, P., Mantecón, A.R. y Manso, T. 128
- RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LECHE DE OVEJAS ALIMENTADAS CON LINAZA (ACEITE VS. SALES CÁLCICAS). Manso, T., Gallardo, B., Gómez-Cortés, P., Lavín, P. y Mantecón, A.R. 131
- EFECTOS DE LA LEVADURA COMO SUPLEMENTO EN EL ALIMENTO DE CORDEROS EN TÚNEZ SOBRE LOS RENDIMIENTOS DE CRECIMIENTO. Maamouri, O. y Badri, I. 134
- COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA DE LA PULPA DE TOMATE. Marcos, C.N., de Evan, T., Molina-Alcaide, E. y Carro, M.D. 137
- EFECTO DE LA ADICIÓN DE ORUJO DE UVA DESECADO A UN CONCENTRADO TIPO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*. Barraso, C., Carracedo, V., López, M^a.M., Pascual, M.R. y Rodríguez, P. 140
- INFLUENCIA DE LA PROTECCIÓN DE LA PROTEÍNA DE GIRASOL (SEMILLA Y HARINA) EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS BACTERIAS RUMINALES. Haro, A.N., de Evan, T., Carro, M.D. y González, J. 143
- INFLUENCIA DE LA PROTECCIÓN DE LA PROTEÍNA DE GIRASOL EN LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y CECAL DE CORDEROS DE CEBO. Haro, A.N., González, J., de la Fuente, J., de Evan, T. y Carro, M.D. 146
- RELACIÓN ENTRE LA EFICIENCIA ALIMENTARIA Y LA DIVERSIDAD BACTERIANA DEL RUMEN EN OVEJAS EN LACTACIÓN: ESTUDIO PRELIMINAR. Toral, P.G., Belenguer, A., Hervás, G., Yáñez-Ruiz, D. y Frutos, P. 149
- EFECTO DE UNA DIETA RICA EN OLEÍNAS SOBRE EL PERFIL GRASO DE LA LECHE DE MADRES BOVINAS DE RAZAS CÁRNICAS Y LA INFLUENCIA DEL NÚMERO DE PARTOS Y DÍAS EN LACTACIÓN. Vázquez Mosquera, J., Villagrà, A., Gar-

dón, J.C., Pesántez-Pacheco, J.L., Martínez, D., Heras-Molina, A., González-Martín, J.V., Sebastián, F. y Astiz, S.	152
– EFECTO DEL NIVEL DE LA PROTEÍNA BRUTA SOBRE EL ESTADO METABÓLICO EN CORDEROS LIGEROS. Joy, M., Lobón, S., Blanco, M., Casasús, I., Baila, C., Bertolín, J.R. y Álvarez-Rodríguez, J.	155
– COMPARATIVA ENTRE TÉCNICAS NO INVASIVAS PARA LA MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE METANO EN EXPLOTACIONES COMERCIALES DE BOVINO LECHERO. Rey, J., Atxaerandio, R., Ruiz, R., Ugarte, E., González-Recio, O., García-Rodríguez, A. y Goiri, I.	158
– ANÁLISIS COMPARATIVO DEL USO DE ENERGÍA EN CAMELIDOS SUDAMERICANOS Y RUMIANTES. Vélez, V., Moscoso, J. y Estellés, F.	161
– APLICACIÓN DE SENSORES DE RADIOFRECUENCIA A LA MEDIDA DEL EFECTO DEL AGUA BEBIDA EN LA TEMPERATURA RUMINAL DE OVEJAS ADULTAS. Bourahla, S.M., Castro-Costa, A., Oliver, J., Ferrer, C., Salama, A.A.K. y Caja, G.	164
Nutrición y alimentación: Fermentación <i>in vivo</i>	
– METABOLISMO NITROGENADO EN CORDEROS ALIMENTADOS CON RACIÓN TOTALMENTE MEZCLADA (AMILÁCEA O FIBROSA) Y SUPLEMENTADOS CON ALFALFA FRESCA. Fernández-Turren, G., Repetto, J.L., Arroyo, J.M., Pérez-Ruchel, A., Kozloski, G.V. y Cajarville, C.	167
– OPTIMIZACIÓN DE LA PROTEÍNA BRUTA DEL PIENSO DE CEBO DE CORDEROS LIGEROS DE RAZA RASA ARAGONESA. Baila, C., Blanco, M., Casasús, I., Lobón, S. y Joy, M.	170
– ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE ANIMALES ADULTOS CON CABRITOS DURANTE LA LACTANCIA SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL. Palma-Hidalgo, J.M., Arbaoui, A., Martín-García, A.I., Yáñez-Ruiz, D.R. y Belanche, A.	173
– EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE MICROBIOTA RUMINAL A EDADES TEMPRANAS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y FERMENTACIÓN RUMINAL DURANTE LA PRIMERA LACTACIÓN. Belanche, A., Palma-Hidalgo, J.M., Martín-García, A.I. y Yáñez-Ruiz, D.R.	176
Nutrición y alimentación: Rendimientos y metabolitos	
– EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE SOJA POR UREA EN LA DIETA DE CORDEROS PESADOS DE RAZA ASSAF DURANTE EL CEBO. Martín, A., Saro, C., Mateo, J., Andrés, S., Bodas, R., López, S. y Giráldez, F.J.	179
– EFECTO DEL NIVEL DE PROTEÍNA BRUTA EN EL PIENSO DE CEBO DE CORDEROS SOBRE SUS RESULTADOS PRODUCTIVOS. Pelegrin, J., Villalba, D., Molina, E., Serrano-Pérez, B., Espinal, J., Joy, M. y Álvarez-Rodríguez, J.	182
– EFECTO DE LA HORA DEL DÍA SOBRE LOS CATABOLITOS DE PROTEÍNA EN CORDEROS CON DISTINTO NIVEL DE PROTEÍNA BRUTA EN EL PIENSO. Pelegrin, J., Serrano-Pérez, B., Villalba, D., Molina, E. y Álvarez-Rodríguez, J.	185
– EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES EN LA ALIMENTACIÓN DE CORDEROS DE CEBO. De Evan, T., Cabezas, A., de la Fuente, J. y Carro, M.D.	188
– FACTORES MATERNALES (NIVEL DE PRODUCCION) Y EL EFECTO SOBRE EL PESO AL NACIMIENTO DE SUS CORDEROS EN OVEJAS LECHERAS. Pesántez Pacheco, J.L., Heras Molina, A., Torres Rovira, L., Sanz Fernández, M.V., García Contreras, C., Vázquez Gómez, M., Feyjoo, P., Cáceres, E., Mateos, M., Hernández, F., Vázquez Mosquera, J., Martínez Ros, P., González Martín, J.V., González Bulnes, A. y Astiz, S.	191

- RESPUESTA PRODUCTIVA Y METABÓLICA DE VACAS NODRIZAS ANTE UNA SUBNUTRICIÓN BREVE E INTENSA AL INICIO DE LA LACTACIÓN. Orquera, K., Blanco, M., Bertolín, J.R., Ferrer, J. y Casasús, I. 194
- FUNCIONALIDAD INTESTINAL Y CRECIMIENTO DE TERNERAS ALIMENTANDAS CON LECHE EN POLVO ENRIQUECIDA EN ÁCIDO GLUTÁMICO. Terré, M., Ahan-garhani, M., Vidal, M., Bach, A., Valent, D., Ruiz-Herrera, S. y Bassols, A. 197

Nutrición y alimentación: Producción y calidad de la leche

- INFLUENCIA DEL TIPO DE ENSILADO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE DE VACA CON Y SIN PASTOREO. De la Torre-Santos, S., Royo, L.J., Martínez-Fernández, A. y Vicente, F. 200
- OPTIMIZACIÓN DEL APORTE DE PROTEÍNA EN LA DIETA DE VACUNO LECHERO PARA MEJORAR LA GESTIÓN DE PURINES COMO FERTILIZANTE AGRÍCOLA. Eloua-daf, D., Martínez-Fernández, A., Soldado, A., Jiménez-Calderón, J.D. y Vicente, F. . . . 203
- EFECTO DE LA UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES EN DIETAS PARA CAPRINO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE. Marcos, C.N., Carro, M.D., Fernández-Yepes, J. y Molina-Alcaide, E. 206
- ALIMENTACIÓN DE OVINO LECHERO CON TORTA DE COLZA PENSADA EN FRÍO FUERA DE LA FORMULACIÓN DEL PIENSO. Mandaluniz, N., Díaz de Otálora, X., Arranz, J., García-Rodríguez, A. y Ruiz, R. 209
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE POSOS DE CAFÉ EN LA DIETA DE OVEJAS DE RAZA LATXA SOBRE LA PRODUCCIÓN LECHERA, EL COMPORTAMIENTO ALI-MENTARIO Y LA FERMENTACIÓN RUMINAL. Díaz de Otálora, X., Ruiz, R., Goiri, I., Rey, J., Atxaerandio, R. y García-Rodríguez, A. 212
- SÍNTESIS ENDÓGENA DEL ÁCIDO RUMÉNICO (C9T11-CLA) DE LA LECHE: CUANTIFICACIÓN EN OVEJAS MEDIANTE EL USO DE TRAZADORES ISOTÓPI-COS. Toral, P.G., Frutos, P., Belenguer, A. y Hervás, G. 215

Nutrición y alimentación: *In vitro* I

- VALORACIÓN PROTEICA DE HARINAS DE INSECTOS EN LA NUTRICIÓN DE RU-MIANTES: COMPARACIÓN DE MÉTODOS. González-Rosales, G., Frutos, P., Toral, P.G., Belenguer, A., Mendoza, A.G., Fondevila, M. y Hervás, G. 218
- TRATAMIENTO DE LA HARINA DE INSECTOS CON TANINOS: DEGRADACIÓN RU-MINAL Y DIGESTIBILIDAD INTESTINAL EN GANADO OVINO. González-Rosales, G., Frutos, P., Hervás, G., Belenguer, A., Mendoza, A.G., Fondevila, M. y Toral P.G. 221
- EFECTO DE DISTINTAS FRACCIONES DE LA SALIVA DE CABRA SOBRE LA FER-MENTACIÓN RUMINAL. Palma-Hidalgo, J.M., Belanche, A., Martín-García, A.I. y Yáñez-Ruiz, D.R. 224
- EFECTO DE DISTINTOS TIPOS DE ADITIVOS SOBRE LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE CEBADA, EN CULTIVOS SEMICONTÍNUOS. Amanzougarene, Z., Yuste, S., de la Fuente, G., Vega, A. y Fondevila, M. 227
- PATRÓN DE FERMENTACIÓN DE LA FRACCIÓN NEUTRO-DETERGENTE EXTRA-ÍDA DE DISTINTOS INGREDIENTES DE USO POTENCIAL EN DIETAS PARA TER-NEROS DE CEBO. Ortolani, I.R., Amanzougarene, Z. y Fondevila, M. 230
- USO DEL DAPA COMO ÍNDICE CORRECTOR DE LA CONTAMINACIÓN MICRO-BIANA EN EL RESIDUO DE INCUBACIÓN EN DIFERENTES SUBPRODUCTOS PROTEICOS Y AMBIENTES RUMINALES. Seradj, A.R., de la Fuente, G., Villalba, D., Tor, M., García, C., Armengol, R., Costa, S. y Balcells, J. 233

Nutrición y alimentación: Cerdos de cebo I

- EFECTO DE LAS ENZIMAS EXÓGENAS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LA MATERIA SECA DE SUBPRODUCTOS FIBROSOS EN PORCINO: RESULTADOS PRELIMINARES. Ferrer, P. y Cerisuelo, A. 236
- VALOR NUTRICIONAL DE LOS SUBPRODUCTOS DE CAMELINA SATIVA EN PORCINO: RESULTADOS PRELIMINARES. Ferrer, P., Piquer, O., Gómez, E.A., Gasa, J., Cano, J.L. y Cerisuelo, A. 239
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE PULPA DE NARANJA SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS, LOS METABOLITOS FECALES Y EL MICROBIOMA INTES-TINAL EN CERDOS DE ENGORDE. Ferrer, P., Calvet, S., Roca, M., Cambra-López, M. y Cerisuelo, A. 242
- CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN HECES DE CERDOS IBÉRICOS ALIMENTADOS CON ALPERUJO DE DURANTE EL PERIODO DE CRE-CIMIENTO. Palma-Granados, P., García Casco, J.M., Muñoz, M., Fernández Barroso, M.A., López García, A., Muñoz-Mejías, A. y González, E. 245
- LA BETAÍNA AUMENTA LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN CERDO IBÉRICO. Pardo, Z., Lachica, M. y Fernández-Figares, I. . . . 248

Nutrición y alimentación: *In vitro* II: Subproductos

- EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE MAÍZ POR PULPA DE CÍTRICOS EN UNA DIETA PARA OVINO LECHERO SOBRE SU FERMENTACIÓN EN EL SISTEMA RUSITEC. Mateos, I., García-Rodríguez, J., Saro, C., Carro, M.D. y Ranilla, M.J. 251
- UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS EN DIETAS DE OVEJAS LECHERAS: EFECTO SOBRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS RUMINALES. Mateos, I., Saro, C., Carro, M.D. y Ranilla, M.J. 254
- SUBPRODUCTOS DE LA GRANADA EN LA DIETA DE RUMIANTES: CUANDO LOS PROPIOS TANINOS PROTEGEN A LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA BIOHIDROGE-NACIÓN EN EL RUMEN. Natalello, A., Hervás, G., Toral, P.G., Luciano, G., Valenti, B., Mendoza, A.G., Pauselli, M., Priolo, A. y Frutos, P. 257
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE CANTIDADES CRECIENTES DE BRÓCOLI EN DIE-TAS PARA OVINO LECHERO SOBRE SU FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*. De Evan, T., Cevallos, A.C., Marcos, C.N., Ranilla, M.J. y Carro, M.D. 260
- EVALUACIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE ENSILADO DE ORUJO DE UVA ME-DIANTE LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*. Barraso, C., Hernandez, T., López, M^a.M., Chaso, M.A. y Rodríguez, P. 263

Nutrición y alimentación: Cerdos de cebo II

- EFECTO DE LA INMUNOCASTRACIÓN Y LA DIETA SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS, LOS METABOLITOS SÉRICOS Y LA CALIDAD DE LA CANAL DE CERDOS DESTINADOS A JAMÓN DOP TERUEL. Pérez-Ciria, L., Miana-Mena, F.J., Amanzougarene, Z., Yuste, S. y Latorre, M.A. 266
- INTERÉS DEL ALBERJÓN (*VICIA NARBONENSIS*) EN ALIMENTACIÓN DE CERDO GRASO. DATOS PRODUCTIVOS. Gómez-Izquierdo, E., Ciruelos, J.J., Tomás, C., Guillamón, E., Varela, A., Martín-Pedrosa, M., López-Nuez, P., Latorre, M.A. y de Mer-cado, E. 269
- EFECTO DEL TIPO PRODUCTIVO Y NIVEL DE PROTEÍNA DE LA RACIÓN SOBRE EL RITMO FRACCIONAL DE SÍNTESIS PROTEICA EN CERDOS EN CRECI-MIENTO. Sarri, L., Seradj, A.R., Tor, M., de la Fuente, G. y Balcells, J. 272

- DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD $\Delta 9$ -DESATURASA EN CERDOS DUROC MEDIANTE LA ADMINISTRACIÓN DE ÁCIDO ESTEÁRICO DEUTERADO EN LA DIETA. Sarri, L., de la Fuente, G., Seradj, A.R., Estany, J., Pena, R.N., Balcells, J. y Tor, M. 275
- FACTORES QUE AFECTAN A LAS EMISIONES DE AMONIACO Y METANO PROCEDENTES DE PURINES PORCINOS: COMPOSICIÓN DEL PURÍN Y FACTORES NUTRICIONALES. Antezana, W., Cerisuelo, A., Estellés, F. y Calvet, S. 278

Nutrición y alimentación: Relación alimentación-sanidad rumiantes

- EFECTO DE AUMENTAR LA CANTIDAD DE LACTORREEMPLAZANTE SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y SALUD EN TERNEROS FRISÓN LACTANTES. Verdú, M., Grau, J., Gómez, M. y Cucurull, J. 281
- EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON UN POSTBIÓTICO BASADO EN BACTERIAS LÁCTICAS Y LEVADURAS EN EL SISTEMA INMUNE DE TERNERAS LECHERAS DE REPOSICIÓN. Salama, A.A.K. y Rovai, M. 284
- RESPUESTAS A UN RETO CON LPS DE E. COLI DE OVEJAS LECHERAS SUPLEMENTADAS CON DISTINTOS NIVELES DE BETA-GLUCANOS DE CEBADA. Elhadi, A., Guamán, S., Caja, G., y Albanell, E. 287
- ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN DE ESTRÉS POR CALOR EN CABRAS LECHERAS: SUPLEMENTACIÓN CON METIONINA PROTEGIDA. Mehaba, N., Coloma, W., Such, X., Salama, A.A.K. y Caja, G. 290
- EL PERFIL METABOLÓMICO DE SANGRE EN CABRAS LECHERAS SUPLEMENTADAS CON METIONINA BAJO ESTRÉS POR CALOR. Mehaba, N., Coloma García, W., Such, X., Salama, A.A.K. y Caja, G. 293

Nutrición y alimentación: Avicultura.

- EFECTO DE MEZCLAS MICROENCAPSULADAS DE ÁCIDOS ORGÁNICOS Y ACEITES ESENCIALES SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y LA SALUD INTESTINAL DE POLLOS BROILER DESAFIADOS CON ENTERITIS NECRÓTICA. Abdelli, N., Vilarrasa, E., Pérez, J.F. y Solà-Oriol, D. 296
- EVALUACIÓN DE UNA FUENTE DE COLINA NATURAL COMO SUSTITUTIVO DEL CLORURO DE COLINA 60% EN POLLOS DE ENGORDE. de Vega, A., Yuste, S. y Amanzougarene, Z. 299
- EFECTO DE LA SATURACIÓN Y EL NIVEL DE ACIDEZ DE LA DIETA EN EL POLLO DE CARNE. Jiménez-Moya, B., Barroeta, A.C., Tres, A. y Sala, R. 302
- EFECTOS DEL TIPO DE MOLIENDA, TAMAÑO DE PARTICULA Y LA ADICION DE XILANASA EN DIETAS PELETIZADAS DE BASE MAÍZ-SOJA EN EL RENDIMIENTO Y MORFOLOGÍA INTESTINAL EN POLLOS DE ENGORDE. Melo-Durán, D., González-Ortiz, Pérez, J.F., Villagómez-Estrada, S., Graham, H., Sala, R., Bedford, M.R. y Solà-Oriol, D. 305
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE HARINA DE LARVA DE CALLIPHORA SP. EN LA DIETA DE POLLLOS DE CRECIMIENTO LENTO DURANTE EL PRIMER MES DE VIDA EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICA. Sarmiento, A., Palacios, C. y Revilla, I. 308
- DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA Y AMINOÁCIDOS DE LOS SUBPRODUCTOS DE CAMELINA SATIVA EN GALLINAS PONEDORAS: RESULTADOS PRELIMINARES. Peñarritano, E., Piquer, O., Ferrer, P., Gómez, E.A., Cano, J.L. y Cerisuelo, A. 311

REPRODUCCIÓN

Reproducción: Manejo e inseminación artificial

- EVOLUCIÓN PRODUCTIVA DE EXPLOTACIONES LECHERAS A PARTIR DE LA INTRODUCCIÓN DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN PRIMERA INSEMINACIÓN Y DEL SISTEMA DE CAMA VOLTEADA. Feyjoo, P., Pesántez, J., Vázquez, J., Heras-Molina, A., Patrón, R., Pérez, N., González-Martín, J.V., Fargas, O. y Astiz, S. 317
- EFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO EN VACAS SECAS Y SU REPERCUSIÓN EN LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS. Hidalgo-Chiquero, A., Andreu-Vázquez, C. y López-Helguera, I. 320
- EFECTO DE LA SUBNUTRICIÓN DURANTE EL PERIODO PERI-IMPLANTACIONAL SOBRE DE LA EXPRESIÓN DE GENES ESTIMULADOS POR INTERFERON (ISGs) EN VACAS NODRIZAS. EL USO DEL ÁRBOL DE DECISIÓN COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA. López-Helguera, I., Serrano-Pérez B., Molina, E., Noya, A., Sanz, A., Casasús I. y Villalba, D. 323
- LA SUBNUTRICIÓN DURANTE EL PRIMER TERCIO DE GESTACIÓN DE LAS VACAS DISMINUYE LOS RENDIMIENTOS DE LA DESCENDENCIA EN LA LACTACIÓN. Noya, A., Casasús, I., Ferrer, J. y Sanz, A. 326
- EFECTO DEL TIPO DE CIDR Y DE LA ADMINISTRACIÓN DE eCG SOBRE EL DESARROLLO FOLICULAR, EL CELO Y LA FERTILIDAD EN NOVILLAS HOLSTEIN SOMETIDAS A UN PROTOCOLO MODIFICADO DE 5 DÍAS BASADO EN GnRH. Sanz, A., Gobikrushanth, M. y Colazo, M.G. 329
- CONSECUENCIAS DE UNA RESTRICCIÓN PRENATAL DE ALIMENTO SOBRE EL DESARROLLO CORPORAL DE CONEJAS NULÍPARAS. Varona, J., Velasco, B., Sánchez-Rodríguez, A., García-García, R.M., Lorenzo, P.L., Arias-Álvarez, M. y Rebollar, P.G. 332
- EFECTO DE LA DOSIS DE eCG SOBRE LA RESPUESTA REPRODUCTIVA DE OVEJAS DE RAZA RASA ARAGONESA EN PRIMAVERA. Macías, A., Fuertes, A., Lavíña, A., Martín, E., Abecia, J.A., Monteagudo, L.V. y Tejedor, M.T. 335
- EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN CERDAS NULÍPARAS TRAS LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL POSCERVICAL. Suárez, A., Coll, J., Mitjana, O. Tejedor, T. y Falceto, M.V. 338

Reproducción: Semen I

- EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL EN ZÁNGANOS DE APIS MELLIFERA IBERIENSIS. Yániz, J.L., Palacín, I. y Santolaria, P. 341
- ESTUDIO MORFOMÉTRICO DIFERENCIAL DE LAS SUBPOBLACIONES ESPERMÁTICAS EN BOS TAURUS. Palacín, I., Santolaria, P., Alquezar-Baeta, C., Soler, C., Silvestre, M.A. y Yániz, J.L. 344
- ESTADO DE LA CROMATINA ESPERMÁTICA Y RELACIÓN CON LA FERTILIDAD EN CAMPO EN DOSIS SEMINALES CRIOPRESERVADAS DE LA RAZA BOVINA AUTÓCTONA ASTURIANA DE LA MONTAÑA. Salman, A., Caamaño, J.N., Arijá, C., Tamargo, C., Hidalgo, C.O., Fueyo, C., Fernández, A., Merino, M.J. y Martínez-Pastor, F. 347
- EL ÁCIDO GRASO DEL PLASMA SEMINAL NO ES UN BUEN PREDICTOR DE LA CONGELACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES DE EPIDIDIMO DE CABALLO. Vieira, L.A., Matás, C. y Gadea, J. 350

Reproducción: Semen II

- CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD SEMINAL *IN VITRO* Y LA FERTILIDAD *IN VIVO* EN CAPRINO DE RAZA MURCIANO-GRANADINA. Mocé, E., Lozano-Palazón, S.A., Contreras, S.J., Martínez-Granell, M., Villalba, I., Bernácer, J. y Gómez, E.A. 353
- RESPUESTA A UN ESTRÉS OXIDATIVO DE ESPERMATOZOIDES DE CAPRINO TRAS LA CONSERVACIÓN A 4 °C DE DOSIS SEMINALES. Sadeghi, S., García-Colomer, B., Santolaria, P., Peris, C., Pérez-Baena, I., Gómez, E.A., Yániz, J. y Silvestre, M.A. 356
- EFECTO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO RECOMBINANTE DE CONEJO ($rr\beta$ NGF) EN LA DOSIS SEMINAL SOBRE LA RESPUESTA HIPOFISARIA Y REPRODUCTIVA EN CONEJAS NULÍPARAS. Sánchez-Almánzar, V., Sánchez-Rodríguez, A., Velasco, B., Arias-Álvarez, M., Millán, P., Cediell R., Lorenzo, P.L., García-García, R.M. y Rebollar, P.G. 358
- RELACIÓN ENTRE LOS DATOS OBTENIDOS POR ECOGRAFÍA TESTICULAR Y LA CALIDAD SEMINAL EN SEMENTALES OVINOS: RESULTADOS PRELIMINARES. Carvajal-Serna, M., Santorromán, M.J., Barale, J., Macías, A., Quintín, F., Abecia, J.A., Casao, A. y Pérez-Pé, R. 361
- EFECTO DE LA L-CARNITINA EN UN DILUYENTE A BASE DE LECHE DESNATADA EN LA PRESERVACIÓN DE MEMBRANAS Y DE LA ACTIVIDAD CINÉTICA DE ESPERMATOZOIDES DE MORUECO EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN. Galarza, D.A., López-Sebastián, A. y Santiago-Moreno, J. 364
- EFECTO DE LAS HORMONAS ESTEROIDEAS EN LA LOCALIZACIÓN Y LOS NIVELES DE CALCIO INTRACELULAR DURANTE LA CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA OVINA. Gimeno-Martos, S., Miguel-Jiménez, S., Casao, A., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T. y Pérez-Pé, R. 367

Reproducción: Embriones

- RESPUESTA DE CONEJAS NULÍPARAS Y MULTÍPARAS A LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA CON CORIFOLITROPINA ALFA Y SU EFECTO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO TRAS LA CRIOPRESERVACIÓN. Juárez, J.D., García-Domínguez, X., Talaván, A.M., Vicente, J.S., Marco-Jiménez, F. y Viudes de Castro, M.P. 370
- ESTIMULACIÓN CON rFSH-CTP Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PARA LA REFUNDACIÓN DE UNA LÍNEA DE CONEJO SELECCIONADA POR VELOCIDAD DE CRECIMIENTO. Juarez, J.D., Talaván, A.M., García-Domínguez, X., García-Valero, L., Viudes de Castro, M.P., Marco-Jiménez, F. y Vicente, J.S. 373
- DISEÑO DE UN ENSAYO DE PENETRACIÓN HOMÓLOGA EN OVINO USANDO OVOCITOS INMADUROS Y MADURADOS *IN VITRO*. Munuera, C.D., Morató, R., Osuagwuh, U. y Palomo, M.J. 376
- RECOGIDA DE EMBRIONES DEL OVIDUCTO DE CERDAS SACRIFICADAS AL FINAL DE SU ETAPA PRODUCTIVA. Gadea, J., Crespo, S., García-Vazquez, F.A., Navarro-Serna, S., Romero-Aguirregomezcorta, J., Cánovas, S. y Romar, R. 379
- SISTEMA OPTIMIZADO PARA LA PRODUCCIÓN *IN VITRO* DE EMBRIONES PORCINOS Y EFECTO DE LA MICROINYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA EN SU RENDIMIENTO. Navarro-Serna, S., París-Oller, E., Gadea, J. y Romar, R. 381

GENÉTICA

Genética: Selección genómica

- ESTIMACIÓN DE LA VARIANZA ADITIVA Y DE DOMINANCIA EMPLEANDO INFORMACIÓN GENÓMICA PARA CARACTERES DE CRECIMIENTO EN UNA POBLACIÓN DE BOVINOS DE CARNE. García-Baccino, C.A., Lourenco, D., Miller, S., Cantet, R.J.C. y Vitezica, Z.G. 387
- BENEFICIO DE LA EVALUACIÓN GENÓMICA DENTRO DE FAMILIAS EN ESQUEMAS DE ACUICULTURA CON TAMAÑOS FAMILIARES REDUCIDOS. García-Balasteros, S., Fernández, J. y Villanueva, B. 390
- PONDERANDO PANELES DE SNP PARA PREDICCIÓN GENÓMICA POR SIMULATED ANNEALING. Martín De Hijas Villalba, M., Varona, L., Noguera, J.L., Ibáñez-Escriche, N., Rosas, J.P. y Casellas, J. 393
- EVALUACIÓN DE UN ESQUEMA DE SELECCIÓN GENÓMICA EN LA RAZA CAPRINA LECHERA SAANEN FRANCESA. Tadeo-Peralta, E., Raoul, J., Palhière, I., Rodríguez-Ramilo, S.T., Ruiz-López, F.J., Montaldo, H.H. y Elsen, J.M. 396

Genética: Genética de poblaciones y huellas de selección

- ¿TIENE SENTIDO EL CONCEPTO DE CENSO EFECTIVO CON UN MANEJO ÓPTIMO UTILIZANDO INFORMACIÓN MOLECULAR?. Toro, M.A., Villanueva, B. y Fernández, J. 399
- ESTIMAS DE CENSO EFECTIVO HISTÓRICO EN POBLACIONES DE SALMÓN ATLÁNTICO. Saura, M., Caballero, A., Santiago, E., Chtioui, A., Morán, P. y Villanueva, B. 402
- CONSANGUINIDAD Y CENSO EFECTIVO DE POBLACIÓN EN LA RAZA OVINA DE LECHE LATXA CARA NEGRA. Granado-Tajada, I., Rodríguez-Ramilo, S.T., Legarra, A. y Ugarte, E. 405
- IDENTIFICACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS POR DETECCIÓN DE HUELLAS DE SELECCIÓN PARA GRASA INTRAMUSCULAR EN LÍNEAS DE CONEJO. Sosa-Madrid, B.S., Varona, L., Hernandez, P., Ibáñez-Escriche, N., Casto-Rebollo, C. y Blasco, A. 408
- RESULTADOS DE UN PANEL DE SNP DE TRAZABILIDAD RACIAL IBÉRICO-DURO PARA LA APLICACIÓN DE LA NORMA DE CALIDAD. Caraballo, C., Muñoz, M., Delgado-Chavero, C., González, M. y García-Casco, J.M. 411

Genética: Pósteres

- EFECTO DE LA SELECCIÓN POR VARIANZA AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA SOBRE LA SUPERVIVENCIA Y EL PESO PREDESTETE EN CONEJOS. Agea, I., Galindo, J., García, M.L., Blasco, A. y Argente, M.J. 414
- RESPUESTA CORRELACIONADA A LA SELECCIÓN POR VARIANZA AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA SOBRE LA CONDICIÓN CORPORAL DE LA CONEJA. Agea, I., García, M.L., Blasco, A. y Argente, M.J. 417
- HUELLAS DE SELECCIÓN EN UN EXPERIMENTO DE SELECCIÓN DIVERGENTE POR VARIANZA AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO. Casto-Rebollo, C., Varona, L., Argente, M.J., García, M.L., Sosa-Madrid, B.S., Blasco, A. e Ibáñez-Escriche, N. 420
- ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE DIFERENCIAS EN LONGEVIDAD REPRODUCTIVA ENTRE DOS LÍNEAS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE PARA VARIABILIDAD DEL PESO AL NACIMIENTO EN RATONES. Formoso-Rafferty, N., Gutiérrez, J.P. y Cervantes, I. 423

- DETECCIÓN DE REGIONES GENÓMICAS ASOCIADAS AL CONTENIDO DE VITAMINA A Y E EN PLASMA EN RASA ARAGONESA. Óner, Y., Serrano, M., Bertolín, J.R., Sarto, M.P., Iguácel, L.P., Ramón, M., Blanco, M., Joy, M. y Calvo, J.H. 426
- PARÁMETROS GENÉTICOS Y FENOTÍPICOS PARA CARACTERES DE COAGULACIÓN DE LA LECHE EN UNA POBLACIÓN COMERCIAL DE OVEJAS DE RAZA ASSAF. Sánchez-Mayor, M., Pong-Wong, R., Gutiérrez-Gil, B., de la Fuente, L.F., Garzón, A. y Arranz, J.J. 429
- CUANTIFICACIÓN DE LA ENZIMA ESTEAROYL-COA DESATURASA HEPÁTICA EN CERDOS DUROC. Tor, M., Vilaro, F., Gol, S., Bosch, L., Reixach, J., Pena, R.N. y Estany, J. 432
- APLICACIÓN DE CORRELACIONES PARCIALES Y TEORÍA DE LA INFORMACIÓN A REDES DE ESTIMAS DE CONSANGUINIDAD EN CONEJOS. Rodríguez-Ramilo, S.T., Reverter, A., Sánchez, J.P., Velasco-Galilea, M., González, O. y Piles, M. 435

Genética: Mejora genética de monogástricos

- EFECTO DE LA PRESENCIA DEL SEXO OPUESTO EN EL BIENESTAR ANIMAL Y EN VARIABLES ESPERMÁTICAS DE AVES DE PUESTA. Dávila, S.G., Torres, O., García-Gil, M., Campo, J.L., Castaño, C., Toledano-Díaz, A. y Santiago-Moreno, J. . . . 438
- INFLUENCIA DEL SISTEMA DE ALOJAMIENTO EN LA CALIDAD DEL HUEVO, Y SU EFECTO SOBRE EL BIENESTAR EN RAZAS DE GALLINAS ESPAÑOLAS. García-Gil, M., Cabezas, R., Prieto, M.T., Torres, O., Dávila, S.G., Castaño, C., Toledano-Díaz, A., Campo, J.L. y Santiago-Moreno, J. 441
- DIFERENCIAS EN MORTALIDAD FETAL ENTRE LÍNEAS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE PARA VARIABILIDAD DEL PESO AL NACIMIENTO EN RATONES. Formoso-Rafferty, N., Arias-Álvarez, M., Gutiérrez, J.P., Cediél, R. y Cervantes, I. . . . 444
- MEJORA DE LA RESILIENCIA A PRRSv EN CERDAS REPRODUCTORAS. Fraile, L., Abella, G., Novell, E., Tarancón, V., Varona, L., Pena, R.N. y Estany, J. 447

Genética: Metodología

- INFERENCIA EVIDENCIAL... NO HAY DOS SIN TRES. Casellas, J. 450
- MÉTODO LR EN SIMULACIONES: GANANCIA GENÉTICA Y DISPERSION USANDO HEREDABILIDAD EQUIVOCADA. Macedo, F. y Legarra, A. 453
- EFECTOS EPIGENÉTICOS ASOCIADOS AL SEXO Y LA EDAD DEL REPRODUCTOR. Varona, L., Moreno, C. y Altarriba, J. 456
- APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE DATOS COMPOSICIONALES AL MICROBIOMA DE CONEJOS. Zubiri-Gaitán, A., Martínez-Álvaro, M., Casto-Rebollo, C., Blasco, A. y Hernández, P. 459

Genética: Mejora genética de rumiantes

- EMPEZANDO POR LA A: COMPONENTES DE VARIANZA DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN OVEJAS LAONAS ESPAÑOLAS. Gómez, E.A., Rábano, A., Mocé, E., Cerisuelo, A., Ferrer, P. y Peris, C. 462
- COMPONENTES DE VARIANZA DE LA PRODUCCIÓN DE METANO EN VACUNO DE LECHE EN ESPAÑA. López-Paredes, J., Rey, J., Atxaerandio, R., García-Rodríguez, A., Goiri, I., Ugarte, E., Ruiz, R., Jiménez-Montero, J.A., Alenda, R. y González-Recio, O. 465

- INTERACCIÓN GENOTIPO-AMBIENTE PARA INTERVALO ENTRE PARTOS EN BROWN SWISS: ANÁLISIS BIVARIADO Y DE NORMA DE REACCIÓN. Martínez Castillero, M., Tempelman, R., de los Campos, G., Vazquez, A.I., Toledo Alvarado, H., Varona, L. y Cecchinato, A. 468
- PÉRDIDAS DE PRODUCCIÓN DEBIDAS A PATOLOGÍAS POSTPARTO EN VACUNO LECHERO. Pérez-Cabal, M.A., Blanco, J. y Charfeddine, N. 471

Genética: Transcriptoma

- ANÁLISIS INTEGRATIVO DE DATOS GENÓMICOS RELACIONADOS CON LA GRASA INTRAMUSCULAR DEL CERDO. González-Prendes, R., Ramayo-Caldas, Y., Ros-Freixedes, R., Solé, E., Estany, J. y Pena, R.N. 474
- PERFIL TRANSCRIPCIONAL DE LA GLÁNDULA MAMARIA DURANTE LA LACTACIÓN Y EL SECADO EN CABRAS MURCIANO-GRANADINAS. Guan, D., Mármol-Sánchez, E., Gracia-Luigi, M., Such, X., Jordana, J., Landi, V., Martínez, A., Delgado, J.V. y Amills, M. 477
- EFECTO DEL GENOTIPO SOBRE EL TRANSCRIPTOMA HIPOTALÁMICO Y SU POSIBLE RELACIÓN CON EL CRECIMIENTO Y LA VIABILIDAD EN LECHONES. Heras-Molina, A., García-Contreras, C., Vázquez-Gómez, M., Benítez, R., Núñez, Y., Ballesteros, J., Pesántez-Pacheco, J.L., Sanz-Fernández, V., Astíz, S., Isabel, B., González-Bulnes, A. y Óvilo, C. 480
- IDENTIFICACIÓN DE RNAS LARGOS NO-CODIFICANTES EN RESPUESTA A LA INGESTA DE ALIMENTOS. Mármol-Sánchez, E., Quintanilla, R., Figueiredo Cardoso, T., Tibau, J. y Amills, M. 483
- INFLUENCIA DE LA RESTRICCIÓN PROTEICA EN EL TRANSCRIPTOMA DE MÚSCULO DE CERDOS CRUZADOS DURANTE LA FASE DE CRECIMIENTO. Muñoz, M., Fernández-Barroso, M.A., López-García, A., Caraballo, C., Nuñez, Y., García-Casco, J.C. y González, E. 486

Genética: Gen candidato y GWAS

- ANÁLISIS DE TERNEZA EN LOMO CURADO DE UNA LÍNEA COMERCIAL DE CERDOS IBÉRICOS PUROS. Fernández-Barroso, M.A., Gómez, F., Caraballo, C., Sánchez-Esquiliche, F., Ramírez, L., López-García, A., Taverro, A., Palma-Granados, P., García-Casco, J.M. y Muñoz, M. 489
- EFECTO DEL GEN SCD EN EL RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE LAS CERDAS. Solé, E., Pena, R.N., Tor, M., Reixach, J. y Estany, J. 492
- ANÁLISIS GWAS DE CARACTERES RELACIONADOS CON LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN RASA ARAGONESA MEDIANTE EL CHIP DE MEDIA Y ALTA DENSIDAD. Lakhssassi, K., Lahoz, B., Sarto, P., Iguacel, L.P., Folch, J., Alabart, J.L., Ramón, M., Calvo, J.H. y Serrano, M. 495
- ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA CRECIMIENTO INDIVIDUAL Y EFICIENCIA ALIMENTARIA COLECTIVA EN CONEJOS BAJO DOS REGÍMENES DE ALIMENTACIÓN. Sánchez, J.P., Legarra, A., Velasco, M., Piles, M., Rafel, O., González, O. y Ballester, M. 498
- IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES RELACIONADAS CON CARACTERES DE RENDIMIENTO QUESERO DE LA LECHE OVINA UTILIZANDO UN CHIP DE SNPS DISEÑADO A PARTIR DE DATOS DE RNA-SEQ. Marina, H., Gutiérrez-Gil, B., Sánchez-Mayor, M., Esteban-Blanco, C., Suárez-Vega, A., Garzón, A. y Arranz, J.J. . . . 501

Genética: Secuenciación de genoma completo

- DETECCIÓN DE VARIANTES Y CONCORDANCIA DE GENOTIPOS MEDIANTE SECUENCIACIÓN A COBERTURAS MODERADAS. Ros-Freixedes, R., González-Pren-des, R., Gol, S., Solé, E., Pena, R.N. y Estany, J. 504
- CAMBIOS EPIGENÉTICOS EN SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE OVINO INFECTADO CON SCRAPIE. Hernaiz, A., Sentre, S., Bolea, R., López-Pérez, O., Sanz, A., Zaragoza, P., Badiola, J.J., Toivonen, J.M., Filali, H. y Martín-Burriel, I. 507
- ORIGEN DE LAS VARIANTES DE LOS GENES DE LAS CASEÍNAS EN PEQUEÑOS RUMIANTES: UNA COMPARACIÓN ENTRE OVEJA Y CABRA. Luigi-Sierra, M.G., Mármol-Sánchez, E., Cardoso, T.F. y Amills, M. 510
- LA SELECCIÓN POR GRASA INTRAMUSCULAR MODIFICA EL PERFIL METAGENÓMICO DEL CIEGO EN CONEJO. Martínez-Álvaro, M., Zubiri-Gaitán, A., Casto-Rebollo, C., Blasco, A. y Hernández, P. 513

CALIDAD DE LOS PRODUCTOS

Calidad de los productos: Factores *antemortem* I

- EFECTO DEL SISTEMA DE ALIMENTACIÓN, MÚSCULO Y TIPO DE ENVASADO, SOBRE LA ACEPTABILIDAD DE LA CARNE EN LA RAZA AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA. Barahona, M., Olleta, J.L., Hachemi, M.A., Sañudo, C., González, M.M. y Campo, M.M. 519
- OCURRENCIA DE MICROORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE Y PATOGÉNICOS EN CANALES DE CORDERO DE RAZAS AUTÓCTONAS PORTUGUESAS. Coelho-Fernandes, S.C., Félix-Oliveira, D., Gonzales-Barron, U. y Cadavez, V. . . . 522
- CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y TERNEZA DE LA CARNE DE CORDERO DE DOS RAZAS AUTÓCTONAS PORTUGUESAS. Santos-Rodrigues, G., Lorenzo, J.M., Gonzales-Barron, U. y Cadavez, V. 525
- EFECTO DEL ESTRÉS PRE-SACRIFICIO SOBRE EL DESARROLLO DE CARNES DFD EN LA RAZA RETINTA. Fuente-García, C., Serrano-Hernández, L., Sentandreu, E., Aldai, N., Romero, P., Cabeza De Vaca, M., Tejerina, D. y Sentandreu, M.A. . . . 528

Calidad de los productos: Factores *antemortem* II

- EFECTO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE DE POLLOS DE CRECIMIENTO LENTO, DE LA INCLUSIÓN DE HARINA DE LARVA DE *CALLIPHORA SP.* EN LA DIETA DURANTE EL PRIMER MES DE VIDA. Sarmiento, A., Palacios, C. y Revilla, I. 531
- PARÁMETROS EN VIVO Y EN CANAL DE VACAS FRISONAS CEBADAS. EFECTO DEL TIPO DE CONCENTRADO. Moreno, T., Crecente, S., López Luaces, M., Abraldes, R. y García-Fontán, M.C. 534
- PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE OVINOS DE PELO EN SISTEMAS SILVOPASTORILES DEL BOSQUE SECO TROPICAL. Pardo, J.A., Guerrero, A., Cediél, C., Gutiérrez, F., Ramírez, K. y Castañeda, R. . . . 537
- CALIDAD DE LA CANAL Y DE PIEZAS NOBLES EN CERDOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE ALBERJONES (*VICIA NARBONENSIS*). Gómez-Izquierdo, E., Ciruelos, J.J., Tomás, C., Guillamón, E., Varela, A., Martín-Pedrosa, M., López-Nuez, P., Latorre, M.A. y de Mercado, E. 540

- INFLUENCIA DE LA EDAD AL SACRIFICIO EN LA APTITUD TECNOLÓGICA DEL M. *LONGISSIMUS DORSI* DE CERDOS IBÉRICOS EN MONTANERA. Ortiz, A., García-Torres, S., Cabeza de Vaca, M. y Tejerina, D. 543
- EFECTO DE LA RAZA Y DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOMO DE CERDO BISARO CON Y SIN CASTAÑA VS COMERCIAL. Rodrigues, S., Oliveira, I., Vasconcelos, L., Pereira, E. y Teixeira, A. 546
- EFECTO DE LA GENÉTICA Y CONTENIDO DE MAGRO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y COMPUESTOS VOLÁTILES DEL LOMO DE CERDO ECOLÓGICO. Argemí, I., Villalba, D., Tor, M., Pérez-Santaescolástica, C., Purriños, L., Lorenzo, J.M. y Álvarez-Rodríguez, J. 549
- EFECTO DEL GENOTIPO EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LA GRASA VISCERAL EN PORCINO. Heras-Molina, A., Vázquez-Gómez, M., García-Contreras, C., Sanz-Fernández, V., Torres-Rovira, L., Segura-Plaza, J., Pesántez-Pacheco, J.L., Astiz, S., Óvilo, C., González-Bulnes, A. e Isabel, B. 552
- INFLUENCIA DEL SISTEMA PRODUCTIVO SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS, DE CALIDAD DE CANAL Y DE LA CARNE EN EL CEBO INTENSIVO DE TERNEROS. Verdú, M., González, J., Font, M., Cucurull, J. y Devant, M. 555

Calidad de los productos: Factores *postmortem* I

- INCORPORACIÓN DE PELICULAS COMESTIBLES Y ACTIVAS EN CARNE DE CORDERO DESCONGELADA: EVOLUCIÓN DEL COLOR. Guerrero, A., Ferrero, S., Barahona, M., Boito, B., Lisbinski, E., Balado, J. y Sañudo, C. 558
- EVOLUCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE DETERIORO EN CARNE DE CORDERO ENVASADA AL VACÍO DE ORIGEN PORTUGUÉS. Félix-Oliveira, D., Coelho-Fernandes, S.C., Gonzales-Barron, U. y Cadavez, V. 561
- EFECTO DEL TIEMPO DE MADURACIÓN SOBRE EL PH Y COLOR DE LA CARNE DE POTRO. Beldarrain, L.R., Morán, L., Aldazabal, G.F., Barrón, L.J.R., Sentandreu, M.A. y Aldai, N. 564
- INFLUENCIA DE LA CONGELACIÓN PREVIA A LA CURACIÓN EN LA APTITUD TECNOLÓGICA DEL M. *LONGISSIMUS DORSI* DE CERDOS IBÉRICOS EN MONTANERA. Ortiz, A., García-Torres, S., Cabeza de Vaca, M. y Tejerina, D. 567

Calidad de los productos: Factores *postmortem* II

- CARACTERÍSTICAS DE CANALES DE VACUNO EN MODO DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICO. Simbine, L., Cerqueira, J.L., Cadavez, V., Cantalapiedra, P. y Araújo, J.P. . . 570
- EFECTO DE LA APLICACIÓN DE INTERVENCIONES *POST-MORTEM* SOBRE LA TEXTURA DE LA CARNE DE AÑOJO Y CEBÓN. Morán, L., Prendiville, R., Aldai, N., Barrón, L.J.R. y Moloney, A.P. 573
- MADURACIÓN DE CARNE DE BOVINO EN SECO Y EN BOLSA TUBLIN HASTA 28 Y 45 DÍAS. Panella-Riera, N., Scappini, S., Font-i-Furnols, M. y Gil, M. 576
- EFECTO DE LA MADURACIÓN SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE AMPARADA POR LA IGP “VACA E BOI DE GALICIA”. García-Fontán, M.C., Moreno, T., Abraldes, R., Crecente, S. y García, G. 579
- EVOLUCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE DETERIORO EN CARNE DE BOVINO REFRIGERADA ENVASADA AL VACÍO. Silva, J.L., Cadavez, V., Machado, M.A.M., Figueiredo, E.E.S. y Gonzales-Barron, U. 582

- EVOLUCIÓN DE LA LUMINOSIDAD Y LOS PROCESOS OXIDATIVOS DURANTE LA MADURACIÓN DE LA CARNE DE TERNEROS DE RAZA RETINTA EN CASOS DFD. García-Torres, S., Cabeza de Vaca, M., Romero-Fernández, M.P. y Tejerina, D. 585

Calidad de los productos: Pósteres

- SOLUBILIDAD DEL COLÁGENO Y TEXTURA DE LA CARNE BOVINA COCINADA AL VACÍO: EFECTO DEL TIEMPO DE MADURACIÓN Y DE LA TEMPERATURA DE COCINADO. Panea, B. y Ripoll, G. 588
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE GUISANTE EN PIENSO DE CEBO EN LA COMPOSICIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE CARNE DE TERNEROS. Bertolín, J.R., Casasús, I., Joy, M. y Blanco, M. 591
- INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS DERIVADOS DE PLANTAS EN LA DIETA DE LOS CERDOS SOBRE LA VIDA ÚTIL Y LA PREVALENCIA DE SALMONELLA EN CHORIZOS CON BAJO CONTENIDO EN SAL. Panea, B., Albertí, P. y Ripoll, G. 594
- EFECTO DE LA TASA DE INCLUSIÓN DE GUISANTE EN PIENSO DE CEBO EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, OXIDACIÓN LIPÍDICA Y DUREZA DE CARNE DE TERNEROS. Blanco, M., Ripoll, G., Casasús, I., Bertolín, J.R., López, A., Ferrer, J. y Joy, M. 597
- LA REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA Y SAL COMO ESTRATEGIA PARA OBTENER CHORIZOS MÁS SALUDABLES. Panea, B. y Ripoll, G. 600
- CARACTERIZACIÓN BIOMÉTRICA DE GALLOS SASSO C44. ESTUDIO PRELIMINAR. Vaz, P., Cerqueira, J.L., Cantalapiedra, J. y Araújo, J.P. 603
- INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS DERIVADOS DE PLANTAS EN EL PIENSO SOBRE LA CALIDAD INSTRUMENTAL DE LA CARNE DE CERDO: VIDA ÚTIL y PREVALENCIA DE SALMONELLA. Panea, B., Albertí, P. y Ripoll, G. 606
- DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POR NIRS EN CARNE LIOFILIZADA DE 15 RAZAS BOVINAS EUROPEAS. Ripoll, G., Failla, S., Panea, B., Hocquette, J.F., Dunner, S., Sañudo, C., Olleta, J.L., Christensen, M., Ertbjerg, P., Richardson, I., Molto, C. y Williams, J.L. 609

Calidad de los productos: Miscelánea

- ESTUDIO DE LA CALIDAD DEL HUEVO EN LA RAZA AUTÓCTONA GALLINA VALENCIANA DE CHULILLA: RESULTADOS PRELIMINARES. Mocé, E., Gómez, E.A. y Cerisuelo, A. 612
- SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA DE UN EMBUTIDO FERMENTADO PORTUGUÉS EN RELACIÓN A SUS CARACTERÍSTICAS INTRÍNSECAS Y VARIABLES DE PROCESO. Nunes Silva, B., Cadavez, V., Pires, P., Dias, T. y Gonzales-Barron, U. 615
- ELABORACIÓN DE QUESO DE PASTA DURA CON COAGULANTE VEGETAL (CYNARA CARDUNCULUS L.): EFECTO EN EL RENDIMIENTO QUESERO Y COMPOSICIÓN DEL LACTOSUERO. Estrada, O., Ariño, A., Román, M. y Juan, T. 618
- ELABORACIÓN DE QUESO PASTA DURA CON COAGULANTE VEGETAL (CYNARA CARDUNCULUS L.): EFECTO EN LA TEXTURA INSTRUMENTAL DURANTE LA MADURACIÓN. Estrada, O., Ariño, A., Mallor, C. y Juan, T. 621

Calidad de los productos: Consumidores

- CALIDAD DE LA CARNE DE RAZA PIRENAICA: CONSUMO DE PROXIMIDAD EN LA COMARCA DEL SOBRARBE. Olleta, J.L., Guarnido, P., Sañudo, C., Resconi, V.C., Guerrero, A. y Campo, M.M. 624
- COMPORTAMIENTO DEL CONSUMIDOR ANTE EL CONSUMO DE LA CARNE DE CONEJO. Sarriés, M.V., Ruiz, M., Insausti, K. y Alfonso, L. 627
- ANÁLISIS DE LAS PREFERENCIAS DE LOS CONSUMIDORES DE CARNE DE CORDERO DE LA PROVINCIA DE CASTELLÓN. Blasco, M., Maza, M.T. y Campo, M.M. 630
- ANÁLISIS DE LAS PREFERENCIAS DE LOS CONSUMIDORES POR CARNE DE CORDERO CON CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES. Agúndez, M.C., Gaspar, P., Escribano, M., Elghannam, A., Romero, P., Eldesouky, A., Horrillo, A. y Mesías, F.J. . . . 633
- LA INFORMACIÓN DE CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA COMO FACTORES DETERMINANTES PARA LOS CONSUMIDORES POTENCIALES DE CARNE DE CERDO ENRIQUECIDA CON ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3. García-Hernández, E., Tor, M., Teixeira, A. y Álvarez-Rodríguez, J. 636

Calidad de los productos: Metodología

- COMPOSICIÓN EN GRASA Y MAGRO DE CANALES DE CERDOS IBÉRICOS CRUZADOS O PUROS DETERMINADA MEDIANTE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA. Font-i-Furnols, M., Brun, A. y Gispert, M. 639
- ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DEL USO DE REDES NEURONALES ARTIFICIALES, COMO HERRAMIENTA PARA LA PREDICCIÓN DE PARÁMETROS SENSORIALES A PARTIR DE DATOS NIRS EN JAMON CURADO. Hernández-Ramos, P., Revilla, I., González-Martín, M.I., Vivar, A.M. y Martínez-Martín, I. 642
- INFLUENCIA DE LA FORMA DE LA MUESTRA DE CARNE Y LA VELOCIDAD DE CUCHILLA EN LAS MEDICIONES DE ESFUERZO DE CORTE WARNER-BRATZLER. Cadavez, V.A.P., Van Velthoven, C. y Gonzales-Barron, U. 645
- TECNOLOGÍA FT-NIRS PARA CONTROL DE CALIDAD DE LOMO DE CERDO IBÉRICO EN LA LÍNEA DE PROCESADO: INTACTO Y HOMOGENEIZADO. Cáceres Nevado, J.M., Garrido Varo, A., de Pedro Sanz, E. y Pérez Marín, D.C. 648

SANIDAD Y BIENESTAR ANIMAL

Sanidad y bienestar: Bienestar animal.

- EL COMPORTAMIENTO COMO DETECTOR TEMPRANO DE ENFERMEDADES EN TERNEROS MAMONES. Belaid, M.A., Rodríguez-Prado, D.V., Rodríguez-Prado, M., Chevaux, E. y Calsamiglia, S. 653
- EL COMPORTAMIENTO COMO INDICADOR DE SALUD EN EL GANADO DE CARNE DURANTE EL PERIODO DEL ENGORDE. Belaid, M.A., Rodríguez-Prado, D.V., Rodríguez-Prado, M., Chevaux, E. y Calsamiglia, S. 656
- MATADERO COMARCAL VS INDUSTRIAL: INFLUENCIA EN INDICADORES DE ESTRÉS EN TERNERAS DE RAZA PIRENAICA. Guarnido, P., Olleta, J.L., Resconi, V.C., Guerrero, A., Sañudo, C., María, G.A. y Campo, M.M. 659

- EFECTO DE LA BIOMASA FORESTAL COMO MATERIAL DE CAMA COMPOSTADA SOBRE EL COMPORTAMIENTO EN VACAS DE LECHE. Llonch, L., Castillejos, L., Mainau, E., Manteca, X. y Ferret, A. 662
- EL AUMENTO PROGRESIVO DE HORAS DE LUZ AL DÍA DE FORMA ARTIFICIAL MODULA LA CONDUCTA ALIMENTARIA Y ANIMAL Y MODIFICA EL PERFIL HORMONAL EN TERNEROS DE ENGORDE. Marti, S., Medinya, C., Pérez, A., Verdú, M., Solé, A., Quintana, B. y Devant, M. 665
- RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE LA RELACIÓN ENTRE LA EFICIENCIA ALIMENTARIA, LOS PARÁMETROS DE ESTRÉS Y LOS RENDIMIENTOS EN MATA-DERO EN MACHOS CASTRADOS IBÉRICO X DUROC. De Mercado de la Peña, E., Gomez Izquierdo, E., Ciruelos, J.J., García Cortés, L.A., Rodríguez, M.C., Silió, L., Gomez-Raya, L. y Rauw, W.M. 668

Sanidad y bienestar: Sanidad animal I

- CONTROL BIOLÓGICO DE PARÁSITOS EN CABALLOS MEDIANTE CONCEN-TRADO CON ESPORAS DE HONGOS. Viña, C., Vilá, M., Voinot, M., Cazapal-Monteiro, C., Pedreira, P., Sanchís, J., Sánchez-Andrade, R. y Arias, M. 671
- INOCUIDAD DE LA INGESTA DE ESPORAS DE HONGOS EN CABALLOS. Vilá, M., Voinot, M., Viña, C., Torres, M.I., Cazapal-Monteiro, C., Romasanta, A., Sanchís, J., Sánchez-Andrade, R. y Arias, M. 674
- CONTROL BIOLÓGICO DE HELMINTOS EN BOVINOS MEDIANTE HONGOS PA-RASITICIDAS. Voinot, M., Viña, C., Vilá, M., Torres, M.I., Palomero, A.M., Cazapal-Monteiro, C., Bonilla, A., Sanchís, J., Paz-Silva, A. y Arias, M. 677
- VELOCIDAD DE CRECIMIENTO Y LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN COMO ESTRATEGIA PARA AUMENTAR LA RESILIENCIA EN POLLOS DE ENGORDE. Escribano, D., Estellés, F., Calvet, S., Marín, C., Montoro, L., Vega, S., Pérez-Gracia, T. y Villagrà, A. 680

Sanidad y bienestar: Sanidad animal II

- EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN LA DIETA PREPARTO SOBRE LA CALIDAD DEL CALOSTRO DE OVEJA LATXA Y LA TRANSMISIÓN DE INMUNIDAD PASIVA AL CORDERO. Atxaerandio, R., Averós, X., Granado, I., Arranz, J., Beltrán de Heredia, I., González, L., Elguezabal, N. y Ruiz, R. . . . 683
- LA DIETA PREPARTO AFECTA AL COMPORTAMIENTO Y LA RESPUESTA INFLA-MATORIA DE LOS CORDEROS TRAS UN PERIODO DE MANEJO AVERSIVO POST-DESTETE. Averós, X., Beltrán de Heredia, I., Granado, I., Arranz, J., García-Rodríguez, A., Ruiz, R., Elguezabal, N. y Atxaerandio, R. 686
- EVALUACIÓN DE LA COJERA EN DIEZ EXPLOTACIONES DE VACAS LECHERAS DE LA REGION NORTE DE PORTUGAL. Cerqueira, J.O.L., Pereira, D.R.G., Pereira, A.R., Blanco-Penedo, I., Cantalapiedra J., Fernandez, E.M.R. y Araújo, J.P. 689
- EVALUACIÓN DE LOS COSTES ECONÓMICOS DE LA CETOSIS SUBCLÍNICA Y SUS ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN EN EL GANADO LECHERO. Marquès, C., Kbeda, A., Castillejos, L. y Calsamiglia, S. 692
- EFICACIA DE BIFIDOBACTERIUM LONGUM SUBSP. INFANTIS CECT 7210 Y LAC-TOBACILLUS RHAMNOSUS HN001, OLIGOGALACTOSA Y SU COMBINACIÓN FRENTE A ESCHERICHIA COLI ENTEROTOXIGÉNICA (ETEC) F4+ EN UN MO-DELO DE LECHÓN RECIÉN DESTETADO. Rodríguez-Sorrento, A., Castillejos, L., Lopez-Colom, P., Cifuentes-Orjuela, G., Rodríguez-Palmero, M., Moreno-Muñoz, J.A. y Martín-Orúe, S.M. 695

- ESTUDIO DE LA APTITUD DE *GEOBACILLUS STEAROTHERMOPHILUS* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS Y OTRAS SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS *IN VIVO*. Serrano, M.J., Mitjana, O., Bonastre, C., Laborda, A., Abilleira, E., Falceto, M.V., Condón, S. y Pagán, R. 698
- EVALUACIÓN DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES OVINAS COMO MODELOS CELULARES *IN VITRO* DE SCRAPIE. Hernaiz, A., Domínguez-Estallo, L., Gómez-Redrado, S., López-Pérez, O., García, M., Garza, M.C., Vázquez, F., Zaragoza, P., Badiola, J.J., Bolea, R., Filali, H. y Martín-Burriel, I. 701
- ESTUDIO DE LA INFECTIVIDAD DE TEJIDOS Y FLUIDOS DE CAPRINOS RESISTENTES, INOCULADOS INTRACEREBRALMENTE CON ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA DE ORIGEN CAPRINO Y BOVINO. Sola, D., Raksa, H.C., Pitarch, J.L., Langeveld, J., Bossers, A., Marín, B., Barillet, F., Bouvier, F., Monleón, E., Bolea, R., Andreoletti, O., Badiola, J.J. y Acín, C. 704

AUTORES	Páginas
Abdelli, N.	296
Abecia, J.A.	335, 361
Abella, G.	447
Abilleira, E.	698
Abrales, R.	534, 579
Acín, C.	704
Afonso, I.	9
Agea, I.	414, 417
Agúndez, M.C.	633
Ahangarhani, M.	197
Alabart, J.L.	495
Albanell, E.	287
Albertí, P.	594, 606
Aldai, N.	528, 564, 573
Aldazabal, G.F.	564
Alenda, R.	465
Alfonso, J.	382
Alonso, L.	627
Alquizar-Baeta, C.	344
Altarriba, J.	456
Álvarez-Rodríguez, J. ..	155, 182, 185, 549, 636
Amanzougarene, Z.	80, 83, 227, 230, 266, 299
A Mills, M.	477, 483, 510
Andreolletti, O.	704
Andrés, S.	179
Andreu-Vázquez, C.	320
Antezana, W.	278
Araújo, J.P.	39, 66, 570, 603, 689
Arbaoui, A.	173
Argemí, I.	549
Argente, M.J.	414, 417, 420
Arias-Álvarez, M.	332, 358, 444
Arias, M.	671, 674, 677
Arias, R.	36
Arija, C.	347
Ariño, A.	618, 621
Armengol, R.	233
Arranz, J.	12, 209, 683, 686
Arranz, J.J.	429, 501

AUTORES	Páginas
Arriaga-Jordán, C.M. ...	48
Arroyo, J.M.	167
Astiz, S.	125, 152, 191, 317, 480, 489, 552
Atxaerandio, R.	158, 212, 465, 683, 686
Averós, X.	683, 686
Bach, A.	197
Badiola, J.J.	507, 701, 704
Badri, I.	134
Baila, C.	155, 170
Balado, J.	558
Balcells, J.	51, 86, 233, 272, 275
Ballester, M.	485
Ballesteros, J.	480
Barahona, M.	519, 558
Barale, J.	361
Barillet, F.	704
Barraso, C.	140, 263
Barroeta, A.C.	302
Barrón, L.J.R.	564, 573
Bassols, A.	197
Bedford, M.R.	305
Belaid, M.A.	653, 656
Belanche, A.	173, 176, 224
Beldarrain, L.R.	564
Belenguer, A.	149, 215, 218, 221
Beltrán de Heredia, I. ..	683, 686
Benítez, R.	480
Bernácer, J.	353
Bertolín, J.R.	155, 194, 426, 591, 597
Blanco-Penedo, I.	39, 689
Blanco, J.	471
Blanco, M.	155, 170, 194, 426, 591, 597
Blas, E.	92
Blasco, A.	408, 414, 417, 420, 459, 513
Blasco, M.	630

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Bodas, R.	179	Cantalapiedra, P.	570
Boito, B.	558	Cantet, R.J.C.	387
Bolea, R.	507, 701, 704	Canut, N.	54
Bonastre, C.	698	Caraballo, C.	411, 486, 489
Bonilla, A.	677	Carabaño, R.	89
Bonmatí, A.	57	Cardoso, T.F.	510
Bosch, L.	432	Carracedo, V.	140
Bossers, A.	704	Carro, M.D.	137, 143, 146, 188, 206, 251, 254, 260
Bourahla, S.M.	164	Carvajal-Serna, M.	361
Bouvier, F.	704	Casao, A.	361, 367
Brambillasca, S.	89	Casasús, I.	155, 170, 194, 323, 326, 591, 597
Brito, N.V.	60, 63	Casellas, J.	393, 450
Brun, A.	639	Castañeda, R.	537
Burgos, L.	57	Castaño, C.	438, 441
Caamaño, J.N.	347	Castillejos, L.	42, 662, 692, 695
Caballero, A.	402	Casto-Rebollo, C.	408, 420, 459, 513
Cabeza de Vaca, M.	528, 543, 567, 585	Castro-Costa, A.	164
Cabezas, A.	188	Cazapal-Monteiro, C. ...	671, 674, 677
Cabezas, R.	441	Cebrián-Pérez, J.A.	367
Cáceres Nevado, J.M.	648	Cecchinato, A.	468
Cáceres, E.	125, 191	Cedeño, M.	33
Cadavez, V.	18, 66, 522, 525, 561, 570, 582, 615	Cediel, C.	537
Cadavez, V.A.P.	645	Cediel, R.	358, 444
Cai, Y.	104	Celaya, R.	18
Caja, G.	30, 33, 164, 287, 290, 293	Cerisuelo, A.	236, 239, 242, 278, 311, 462, 612
Cajarville, C.	167	Cerqueira, J.	66
Calsamiglia, S.	42, 95, 98, 653, 656, 692	Cerqueira, J.L.	18, 570, 603
Calvet, S.	242, 278, 680	Cerqueira, J.O.L.	39, 689
Calvo, J.H.	426, 495	Cervantes, I.	423, 444
Calvo, M.A.	119	César, J.	9
Cambra-López, M.	242	Cevallos, A.C.	260
Campo, J.L.	438, 441	Chaalia, B.	33
Campo, M.M.	519, 624, 630, 659	Charfeddine, N.	471
Cano, J.L.	239, 311	Chaso, M.A.	263
Cánovas, S.	379		
Cantalapiedra, J.	39, 603, 689		

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Cheknam, L.	3	Elghannam, A.	21, 24, 27, 45, 633
Chevaux, E.	653, 656	Elguezabal, N.	683
Christensen, M.	609	Elhadi, A.	30, 33, 287
Chtioui, A.	402	Elouadaf, D.	203
Cifuentes-Orjuela, G. ...	695	Elsen, J.M.	396
Ciruelos, J.J.	101, 269, 540, 668	Ertbjerg, P.	609
Coelho-Fernandes, S.C.	522, 561	Escribano, D.	680
Colazo, M.G.	329	Escribano, M.	21, 24, 27, 45, 633
Coll, J.	338	Espinal, J.	182
Coloma García, W.	293	Estany, J.	275, 432, 447, 474, 492, 504
Coloma, W.	290	Esteban-Blanco, C.	501
Condón, S.	698	Estellés, F.	161, 278, 680
Contreras, S.J.	353	Estrada, O.	618, 621
Costa, S.	51, 86, 233	Failla, S.	609
Crecente, S.	534, 579	Falceto, M.V.	338, 698
Crespo, S.	379	Fargas, O.	317
Cruz, B.C.	66	Faria, M.F.C.G.	39
Cucurull, J.	69, 72, 77, 281, 555	Farias, C.	89
Dávila, S.G.	438, 441	Feijoo, D.	89
de Evan, T.	137, 143, 146, 188, 260	Félix-Oliveira, D.	522, 561
de la Fuente, G.	83, 86, 227, 233, 272, 275	Fernandes, E.	18
de la Fuente, J.	146, 188	Fernández Barroso, M.A.	245
de la Fuente, L.F.	429	Fernández-Fígares, I. ..	122, 248
de la Torre-Santos, S. ...	200	Fernández-Turren, G. ..	167
de los Campos, G.	468	Fernández-Yepes, J. ...	206
de Mercado de la Peña, E.	668	Fernández, A.	347
de Mercado, E.	101, 269, 540	Fernandez, E.M.R.	689
de Pedro Sanz, E.	648	Fernández, J.	390, 399
de Vega, A.	80, 83, 299	Ferrer, C.	164
Delgado-Chavero, C. ..	411	Ferrer, J.	194, 326, 597
Delgado, J.V.	477	Ferrer, P.	236, 239, 242, 311, 462
Devant, M.	69, 72, 77, 555, 665	Ferrero, S.	558
Dias, T.	615	Ferret, A.	662
Díaz de Otálora, X.	209, 212	Feyjoo, P.	125, 191, 317
Domínguez-Estallo, L. ..	701	Figueiredo Cardoso, T. ..	483
Dunner, S.	609	Figueiredo, E.E.S.	582
Eldesouky, A.	21, 45, 633	Filali, H.	507, 701
		Flores-Calvete, G.	48

AUTORES	Páginas
Folch, J.	495
Fondevila, M.	80, 83, 218, 221, 227, 230
Font-i-Furnols, M.	576, 639
Font, M.	69, 555
Formoso-Rafferty, N. ...	423, 444
Fraile, L.	447
Frutos, P.	149, 215, 218, 221, 257
Fuente-García, C.	528
Fuentetaja, A.	107
Fuertes, A.	335
Fueyo, C.	347
Gadea, J.	350, 379, 381
Galarza, D.A.	364
Galindo, J.	414
Gallardo, B.	128, 131
García Casco, J.M.	245
García Contreras, C. ...	125, 191
García Cortés, L.A.	668
García-Baccino, C.A. ..	387
García-Ballesteros, S. ..	390
García-Casco, J.C.	486
García-Casco, J.M.	411, 489
García-Colomer, B.	356
García-Contreras, C. ...	480, 552
García-Domínguez, X. ...	370, 373
García-Fontán, M.C. ...	534, 579
García-García, R.M.	332, 358
García-Gil, M.	438, 441
García-Hernández, E. ..	636
García-Rodríguez, A. ..	12, 212, 456, 686
García-Rodríguez, J. ...	251
García-Torres, S.	543, 567, 585
García-Valero, L.	373
García-Vazquez, F.A. ..	379
García, C.	233
García, G.	579
García, J.	89
García, M.	107, 701
García, M.L.	414, 417, 420

AUTORES	Páginas
García, R.	18
Gardón, J.C.	152
Garrido Varo, A.	648
Garza, M.C.	701
Garzón, A.	429, 501
Garzón, A.I.	36
Gasa, J.	239
Gaspar, P.	21, 24, 27, 45, 633
Genís, S.	77
Gil, M.	576
Gimeno-Martos, S.	367
Giráldez, F.J.	179
Gispert, M.	639
Gobikrushanth, M.	329
Goiri, I.	12, 158, 212, 465
Gol, S.	432, 504
Gomez Izquierdo, E. ...	668
Gómez-Carballar, F.	122
Gómez-Cortés, P.	131
Gómez-Izquierdo, E. ...	101, 269, 540
Gomez-Raya, L.	668
Gómez-Redrado, S.	701
Gómez, E.A.	239, 311, 353, 356, 462, 612
Gómez, F.	489
Gómez, M.	281
Gonzales-Barron, U. ...	18, 66, 522, 525, 561, 582, 615, 645
González Bulnes, A.	125, 191
González Martin, J.V. ..	125, 191
González-Bulnes, A. ...	480, 552
González-Luna, S.	33
González-Martín, J.V. ..	152, 317
González-Martín, M.I. ..	642
González-Ortiz, J.F.G. ..	305
González-Prendes, R. ..	474, 504
González-Recio, O.	158, 465
González-Rosales, G. ..	218, 221
González, E.	245, 486

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
González, G.E.	6	Ibañez-Escriche, N.	393, 408, 420
González, J.	69, 143, 146, 555	Iguacel, L.P.	495
González, L.	683	Iguácel, L.P.	426
González, M.	411	Insausti, K.	627
González, M.M.	519	Ipharraguerre, I.R.	101
González, O.	435, 498	Isabel, B.	480, 552
González, V.	107	Jiménez-Calderón, J.D.	203
Gracia-Luigi, M.	477	Jiménez-Montero, J.A.	465
Graham, H.	305	Jiménez-Moya, B.	302
Granado-Tajada, I.	405	Jiménez, L.	36
Granado, I.	683, 686	Jordana, J.	477
Gratta, F.	89	Joy, M.	155, 170, 182, 426, 591, 597
Grau, J.	281	Juan, T.	618, 621
Guamán, S.	287	Juarez, J.D.	370, 373
Guan, D.	477	Kbada, A.	692
Guarnido, P.	624, 659	Kihal, A.	95, 98
Guerrero, A.	537, 558, 624, 659	Kozloski, G.V.	167
Guillamón, E.	269, 540	Laborda, A.	698
Gutiérrez-Gil, B.	429, 501	Lachica, M.	122, 248
Gutiérrez, F.	537	Lahoz, B.	495
Gutiérrez, J.P.	423, 444	Lakhssassi, K.	495
Hachemi, M.A.	519	Landi, V.	477
Haro, A.N.	143, 146	Langeveld, J.	704
Henarejos, L.	42	Lara, L.	122
Heng-Lun, K.	43	Latorre, M.A.	266, 269, 540
Heras Molina, A.	125, 152, 191, 317, 480, 552	Lavín, P.	128, 131
Hernadez, T.	263	Laviña, A.	335
Hernaiz, A.	507, 701	Legarra, A.	405, 453, 498
Hernández-Ramos, P. ..	642	Lisbinski, E.	558
Hernández, F.	125, 191	Liu, G.	104
Hernández, P.	459, 513	Llanes, N.	86
Hernandez, P.	408	Llonch, L.	662
Hervás, G.	149, 215, 218, 221, 257	Llonch, P.	113
Hidalgo-Chiquero, A. ...	320	Lobón, S.	155, 170
Hidalgo, C.O.	347	Lopes, J.C.	60, 63
Hocquette, J.F.	609	López, A.	597
Horrillo, A.	21, 24, 27, 45, 633	López García, A.	245
		López Luaces, M.	534
		Lopez-Colom, P.	695
		López-García, A.	486, 489
		López-González, F.	48

AUTORES	Páginas
López-Helguera, I.	320, 323
López-Nuez, P.	269, 540
López-Paredes, J.	465
López-Pérez, O.	507, 701
López-Sebastián, A.	364
López-Suárez, M.	42
López-Vergé, S.	116
López, M.C.	92
López, M ^a .M.	140, 263
López, S.	179
Lorenzo, J.M.	525, 549
Lorenzo, P.L.	332, 358
Lourenco, D.	387
Lozano-Palazón, S.A. ..	353
Luciano, G.	257
Luigi-Sierra, M.G.	510
Maamouri, O.	134
Macedo, F.	453
Machado, M.A.M.	582
Macías, A.	335, 361
Mainau, E.	662
Mallor, C.	621
Mandaluniz, N.	12, 209
Manso, T.	128, 131
Manteca, X.	662
Mantecón, A.R.	128, 131
Marco-Jiménez, F.	370, 373
Marcos, C.N.	137, 206, 260
María, G.A.	659
Marín-García, P.J.	92
Marín, B.	704
Marín, C.	680
Marina, H.	501
Mármol-Sánchez, E. ...	477, 483, 510
Marquès, C.	692
Martí, S.	665
Martín de Hijas Villalba, M.	393
Martín-Burriel, I.	507, 701
Martín-García, A.I.	173, 176, 224
Martín-Orúe, S.M.	113, 116, 695
Martín-Pedrosa, M.	269, 540

AUTORES	Páginas
Martín, A.	179
Martín, E.	335
Martinez, Castellero, M. ..	468
Martínez Ros, P.	125, 191
Martínez-Álvaro, M.	459, 513
Martínez-Fernández, A. ...	200, 203
Martínez-García, C.G. ..	48
Martínez-Granell, M. ...	353
Martínez-Martín, I.	642
Martínez-Paredes, E. ..	92
Martínez-Pastor, F.	347
Martínez, A.	477
Martínez, D.	152
Martínez, Y.	104
Matás, C.	350
Mateo, J.	179
Mateos, I.	251, 254
Mateos, M.	125, 191
Maynegre, J.	51
Maza, M.T.	3, 630
Medinya, C.	665
Mehaba, N.	290, 293
Melo-Durán, D.	110, 305
Mendoza, A.G.	218, 221, 257
Mereu, A.	101
Merino, M.J.	347
Mesías, F.J.	21, 24, 27, 45, 633
Miana-Mena, F.J.	266
Miguel-Jiménez, S.	367
Milán, M.J.	6
Millán, P.	358
Miller, S.	387
Miranda, L.	107
Mitjana, O.	338, 698
Mocé, E.	353, 462, 612
Molina-Alcaide, E.	137, 206
Molina, E.	182, 185, 323
Molina, M.	12
Moloney, A.P.	573
Molto, C.	609
Monleón, E.	704

AUTORES	Páginas
Montaldo, H.H.	396
Monteagudo, L.V.	335
Montoro, L.	680
Mora, J.	86
Morán, L.	564, 573
Morán, P.	402
Morató, R.	376
Moreno-Muñoz, J.A.	695
Moreno, C.	456
Moreno, T.	534, 579
Morgado, E.	39
Moscoso, J.	161
Muiño-Blanco, T.	343
Muñoz-Mejías, A.	245
Muñoz, M.	245, 411, 486, 489
Munuera, C.D.	376
Murillo, G.	54
Natalello, A.	257
Navarro-Serna, S.	379, 381
Navarro, L.	51
Nicodemus, N.	89
Nielsen, B.	116
Nieto, R.	122
Noguera, J.L.	393
Novell, E.	447
Noya, A.	323, 326
Nunes Silva, B.	615
Nunes, F.	9
Nuñez, Y.	480, 486
Ocasio-Vega, C.	89
Oliveira, I.	546
Oliver, J.	164
Olleta, J.L.	519, 609, 624, 659
Öner, Y.	426
Orquera, K.	194
Ortiz, A.	543, 567
Ortiz, C.	54, 57
Ortolani, I.R.	230
Osuagwuh, U.	376
Óvilo, C.	480, 552

AUTORES	Páginas
Pagán, R.	689
Palacín, I.	341, 344
Palacios, C.	308, 531
Palhière, I.	396
Palma-Granados, P.	245, 489
Palma-Hidalgo, J.M.	173, 176, 224
Palomero, A.M.	677
Palomo, M.J.	376
Palop, M.LI.	36
Panea, B.	588, 594, 600, 606, 609
Panella-Riera, N.	576
Pardo, J.A.	537
Pardo, Z.	248
Pardos, L.	3
Parera, J.	54, 57
Pariante, J.M.	122
París-Oller, E.	381
Pascual, J.J.	92
Pascual, M.R.	140
Patrón, R.	317
Pauselli, M.	257
Paz-Silva, A.	677
Peci, J.	15
Pedreira, P.	671
Pelegrin, J.	182, 185
Pena, R.N.	275, 432, 447, 474, 492, 504
Peñagaritano, E.	311
Pereira, A.R.	689
Pereira, D.R.G.	689
Pereira, E.	546
Pérez Marín, D.C.	648
Pérez-Baena, I.	356
Pérez-Cabal, M.A.	471
Pérez-Ciria, L.	266
Pérez-Gracia, T.	680
Pérez-Guzmán, M.D. ..	36
Pérez-Pé, R.	361, 367
Pérez-Ruchel, A.	167
Pérez-Santaescolástica, C.	549

AUTORES	Páginas
Pérez, A.	665
Pérez, J.F.	110, 113, 116, 119, 296, 305
Pérez, N.	317
Peris, C.	356, 462
Pesántez Pacheco, J.L.	125, 152, 191
Pesántez, J.	317
Piles, M.	435, 498
Piquer, O.	239, 311
Pires, P.	615
Pitarch, J.L.	704
Pong-Wong, R.	429
Prendiville, R.	573
Prieto, M.T.	441
Priolo, A.	257
Prospero-Bernal, F.	48
Puigpinós, E.	54
Purriños, L.	549
Quintana, A.R.	36
Quintana, B.	665
Quintanilla, R.	483
Quintín, F.	361
Rábano, A.	462
Rafel, O.	498
Raksa, H.C.	704
Ramayo-Caldas, Y.	747
Ramírez, K.	537
Ramírez, L.	489
Ramón, M.	426, 495
Ranilla, M.J.	251, 254, 260
Raoul, J.	396
Rauw, W.M.	668
Rebollar, P.G.	332, 358
Reixach, J.	432, 492
Repetto, J.L.	167
Resconi, V.C.	624, 659
Reverter, A.	435
Revilla, I.	308, 531, 642
Rey, J.	158, 212, 465
Reyes-Camacho, D.	119
Riau, V.	57
Ribeiro, V.A.	60, 63

AUTORES	Páginas
Richardson, I.	609
Ripoll, G.	588, 594, 597, 600, 606, 609
Roca, M.	242
Ródenas, L.	92
Rodrigues, S.	546
Rodríguez-Palmero, M.	695
Rodríguez-Prado, D.V.	653, 656
Rodríguez-Prado, M.	95, 653, 656
Rodríguez-Ramilo, S.T.	396, 405, 435
Rodríguez-Sorrento, A.	695
Rodríguez, M.C.	668
Rodríguez, P.	140, 263
Román, M.	618
Romar, R.	379, 381
Romasanta, A.	674
Romero-Aguirregomez- corta, J.	379
Romero-Fernández, M.P.	24, 27, 585
Romero, P.	528, 633
Ros-Freixedes, R.	474, 504
Rosas, J.P.	393
Rovai, M.	284
Royo, L.J.	200
Ruiz-Herrera, S.	197
Ruiz-López, F.J.	396
Ruiz, I.	101
Ruiz, M.	627
Ruiz, R.	12, 158, 209, 212, 465, 683, 686
Sá, C.	9
Sadeghi, S.	356
Sala, R.	302, 305
Saladrigas-García, M.	113, 116
Salama, A.	30
Salama, A.A.K.	33, 164, 284, 290, 293
Salman, A.	347
Sánchez-Mayor, M.	429, 501
Sánchez-Almánzar, V.	358
Sánchez-Andrade, R.	671, 674

AUTORES	Páginas
Sánchez-Esquiliche, F. ..	122, 489
Sánchez-Rodríguez, A.	332, 358
Sánchez, J.P.	435, 498
Sanchís, J.	671, 674, 677
Sanjuán, A.I.	15
Santiago-Moreno, J.	364, 438, 441
Santiago, E.	402
Santolaria, P.	341, 344, 356
Santorromán, M.J.	361
Santos-Rodrigues, G. ..	525
Sañudo, C.	519, 558, 609, 624, 659
Sanz Fernández, M.V. ..	125, 191
Sanz-Fernández, V.	480, 552
Sanz, A.	323, 326, 329, 507
Sarandão, M.S.	63
Sarmiento, A.	308, 531
Saro, C.	179, 251, 254
Sarri, L.	272, 275
Sarriés, M.V.	627
Sarto, M.P.	426
Sarto, P.	495
Saura, M.	402
Scappini, S.	576
Sebastián, F.	152
Segura-Plaza, J.	552
Seiquer, I.	122
Sentandreu, E.	528
Sentandreu, M.A.	528, 564
Sentre, S.	507
Seradj, A.R.	51, 233, 272, 275
Serham, S.	33
Serrano-Hernández, L.	528
Serrano-Pérez, B.	182, 185, 323
Serrano, M.	426, 495
Serrano, M.J.	698
Seseña, S.	36
Silió, L.	668
Silva, J.L.	582
Silvestre, M.A.	344, 356

AUTORES	Páginas
Simão Gomes, A.	9
Simbine, L.	570
Solà-Oriol, D.	110, 116, 119, 296, 305
Sola, D.	704
Soldado, A.	203
Solé, A.	665
Solé, E.	474, 492, 504
Soler, C.	344
Sosa-Madrid, B.S.	408, 420
Suárez-Vega, A.	501
Suárez, A.	338
Such, X.	30, 33, 290, 293, 477
Tadeo-Peralta, E.	396
Talaván, A.M.	370, 373
Tamargo, C.	347
Tarancón, V.	447
Tavero, A.	489
Teixeira, A.	546, 636
Tejedor, M.T.	335
Tejedor, T.	338
Tejerina, D.	528, 543, 567, 585
Tempelman, R.	468
Tepstad, J.	101
Terré, M.	197
Tibau, J.	483
Toivonen, J.M.	507
Toledano-Díaz, A.	438, 441
Toledo Alvarado, H.	468
Tomás, C.	269, 540
Tor, M.	233, 272, 275, 432, 549, 636
Toral, P.G.	149, 215, 218, 221, 257
Toro, M.A.	399
Torres Rovira, L.	125, 191
Torres, M.I.	674, 677
Torres, O.	438, 441
Tres, A.	302
Tugues, J.	54
Ugarte, E.	158, 405, 465

AUTORES	Páginas
Vale, A.	9
Valent, D.	197
Valenti, B.	257
van Kuijk, S.	110
van Velthoven, C.	645
Varela, A.	269, 540
Varona, J.	332
Varona, L.	393, 408, 420, 447, 456, 468
Vasconcelos, L.	546
Vaz, P.	603
Vázquez Gómez, M. ...	125, 191
Vázquez Mosquera, J.	125, 152, 191
Vázquez-Gómez, M. ...	480, 552
Vazquez, A.I.	468
Vázquez, F.	701
Vázquez, J.	317
Vega, A.	80, 83, 227
Vega, S.	680
Velasco-Galilea, M.	435
Velasco, B.	332, 358
Velasco, M.	498
Vélez, V.	161
Verdú, M.	69, 72, 77, 281, 555, 665
Vicente, F.	200, 203

AUTORES	Páginas
Vicente, J.S.	370, 373
Vidal, M.	197
Vieira, L.A.	350
Vilá, M.	671, 674, 677
Vilaro, F.	432
Vilarrasa, E.	296
Villagómez-Estrada, S.	110, 305
Villagrà, A.	152, 680
Villalba, D.	51, 86, 182, 185, 233, 323, 549
Villalba, I.	353
Villanueva, B.	390, 399, 402
Viña, C.	671, 674, 677
Vitezica, Z.G.	387
Viudes de Castro, M.P.	370, 373
Vivar, A.M.	642
Voinot, M.	671, 674, 677
Williams, J.L.	609
Yáñez-Ruiz, D.	149
Yáñez-Ruiz, D.R.	173, 176, 224
Yániz, J.	356
Yániz, J.L.	341, 344
Yuste, S.	80, 83, 227, 266, 299
Zaragoza, P.	507, 701
Zubiri-Gaitán, A.	459, 513

Sistemas de explotación:
Gestión y economía

RELACIÓN DE INDICADORES ESTRUCTURALES CON LOS RESULTADOS ECONÓMICOS DE LAS EXPLOTACIONES OVINAS DE CARNE EN ARAGÓN

Chekman¹, L., Maza^{1,2}, M.T. y Pardos¹, L.

¹Dpto. Ciencias Agrarias y del Medio Natural, Universidad de Zaragoza, c/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. ²Instituto Agroalimentario de Aragón, Av. Montañana, 930, 50059 CITA, Zaragoza, España; kahina.lahna79@hotmail.fr

INTRODUCCIÓN

A pesar del reconocimiento que la Política Agraria Común (PAC) otorga al sector ovino por su contribución a la sostenibilidad social y medioambiental, tanto el censo ovino como el número de explotaciones ha experimentado un claro retroceso en los últimos años en España y en los países de nuestro entorno. En un periodo de 10 años (2007-2017) el censo de ganado ovino en España y Aragón ha registrado un descenso del 23,9 % y del 33,6 % respectivamente (MAGRAMA, 2018). Distintos factores han contribuido a ello: el aumento constante de los costes de producción, el estancamiento de los precios de venta del producto, la tendencia a la baja en el consumo de carne de cordero o la competencia internacional entre otros. En este contexto la mejora de la rentabilidad de las explotaciones es uno de los factores claves si se desea garantizar su viabilidad futura (MAGRAMA, 2013). El objetivo del presente trabajo es hallar la relación entre la rentabilidad de las explotaciones y distintos factores estructurales en dos entornos distintos con y sin subvenciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado la información obtenida del programa de Gestión Técnico-Económica desarrollado por la Escuela Politécnica Superior de Huesca de la Universidad de Zaragoza y la Cooperativa OviAragón-Grupo pastores. La muestra está compuesta por un total de 128 explotaciones de ganado ovino de carne ubicadas en la Comunidad Autónoma de Aragón. Todas estas explotaciones han participado en el programa durante 5 años como mínimo, desde 1993 hasta 2016. Las variables expresadas en unidades monetarias han sido convertidas a euros constantes de 2016. Los indicadores estructurales se han calculado como la media de los años que ha permanecido la explotación en el programa.

Para lograr el objetivo del presente trabajo, se ha utilizado la regresión lineal múltiple. En el sector ovino son varios los trabajos que han utilizado esta metodología para determinar la influencia de los indicadores estructurales, técnicos, económicos y sociológicos en los resultados de las explotaciones: (Sierra, 2002; Maza et al. 2008). Todos ellos usaron al menos uno de los indicadores estructurales que se utilizaron en el presente estudio.

Como medida de la rentabilidad de las explotaciones se ha utilizado la renta disponible por unidad de la mano de obra total. Olaizola et al. (1996) afirmaron que la renta disponible por unidad de la mano de obra podría considerarse como la medida más significativa de los resultados económicos obtenidos y un indicador de la posible continuidad de las explotaciones al incluir la productividad por oveja y el tamaño correcto del rebaño.

Como variables explicativas se han utilizado 10 variables estructurales referidas a la superficie y su uso, a la mano de obra y al tamaño del rebaño. Relacionadas con el factor tierra se incluyeron la superficie agrícola útil total (SAUT), el porcentaje que supone el regadío (% Reg/SAUT), las hectáreas de arrendamiento forrajero (AF), las hectáreas utilizadas por el ovino (HUPO) y la relación de la superficie con la mano de obra (SAUT/UTAT). Asimismo se incluyeron la variable número de ovejas (NO), y su relación con la superficie (NO/SAUT) y la mano de obra (NO/UTAT). Por último se consideró el número de unidades de trabajo anual total (UTAT) y el porcentaje de la mano de obra familiar (%UTF).

En el análisis de regresión lineal múltiple, se utilizó el método por pasos para retener solo las variables independientes significativas en los modelos resultantes. Se han realizado dos modelos el primero mide la renta disponible por unidad de la mano de obra incluyendo en la misma las subvenciones recibidas, mientras que el segundo no las considera.

El modelo genérico se formuló de la siguiente manera:

$$RDPUTAT = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_n X_n + e$$

Donde RDPUTAT (la renta disponible por unidad de la mano de obra anual total) es la variable dependiente, β_0 es la constante de regresión, y $\beta_1 \beta_2 \beta_3 \dots \beta_n$ son coeficientes para estimar. $X_1, X_2, X_3 \dots X_n$ son las variables estructurales utilizadas como variables predictivas y (e) es el error de regresión. Los coeficientes de regresión se probaron usando la prueba t. El coeficiente de determinación (R^2) se utilizó como criterio predictivo de éxito para el modelo de regresión (Drapper y Smith, 1998 citado por Sakar et al. 2011; Bluman., 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del primer modelo (tabla 1) muestran que cuatro de las diez variables predictivas tienen un nivel de significación estadísticamente alto ($p < 0,01$ y $p < 0,05$). El R^2 ajustado alcanza 0,397 que se considera un valor elevado.

Los resultados muestran que el número de ovejas por unidad de mano de obra total (NO/UTAT) tiene el mayor efecto positivo para la RDUTAT y un alto nivel de significación. La variable porcentaje de la mano de obra familiar (%UTAF) tiene un efecto positivo inferior al primero pero con el mismo nivel de significación. Por último, la variable hectáreas usadas por ovino (HUPO) tiene el efecto positivo más bajo pero estadísticamente significativo. Por el contrario la variable referente a la carga ganadera (NO/SAUT) tiene un efecto negativo significativo sobre la variable dependiente. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros trabajos anteriores (Chekmam et al., 2018; Pardos et al., 2017).

Tabla 1. Resultados de la regresión lineal múltiple con la renta disponible por unidad de trabajo con subvenciones.

Parámetros	Coefficientes no estandarizados	D.E.	Coefficiente estandarizados	T	P
(Constante)	-7674,6	4566		-1,681	0,095*
NO/UTAT	41,7	5	0,583	8,317	0,000***
%UTAF	137,3	40,8	0,238	3,367	0,001***
NO/SAUT	-30,2	12,3	-0,173	-2,458	0,015**
HUPO	6,7	2,9	0,164	2,313	0,022**
R^2	0,417				
R^2 Ajustado	0,397				

Los resultados del segundo modelo (tabla 2) indican que cuatro de las diez variables estudiadas explican la variable dependiente de manera significativa ($p < 0,01$ y $p < 0,05$). El R^2 ajustado es de 0,175.

La variable porcentaje de la mano de obra familiar (%UTAF) tiene un alto efecto positivo sobre la RDUTAT sin subvenciones y es altamente significativa. La variable hectáreas usadas por ovino (HUPO) tiene un efecto positivo inferior al primero pero con alto nivel de significación, mientras que el porcentaje de regadío (%Reg/SAUT) tiene el efecto positivo más bajo pero con un nivel de significación alto. La variable carga ganadera (NO/SAUT) tiene un efecto negativo sobre la variable dependiente y es altamente significativa.

Se puede concluir que hay una serie de variables que influyen positivamente en la rentabilidad de las explotaciones, tanto si consideramos las subvenciones recibidas como si no se tienen en cuenta. Esas variables son la importancia de la mano de obra familiar y la especialización ovina de las explotaciones.

Cuando se tienen en cuenta las subvenciones recibidas la intensificación de la mano de obra influye positivamente en la renta disponible por unidad de mano de obra. Ello es debido a la relación existente entre las subvenciones recibidas y el número de ovejas en la explotación. Las explotaciones con más subvenciones tienen mayor número de ovejas y en general una mayor productividad de la mano de obra (Pardos *et al.*, 2016).

Cuando no se consideran las subvenciones, la importancia del regadío sobre la superficie agrícola total ejerce un efecto positivo sobre la renta disponible por unidad de mano de obra. Una mayor superficie de regadío indicaría una mayor superficie forrajera y por tanto una

mayor autonomía en la alimentación del ganado. Benoit et Laignel (2011) han señalado el beneficio de la autonomía forrajera y de una menor adquisición de insumos en los sistemas ovinos en los contextos económicos y medioambientales actuales.

La importancia de la mano de obra familiar y la especialización ovina de las explotaciones son factores que influyen positivamente en la rentabilidad de las explotaciones. Dada la relación existente hasta el momento entre el tamaño de las explotaciones y las ayudas recibidas, la productividad de la mano de obra se manifiesta también como un aspecto importante. En ausencia de ayudas, la adecuada gestión de los recursos de alimentación podría mejorar la rentabilidad y la viabilidad de las explotaciones ovinas.

Tabla 2. Resultados de la regresión lineal múltiple con la renta disponible por unidad de trabajo sin subvenciones.

Parámetros	Coefficientes no estandarizados	D.E.	Coefficientes estandarizados	T	P
(Constante)	-13076,136	4167,8		-3.137	0,002***
%UTAF	170,408	42,8	0,331	3.975	0,000***
HUPO	9,031	3	0,248	2.938	0,004***
NO/SAUT	-35,254	13,3	-0,226	-2.640	0,009***
%Reg/SAUT	62,424	24,6	0,219	2.534	0,013**
R ²	0,202				
R ² Ajustado	0,175				

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benoit, M. & Laignel, G. 2011. Analyse sur le long terme de systems d'élevage ovins allaitants en France. Quelles trajectoires et quels facteurs de réussite économique? INRA P.A. 24(3): 211-220.
- Bluman, A.G. 2009. Elementary Statistics: Step by Step Approach. 7th Ed.
- MAGRAMA. 2013.
- Chekman, L. et al. 2018. SEOC 2018 • MAGRAMA 2018.
- Maza et al. 2008. Options Méditerranéennes. 78: 133-138.
- Olaizola, et al. 1996. Investigación Agraria, Economía 11: 355-376.
- Pardos et al. 2016. SEOC. 2016.
- SEOC. 2017
- Pardos et al. 2017.
- Sakar, E., Keskin, S. & Unver, H. 2011. J. Animal & plant Sci. 21(2): 182-185.
- Sierra, A.I. 2002.
- SEOC. 2002.

Agradecimientos: Agradecemos a Grupo pastores por la información facilitada para la realización de este trabajo.

RELATIONSHIP BETWEEN STRUCTURAL INDICATORS AND ECONOMIC RESULTS OF SHEEP MEAT FARMS IN ARAGON

ABSTRACT: The present study aims to figure out the influence of some structural indicators on the economic results, particularly the gross margin per labour unit with and without subsidies, of sheep meat farms in Aragon. It has been studied the data of 128 sheep meat farms belonging to an important technical economic sheep management program. It has been performed two multiple linear regressions. The results shows that family labour and hectares used for sheep have positive impact on the gross margin per labour unit with or without subsidies, idem for the stocking rate which have negative impact in the two cases. From other side, labour intensification has positive impact on the gross margin per labour unit with subsidies and the percentage of the irrigated area has positive impact on the gross margin per labour unit without subsidies. The improvement of some aspect as family labour, adequate labour intensification and self auto-feeding could improve the viability of sheep meat farms in an uncertain environment with respect to the common agricultural policies' aids.

Keywords: economic results, structural indicators, subsidies, multiple regression.

CARACTERIZACIÓN DE EXPLOTACIONES BOVINAS DEL CHACO PARAGUAYO

González, G.E., Milán, M.J.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Grup de Recerca en Remugants. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España.
gladyselizabeth.gonzalez@e-campus.uab.cat

INTRODUCCIÓN

La ganadería del Paraguay es una de las actividades más importantes de su economía, su aporte al PIB fue 5,5 % en el 2014 (BCP, 2017). El ganado predominante es el bovino, cuyo censo se ha multiplicado por tres en los últimos 50 años, acelerándose este incremento en la última década, en la que se ha observado un crecimiento del 39%, alcanzando aproximadamente 14 millones de cabezas en el año 2016 (SENACSA, 2017). Acompañando los incrementos de los censos se ha ido produciendo un continuo crecimiento de las exportaciones de carne y derivados del bovino, estos incrementos han permitido que Paraguay haya pasado de ocupar el décimo lugar como exportador mundial en 2005 al octavo lugar en el 2013 (Ken, 2014), año en el que se exportaron 411.000 toneladas. En la actualidad el 43% del censo está ubicado en el Chaco, región que está registrando los mayores incrementos en los censos, el 62% en la última década. La repercusión que este aumento tan brusco del censo está teniendo en los sistemas de producción, la conservación del medio y su repercusión en el desarrollo rural de esta zona debería ser evaluada en términos de sostenibilidad (Bucher y Huszar, 1999). En este sentido el objetivo del presente trabajo es realizar una caracterización estructural de las explotaciones bovinas del Chaco que permita determinar el uso de los recursos utilizados y el nivel tecnológico implementado en relación a los diferentes aspectos que inciden en el proceso productivo siendo el punto de partida de posteriores estudios en los que se analicen los sistemas de producción ganaderos que se practican en la región y la sostenibilidad de los mismos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la Región Occidental o Chaco Paraguayo, región que representa el 61% (246.925 km²) del territorio paraguayo y está compuesta por tres departamentos (Presidente Hayes, Boquerón y Alto Paraguay) de los diecisiete que componen el Paraguay. El 72% de la superficie del Chaco se considera superficie agraria, de ésta, solo el 0,13% se dedica a cultivos permanentes, siendo el 61% pastos naturales y cultivados, el 33% forestal y el 6% otros usos. En esta región se encuentra el 2,8% de la población de Paraguay, siendo la densidad de 0,8 hab/km² (DGEEC, 2014).

Se diseñó un cuestionario con 125 preguntas, agrupadas en tres bloques temáticos relacionados con aspectos sociales, económicos y ambientales. Las preguntas fueron mayormente de tipo cerrado, con el fin de facilitar la codificación de la información, evitar sesgos de interpretación por parte del entrevistador y facilitar su análisis. Se realizaron un total de 80 encuestas, por el método de entrevista personal, a los responsables directos (encargados) de explotaciones bovinas, de las que 29 corresponden al Departamento de Presidente Hayes, 30 al departamento de Boquerón y 21 al departamento de Alto Paraguay. Se utilizó estadística descriptiva para el análisis de las variables, las diferencias entre regiones se contrastaron mediante un análisis ANOVA de un factor en el caso de las variables continuas, y con el test Chi-cuadrado en el caso de las variables cualitativas. Los cálculos se realizaron con el programa informático PSPP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general los datos presentan una alta variabilidad no observándose diferencias significativas entre los tres departamentos que conforman el Chaco Paraguayo, excepto en una mayor presencia de trabajo femenino en el Departamento de Presidente Hayes. Las explotaciones bovinas del Chaco paraguayo practican sistemas de producción extensivos, en las que el ganado se alimenta de los recursos pastables de la finca. De manera ocasional, en algunas fincas (49%) en épocas de escasez de pastos, por sequía o inundaciones, se da un aporte alimentario a los animales. Las explotaciones son de gran tamaño (Tabla 1), disponen de una superficie total media de aproximadamente 9.400 ha, de las que 5.500 ha corresponden a superficie útil destinada a proveer de alimentos al ganado, estos valores son muy superiores a los observados por Costa y Rehmana (1999) en la zona

Central de Brasil. En Paraguay existe una reglamentación donde se establece que cada finca debe dejar un porcentaje del área que ocupa como bosque nativo, cumpliendo con ciertas normativas para realizar las talas. Prácticamente en su totalidad las fincas están alambradas y la mayoría cuenta con la implantación de pasturas cultivadas de alta producción forrajera, como el Gatton Panic, pasto resistente a las altas temperaturas que caracteriza a toda la región. Todas las explotaciones cuentan con infraestructura adecuada para el manejo del animal y el desarrollo óptimo de los mismos (potreros, bretes, báscula y embarcadero para ganado). Más de la mitad de los establecimientos produce y consume algún tipo de energía renovable, cuentan con abastecimiento de agua propios y disponen de algún sistema de almacenamiento hídrico. Sin embargo, debido a las grandes distancias y lejanía de las zonas habitadas la red de caminos es bastante deficiente.

Tabla 1. Producción, superficie y mano de obra en explotaciones bovinas del Chaco paraguayo (media \pm desviación estándar).

Variable	Total	Presidente Hayes (n=29)	Boquerón (n=30)	Alto Paraguay (n=18)	P
Animales vendidos/año	1.151	882 \pm 843	1.418 \pm 1.643	1.142 \pm 1.764	0,371
Ventas/año (x 10 ³ €) ¹	666	429 \pm 324	774 \pm 899	838 \pm 1.433	0,234
Exportación (%)	76,1	66,8 \pm 23,8	82,2 \pm 25,2	75,1 \pm 22,2	0,154
Superficie total (ha)	9.464	6.949 \pm 8.557	12.371 \pm 20.306	8.783 \pm 7.575	0,327
Superficie pastoreo (ha)	5.530	5.079 \pm 6.572	6.610 \pm 10.805	4.610 \pm 4.676	0,640
UGM/ha	0,47	0,48 \pm 0,23	0,53 \pm 0,34	0,38 \pm 0,26	0,196
UTA	15,1	11,9 \pm 10,8	19,6 \pm 34,4	13,5 \pm 18,6	0,423
UTAs Femeninas (%)	13,7	19,8 \pm 12,5	8,0 \pm 10,3	13,4 \pm 11,9	0,001
UGM/UTA	173	190 \pm 242	193 \pm 134	122 \pm 75	0,287

¹Conversión: 1\$=0,8108€

En la Tabla 2 se observa que predominan las ganaderías que realizan las tres fases del ciclo. La cría llega hasta el destete que se produce a los 8 meses de edad en promedio, con un peso variable entre 180 y 200 kg. Para optimizar la alimentación se suelen adecuar el periodo de partos y lactancia a las épocas de mayor producción de pastos, las cubriciones suelen hacerse en octubre, los partos en julio y el destete en marzo, intentando adaptar estas fechas a las manifestaciones climáticas de cada año (sequía, inundaciones, heladas); la fase de recría va hasta los 14 meses, edad a la que los animales pasan a engorde. El sacrificio se suele realizar a los 30 meses, con un peso vivo medio de 450 kg. Entre las explotaciones que realizan la cría, el número medio de vacas es de 1.650, siendo éstas mayoritariamente criollas (54%), además encontramos cuatro razas predominantes (Tabla 2). La carga ganadera media es de 0,47 UGM/ha, valor ligeramente superior al observado por Abreu et al. (2010) en la vecina región del Pantanal en Brasil e inferior al reportado por Costa y Rehmana (1999) en la zona Central de Brasil.

Tabla 2. Fases del ciclo productivo y razas en explotaciones bovinas del Chaco paraguayo.

Variable	Total	Presidente Hayes (n=29)	Boquerón (n=30)	Alto Paraguay (n=21)	P
Fases del ciclo (%)					0,386
Cría, recría y engorde	47,5	48,3	50,0	42,9	
Cría y recría	13,8	24,1	10,0	4,8	
Recría y engorde	11,3	10,3	13,3	9,5	
Razas predominantes (%)					0,150
Criollas	53,7	50,00	57,9	54,6	
Brangus	14,8	20,8	10,5	9,1	
Braford	13,0	16,7	15,8	0,0	
Nelore	11,1	4,2	5,3	36,4	
Brahman	7,4	8,3	10,5	0,0	

Tabla 3. Nivel educativo del encargado y afinidad de los estudios con la ganadería bovina.

Variable	Total	Presidente Hayes (n=29)	Boquerón (n=30)	Alto Paraguay (n=21)	P
Formación encargado (%)					0,830
Universitaria	72,5	75,9	66,7	76,2	
FP	10,0	6,9	10,0	14,3	
Máster	6,3	10,3	6,7	0,0	
Afin a carreras agropecuarias	81,8	78,6	70,8	100,0	0,040

El número medio de trabajadores por explotación es de 15 UTA, mayoritariamente hombres, siendo el porcentaje de UTA femeninas/UTA totales de 13,7%, se observa una mayor presencia femenina en la región de Presidente Hayes que es la que está más próxima y presenta mejor red de comunicaciones con la capital del país, Asunción. Las mujeres suelen realizar las tareas administrativas, técnicas y domésticas, ya que los trabajadores están en régimen de alojamiento en las estancias ganaderas. En cuanto a los propietarios o encargados de las explotaciones se observa que una mayoría dispone de estudios universitarios de grado o Máster con formación afín a estudios agropecuarios (Tabla 3).

El 94% de los establecimientos se dedica únicamente a la venta de ganado, y el 6% restante además de venta de ganado diversifican su mercado ofreciendo otro tipo de producto (carbón, ganado ovino y productos agrícolas). En promedio, las ganaderías venden aproximadamente 1.150 animales al año de los que el 76% va a exportación. Los ingresos por venta del ganado son de aproximadamente 665.800 €/año.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, U.G.P., McManus, C. & Santos, A.S. 2010. Pastoralism. 1: 99–114.
- Bucher, E.H. & Huszar, P.C. 1999. J. Env. Man. 57: 99-108.
- Costa, F.P. & Rehman, T. 1999. Agric. Sys. 61: 135-146.
- Ken, J. 2014. Paraguay Livestock and Products Annual, USDA. Sitio web: <https://www.fas.usda.gov/data/paraguay-livestock-and-products-annual> (Accedido 08-01-2019)
- BCP. 2017. Anexo Estadístico del Informe Económico 2017, de Banco Central del Paraguay. Sitio web: <https://www.bcp.gov.py/anexo-estadistico-del-informe-economico-i365> (Accedido 10-12-2018).
- DGEEC, 2014. Anuario Estadístico. Sitio web: <http://www.dgeec.gov.py/Publicaciones/Biblioteca/anuario2014/Anuario%20Estadistico%202014.pdf> (Accedido 10-12-2018).
- SENACSA, 2017. Estadísticas Pecuarias. Sitio web: <http://www.senacsa.gov.py/index.php/informaciones/estadisticas> (Accedido 15-01-2019).

Agradecimientos: A los ganaderos del Chaco paraguayo por haber proporcionado los datos de su establecimiento para llevar a cabo este estudio.

LIVESTOCK FARMS CHARACTERIZATION AT THE PARAGUAYAN CHACO

ABSTRACT

Livestock in Paraguay is one of its most important activities in economic terms, contributing to the GDP 5.5% in 2014. The predominant livestock is beef cattle, reaching approximately 14 million heads in 2016. Currently, 43% of the census is located in the Chaco Region. The aim of this work is to carry out a structural characterization of cattle farms at the Paraguayan Chaco allowing the use of the resources and the level implemented in relation to the different aspects that affect the productive process as a starting point for further studies that identify production systems and the productive, economic and social indicators. Beef cattle at the Paraguayan Chaco are raised in extensive systems. Farm surface was approximately 9,400 ha on average, of which 5,500 ha correspond to usable area destined to provide food to livestock. The farms had modern basic facilities, and the area was surrounded completely. Farms used 15 AWU, with 173.4 UGM/AWU and a stocking rate of 0.47. On average the farms sell approximately 1,150 animals per year from which 76% goes to export. This amount 665.800 € approximately.

Keywords: Extensive farms, Production systems, Sustainability.

LA PRODUCCIÓN AGROPECUARIA EN EL ENTORNO DEL PARQUE NACIONAL DE LA PENEDA-GERÊS

Vale¹, A., Sá¹, C., Silva¹, S., Gomes¹, A., Nunes¹, F., César¹, J., y Afonso¹, I.

¹Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Convento de Refóios, 4990-706 Refóios do Lima, Ponte de Lima, Portugal; anapaula@esa.ipv.c.pt

INTRODUCCIÓN

La presente comunicación forma parte del proyecto RevitAgri-PNPG (Programa Operativo NORTE 2020). Con el inicio en mayo de 2017 y finalización programada para noviembre de 2019, la intervención del RevitAgri-PNPG está geográficamente limitada al Parque Nacional de Peneda-Gerês, abarcando los municipios de Arcos de Valdevez, Melgaço, Ponte da Barca, Terras de Bouro y Montalegre. En esta área se destaca la resiliencia de la producción agrícola al envejecimiento de las poblaciones y la despoblación local, sobre todo la producción animal, haciendo posible la conservación de los recursos endógenos y sistemas de producción hasta la actualidad. Sin embargo, aunque relevante, este soporte productivo no se traduce en la existencia de productos alimenticios de alto valor económico, aunque su percepción como alimentos de alta calidad parece ser indiscutible para los consumidores. Esta percepción, a menudo se deriva de conceptos de exclusividad y de conservación del medio ambiente asociados al PGNP, como consecuencia del hecho de que es el único Parque Nacional portugués, que abarca una amplia zona geográfica (alrededor de 70.000 hectáreas) y el mantenimiento de una gran reserva de patrimonio ecológico y paisajístico. El interés por la conservación de zonas y ecosistemas de alto interés ecológico y ambiental es hoy comúnmente considerado como estratégico y fundamental para el desarrollo de las naciones y de extrema importancia para el desarrollo rural de los territorios.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio tiene como objetivo principal contribuir al aumento de la valorización de los productos agroalimentarios producidos en el Parque Nacional Peneda-Gerês (PNPG), articulándose en torno a los siguientes objetivos estratégicos: i) identificación de productores y agronegocios; ii) conocer la percepción que los productores tienen de la opinión de los consumidores en relación a sus productos. A pesar de la relativa diversidad de productos de origen animal existentes en el área geográfica del proyecto, consideramos la caracterización de la producción de bovinos, ovinos y caprinos para carne. La metodología utilizada fue la realización de una encuesta presencial, recogiendo información estructural sobre los productores y los agronegocios existentes en el PNPG, con particular incidencia en los indicadores relativos a los aspectos productivos, estructura organizativa de la producción agrícola y mercados. En total se realizaron 136 encuestas a empresarios en el área de la producción animal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existen actualmente 136 explotaciones de producción animal en el PNPG (Figura 1). De todas las explotaciones actualmente existentes el 48% tienen más de veinte años de existencia, los años con mayor de creación de explotaciones, fueron 1998, 2000 y 2013. (Figura 2), es importante subrayar que este gráfico no representa la evolución del número de explotaciones, sino el año de creación y la evolución del número total de explotaciones que aún permanecen en actividad.

Desde el punto de vista de la naturaleza jurídica, todas las explotaciones analizadas están incluidas en la tipología "Empresario en Nombre Individual" ENI, no hay, por lo tanto, ningún tipo de sociedad. (El tipo de mano de obra dominante se basa en el reparto y la colaboración, no formalmente asalariada, siendo que el 64% de los encuestados trabajan con familiares y/o ayudantes. En total, fue posible contabilizar 266 trabajadores, de los cuales sólo el 24% tenía entre 18 y 38 años. Este hecho, evidencia algún envejecimiento de la mano de obra involucrada en las actividades productivas del sector.

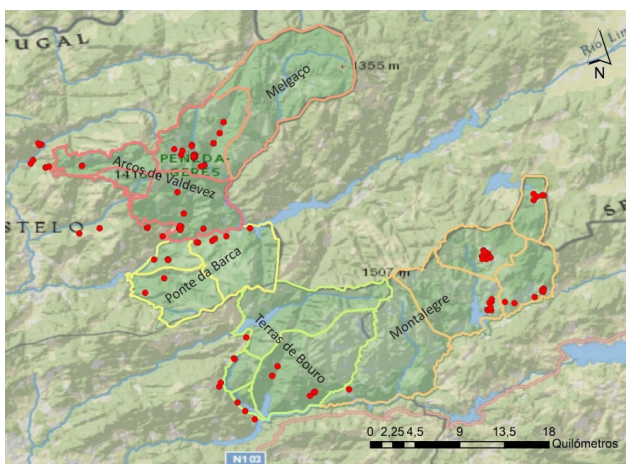


Figura 1. Distribución Geográfica de las explotaciones agropecuarias con sede en el Parque Nacional Peneda-Gerês.

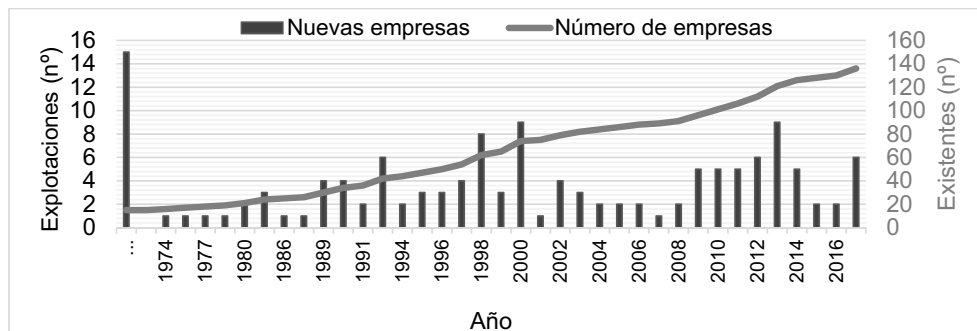


Figura 2. Año de inicio de actividad y evolución del número de las explotaciones actualmente existentes.

Desde el punto de vista de la relación con el mercado, aproximadamente el 74% de los encuestados refieren que comercializan sus productos, exclusivamente por la venta en el propio establecimiento mientras que el 15% (21 productores) utiliza para sus transacciones, en exclusiva o en combinación con la comercialización en la explotación, las ferias y los mercados locales. De los 136 encuestados, cerca del 11% refiere que utiliza los servicios de distribuidores, individualmente, o asociado a otros canales de venta. Las tecnologías de comunicación tienen muy poco impacto en la región de estudio, ya que sólo seis productores dan a conocer sus productos a través de medios electrónicos. En efecto, el 85% de los encuestados señala que no utiliza ningún medio de promoción y/o comunicación.

Cuando se preguntó a los productores sobre el hecho de que sus consumidores asocian fácilmente las características medioambientales del PNPG a los productos comercializados, la gran mayoría de los encuestados (81%) afirmó que esta asociación era obvia y fácilmente constatable. Sin embargo, los encuestados no centran el foco de esta asociación en el Parque Nacional, en sí mismo, sino en la designación territorial "Gerês", que aporta a los consumidores, un vasto conjunto de referencias simbólicas positivas (producto natural, de la montaña, etc.). En efecto, la localización en el PNPG parece no suscitar gran simpatía ante los encuestados. Esto se debe a las restricciones inherentes a la propia clasificación ambiental (como Parque Nacional), que regulan y determinan la actividad económica de los productores agrícolas. Igualmente, la supuesta falta de articulación funcional y orgánica

descrita por la mayoría de los productores entre los servicios del parque y las políticas sectoriales de los distintos ministerios nacionales, en particular, el “Ministerio de la Agricultura, Florestas y Desarrollo Rural” constituyen razones de bloqueo, como por ejemplo que los trabajadores no aceptan algunas reglas que se les impone, y se quejan de falta de comunión de las entidades con ellos. Sin embargo, cuando se cuestiona la posibilidad de utilizar en los productos agroalimentario un sello y/o una marca identificadora del parque, el 75% de los encuestados se mostró favorable a esta identificación. En efecto, la gran mayoría de los productores no descarta la posibilidad de utilizar y asociar sus productos a una marca colectiva, pero afirman que la misma debería centrarse esencialmente en los valores (ambientales y sociales) del espacio geográfico y no tanto sobre el concepto de "Parque Nacional". Los resultados hasta ahora obtenidos permitieron desarrollar un análisis DAFO, que se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis DAFO de las explotaciones agropecuarias con sede en el Parque Nacional Peneda-Gerês

Fortalezas	Debilidades	Amenazas	Oportunidades
Abundancia de pastos naturales; Animales criados al aire libre.	Instalaciones antiguas; Falta de mano de obra; Ausencia de cultivos forrajeros locales; Parcelas de tamaño reducido; Accesos en mal estado.	El lobo; Reglas impuestas por el PNPG; Escasa red móvil en algunos lugares; Escasa iluminación pública en los accesos más próximos de la explotación; Incendios.	Subsidios; Abundancia de “baldíos” (terreno poseído y gestionado por una comunidad local); Pasto de calidad; Existencia de asociaciones de creadores y de “baldíos”.

De los resultados presentados se concluye que existe un margen razonable de progreso para potenciar las producciones agroalimentarias típicas del PNPG. Sin embargo, parece evidente que es fundamental encontrar vías de diálogo y de cooperación entre los productores y los responsables del PNPG para fomentar la calidad y el valor añadido de los productos obtenidos en el marco geográfico del parque. La continuidad de la actividad del sector parece no estar en peligro, sin embargo, la edad avanzada de los productores puede ser un condicionante futuro. La innovación tecnológica, sobre todo en el control del pastoreo, la cooperación empresarial, así como el reparto de equipos y medios, pueden contribuir a superar algunas de las debilidades identificadas, sobre todo el problema de la falta de mano de obra. En este contexto, el proyecto Revitagri-PNPG, a través de todas sus acciones, podrá aportar contribuciones significativas en la valorización de los productos agropecuarios provenientes del Parque Nacional De La Peneda-Gerês.

LIVESTOCK FARMING PRODUCTION IN PENEDA-GERES NATIONAL PARK

ABSTRACT: The recognition of agricultural and agro-food products associated with protected areas is being studied in several parts of the world. Similarly, the RevitAgri-PNPG project intends to improve the network of production, distribution and consumption of the products obtained in the protected area of the single Portuguese National Park. The main goal of this work is the analysis of the situation of agribusiness producers and entrepreneurs present in the Peneda-Gerês National Park (PNPG). Two surveys were carried out on 136 producers and managers of the park involved in the raising of cattle, sheep and goats. These results suggest that consumers are much more responsive to the geographical reference "Gerês" than to the formal and institutional designation "PNPG". This study may enable an action to be taken under the RevitAgri-PNPG project in order to improve the marketing of the mountain products from the region.

Keywords: Parque Nacional Peneda-Gerês; valuation of food products; animal production; mountain farming

ANÁLISIS DE LOS REBAÑOS DE LA CAPV ADSCRITOS A LA DOP IDIAZÁBAL CON RELACION A LA UTILIZACIÓN DE ALIMENTOS DE LA ZONA PROTEGIDA

Ruiz, R.¹, Goiri I.¹, Mandaluniz, N.¹, Arranz, J.¹, García-Rodríguez, A.¹, Molina M.²

¹NEIKER-Tecnalia, Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz; ²CRDO Idiazábal;

rruiz@neiker.eus

INTRODUCCIÓN

En 1987 se creó la denominación de origen protegida (DOP) del queso Idiazábal para certificar y proteger su calidad a través del mantenimiento de las razas Latxa y Carranzana, y de su sistema de producción en las explotaciones ubicadas en la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV) y Navarra. Tras la publicación del Reglamento Delegado (UE) N° 664/2014 de la Comisión de 18 de diciembre de 2013, que completa el Reglamento (UE) n° 1151/2012 en lo referente al establecimiento de los símbolos para las DOPs, indicaciones geográficas protegidas (IGP) y especialidades tradicionales garantizadas, es preciso establecer normas con relación a la procedencia de las materias empleadas en la alimentación animal. Así, se indica que las materias primas usadas para la alimentación de los animales debe proceder íntegramente de la zona geográfica delimitada, si bien cuando no sea posible, se admitirán materias procedentes de fuera de dicha zona, siempre que la calidad del producto no se vea afectada, y no se rebase el 50 % de la materia seca sobre una base anual. Con objeto de evaluar la situación actual del manejo de la alimentación en los rebaños adscritos a la DOP, y con vistas a la aplicación de dicho Reglamento Delegado, se ha llevado a cabo un proyecto financiado por las Ayudas a la Cooperación (Artículo 35 del Reglamento UE n°1305/2013) y el Gobierno Vasco.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 60 rebaños de la CAPV representativos de la DOP Idiazábal, en base a su tamaño, localización geográfica, participación en programas de gestión, sistema de comercialización (leche o queso), utilización de recursos naturales, etc. La recogida de información se realizó por medio de visitas y encuestas semiestructuradas durante 2017. En las encuestas se recogió información sobre: i) datos generales y manejo del rebaño (base territorial-SAU, censo y lotes de animales, ciclo productivo, producción lechera mensual, composición en grasa y proteína, etc.); ii) manejo del pastoreo, periodos y grupos de animales en valle y monte; iii) la relación de alimentos empleados en las distintas fases del ciclo productivo, su origen (local o producido dentro de la zona de la DOP, o foráneo) y sus consumos: disponibilidad en cantidades producidas o compradas así como su calidad, en el caso de disponer de análisis de laboratorio. Cuando no se ha podido verificar el origen local de un alimento, se ha considerado como foráneo. Con todo ello, se calcularon las necesidades en materia seca (MS), energía (E) y proteína (P) a lo largo de todo el año utilizando las ecuaciones descritas por Hassoun y Bocquier (2007) para calcular las necesidades de ovejas lecheras, las ecuaciones del AFRC (1995) y el CSIRO (1990) para las necesidades de desplazamiento, mientras que para la estima de los desplazamientos en monte se tomó como referencia el trabajo de Marijuan (1996). Teniendo en cuenta las cantidades de alimentos ofertados y las necesidades calculadas con el programa INRATION (versión 4,0), (Baumont *et al.*, 2007), se estimó la cantidad de pasto ingerido durante los meses de lactación. Para el resto de los meses se tomaron como referencia las tablas y ecuaciones descritas por Hassoun y Bocquier (2007). Posteriormente para cada explotación se calculó el porcentaje anual total que representan las materias primas producidas en el entorno geográfico de la DOP Idiazábal en cuanto a MS, E y P.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal como muestra la Tabla 1, existe una gran diversidad de explotaciones adscritas a la DOP Idiazábal tanto en el tamaño de rebaño (entre 40 y 1000 ovejas), la disponibilidad de superficie (de 5 a 150 ha) y la productividad obtenida (de 21 a 320 litros/oveja). Cabe destacar que todos basan su manejo en el pastoreo durante al menos 7 meses al año, y el 70% de los rebaños analizados usan pastos comunales o de montaña durante una parte del año.

Tabla 1. Características de los rebaños de la DOP Idiazábal analizados.

	Tamaño rebaño (n ovejas)	SAU (ha)	Ovejas/ SAU (n ovejas/ha)	SAU valle (ha)	SAU monte (ha)	Meses valle (n)	Meses monte (n)	Meses pastoreo (n)	Litros / oveja
Media	325	62	6,9	36	24	7,5	2,8	10,3	157
Std	200	39	6,0	26	25	2,6	2,3	1,3	69
Min	40	5	0,7	3	0	2,0	0,0	7,4	21
Max	944	156	43,1	156	100	12,0	8,0	12,0	321

Los rebaños combinan un promedio de $2,15 \pm 0,91$ tipos de forrajes a lo largo del ciclo productivo, principalmente heno de hierba, y en menor medida silo, elaborados en las propias explotaciones. No obstante, el 53% suplementan con heno de alfalfa principalmente comprado en Aragón, y el 20% utilizan heno de veza, tanto de origen local como foráneo.

Tabla 2. Tipo y procedencia de los forrajes más habituales: “propio” (elaborado en la propia explotación), “local” (comprado dentro de la zona geográfica de la DOP), o “foráneo” (comprado fuera de la zona geográfica definida en la DOP).

Tipo de forraje	% uso	Procedencia de los forrajes (%)		
		propio	local	foráneo
Heno hierba	80,0	93,8	4,2	2,0
Heno alfalfa	53,3	11,0	28,0	61,0
Heno veza	20,0	16,6	41,7	41,7
Silo hierba	18,3	100,0	0,0	0,0
Heno festuca	13,3	7,3	0,0	92,7
Alfalfa desh,	8,3	0,0	20,0	80,0
Paja	8,3	0,0	20,0	80,0
Heno Veza-avena	5,0	33,3	0,0	66,7
Otros	5,0	67,0	33,0	0,0

Además, los rebaños utilizan un promedio de $1,87 \pm 1,02$ tipos de piensos concentrados diferentes durante el ciclo productivo, siendo el empleado para la suplementación de la lactación el más habitual, seguido de otros piensos (de mantenimiento, principalmente), cereales (avena y cebada, seguido del maíz) y pulpa de remolacha.

Los alimentos locales, producidos en el entorno de la CAPV y Navarra, contribuyen a aportar, por término medio (Figura 1): el 71% de la materia seca anual consumida, el 67% de las necesidades totales anuales de E, y el 64% de las necesidades de proteína de los rebaños. En el 88,4% de los rebaños de la muestra (n=53 rebaños), las materias primas locales suponen más del 50% de la materia seca total consumida en los rebaños, por lo que únicamente en el 11,6% (n=7 rebaños) no se llega a esa cantidad mínima.

Como conclusión, el grado de abastecimiento de los rebaños con alimentos producidos en el ámbito de la zona protegida por la DOP Idiazábal es alto (71% de media), principalmente porque basan su alimentación en gran medida en el pastoreo, bien sea sobre pastos de valle o comunales de montaña. En los rebaños que dependen en mayor medida de alimentos foráneos, habrá que incidir en la optimización de la utilización de los recursos naturales del entorno, y en el acceso a cultivos o forrajes del ámbito de la DOP.

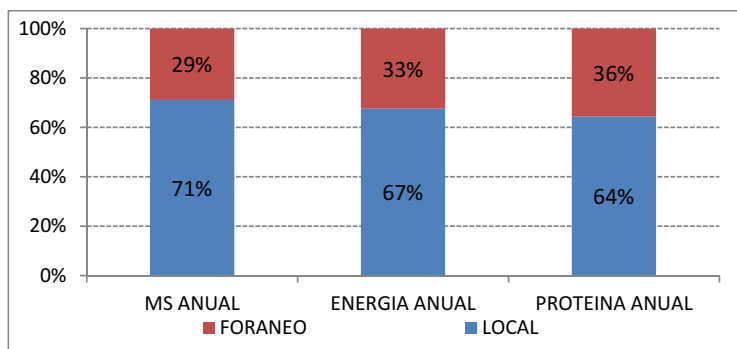


Figura 1. Contribución de las materias primas locales (producidas en la CAPV o Navarra) o foráneas a satisfacer las necesidades anuales, expresadas en términos de materia seca (MS) consumida, Energía y Proteína, en los rebaños de la DOP Idiazábal: valores medios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.F.R.C.- Agricultural and Food Research Council (1995). Energy and protein requirements of ruminants. CAB International, Wallingford (UK), pp: 1-159. • Baumont, R., Dulpht, J.-P., Sauvant, D., Tran, G., Meschy, F., Aufrere, J., Peyraud, J.-L., Champciaux, P. (2007). Les tables de la valeur des aliments, in: Alimentation Des Bovins, Ovins et Caprins. Besoins Des Animaux-Valeurs Des Aliments. Tables INRA 2007. Éditions Quae, Versailles Cedex. pp: 181-275. • C.S.I.R.O.- Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Standing Committee on Agriculture, Ruminants Subcommittee, (1990). Feeding standards for Australian livestock. Ruminants. CSIRO Publications, pp: 1-266. • Hassoun P. y Bocquier F. (2007). Alimentation des ovins, in: Alimentation Des Bovins, Ovins et Caprins. Besoins Des Animaux-Valeurs Des Aliments. Tables Inra 2007. Éditions Quae, Versailles Cedex, pp: 121–136. • Marijuan, S. (1996). El pastoreo en comunales: estudio del comportamiento de las ovejas y la utilización de los recursos disponibles. Tesis de Master, Zaragoza. Pps: 165.

Agradecimientos: Los autores agradecen a los técnicos de Lursail, Abere, Abelur, Lorra, Artzai Gazta y Latxa Esnea, y a todas las personas encuestadas, titulares de los rebaños de la CAPV adscritos a la DOP Idiazábal. Este trabajo fue cofinanciado por las Ayudas a la Cooperación, Artículo 35 del Reglamento (UE) nº1305/2013 y el Gobierno Vasco.

ANALYSIS OF THE FLOCKS OF THE BASQUE COUNTRY ADSCRIBED TO THE IDIAZABAL PDO IN RELATION TO THE USE OF FEEDS FROM THE PROTECTED AREA

ABSTRACT: The EU demands that the feed for animals whose products are certified by a Protected Designation of Origin (PDO) come from the area protected by the PDO. A sample of 60 flocks from the Basque Country, representative of the existing ones within the PDO Idiazabal, were surveyed regarding production data (flock size, production cycle, quantity and milk composition), and feeding management (grazing calendars, origin of foods used, quality and quantity of forages and concentrates used, etc.). Monthly and annual energy and protein requirements of the sheep in each flock were estimated. Based on feed intake data recorded in the questionnaires, the percentage of energy and protein requirements satisfied by local feed was estimated for the sheep of each flock. Regarding sheep intake, 71% of dry matter corresponds to pasture and/or feed originated in the PDO area, which satisfy 67% of the annual energy requirements of the flocks and 64% of protein requirements.

Keywords: dairy sheep, production systems, feeding, PDO cheese.

EL COMERCIO INTERNACIONAL DE PRODUCTOS CÁRNICOS Y LA SIMILITUD CON LAS NORMAS TÉCNICAS Y SANITARIAS DE LA UE

Sanjuán¹, A.I. y Peci¹, J.

¹CITA, Gobierno de Aragón. Avda Montañana 930, 50059 Zaragoza; aisanjuan@aragon.es

INTRODUCCIÓN

El comercio intra-comunitario se ve favorecido por un alto nivel de estandarización de las regulaciones técnicas y sanitarias que, sin embargo, es de esperar que no exista al exportar a terceros países. Estas regulaciones forman parte de un grupo más amplio de medidas conocidas como Medidas No Arancelarias (MNAs). Las MNAs son "medidas de política, distintas de los aranceles aduaneros ordinarios, que pueden potencialmente tener un efecto económico sobre el comercio exterior, afectando a la cantidad y/o precio de los bienes comercializados" (UNCTAD, 2017a). Muchas de estas medidas, como las mencionadas sanitarias y técnicas, en principio persiguen objetivos legítimos, tales como la protección de la salud o del medio ambiente, si bien no se pueden excluir ciertos fines proteccionistas en ausencia de suficiente evidencia científica o en un contexto internacional marcado por una reducción continuada de los aranceles. En este trabajo, exploramos la base de datos global sobre MNAs (UNCTAD 2017b) para describir la intensidad regulatoria y los tipos de medidas más utilizados en el comercio mundial de productos cárnicos, centrándonos en particular en la UE como exportador. Dicha descripción se basa en el cálculo de dos conjuntos de indicadores, unilaterales (i.e. desde la perspectiva del importador) y bilaterales. Los primeros son recurrentes en la literatura (Gourdon, 2014) y los segundos son más recientes (Cadot et al. 2015; UNCTAD, 2017c) y explotan la idea de similitud de la estructura de MNAs entre exportador e importador. Proporcionamos información específica para regiones y países¹, que han firmado o están en proceso de firmar acuerdos de integración más profundos con la UE, brindando nuevas oportunidades comerciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El inventario de MNAs proviene de la base de datos UNCTAD TRAINS (UNCTAD, 2017b) y explicada en detalle en UNCTAD (2017a). En dicha base, se incluyen las medidas aplicadas por 57 países (incluida la UE como un único bloque), a cada una de las líneas de productos clasificadas según el Sistema Armonizado (conocido como HS por sus siglas en inglés), al nivel de desagregación de 6 dígitos (HS6). Asimismo, las medidas se clasifican en categorías, tales como medidas sanitarias (categoría A: SPS por sus siglas en inglés) y técnicas (categoría B: TBT) las cuales, a su vez, se subdividen en subcategorías que pueden llegar hasta los cuatro dígitos.

Para hacer operativa la descripción, utilizamos la clasificación sectorial de GTAP (*Global Trade Analysis Project*): carne de bovino y ovino, principalmente – CMT (*cattle meat*); y otras carnes, fundamentalmente porcino y aves – OMT (*other meat*), que incluyen 36 y 61 líneas HS6, respectivamente, y representan carnes frescas, refrigeradas, congeladas, en canales, medias canales o despiezadas, así como despojos comestibles y preparaciones cárnicas.

Para poner la descripción en perspectiva, comparamos los resultados con los sectores generales de agricultura, alimentos y manufacturas. Además, utilizamos datos comerciales de la base de datos ComTrade para la ratio de cobertura (ver abajo).

Calculamos **indicadores unilaterales**², siguiendo de cerca Gourdon (2014): la Ratio de Frecuencia (FR) (e1) muestra la proporción de líneas HS6 (h) importadas por el país (j) afectada por al menos una MNA³, donde Nh es el número total de productos y d es una variable "dummy" que identifica si el producto es afectado o no por alguna MNA. La Intensidad Regulatoria (RI) (e2) cuenta el número de medidas (Nm) que, en promedio, afectan a un producto importado. La Ratio de Cobertura (CR) (e3), calcula la proporción del valor de importaciones (v_h^j) sujetas a MNAs. El Índice de Alcance (RS) (e4), cuenta el

¹ ec.europa.eu/trade/policy/countries-and-regions/negotiations-and-agreements

² Mantenemos los acrónimos de los indicadores empleados en inglés por conveniencia y facilidad en el seguimiento con la literatura internacional.

³ En la contabilización de MNAs, se excluyen las denominadas genéricas, y que son aquellas que un país impone a todas las líneas de producto importadas.

número de categorías de MNAs definidas con 4 dígitos (k) que afectan en promedio a cada línea HS6.

$$FR^j = \frac{\sum_h d_{h,k}^j}{Nh^j} \cdot 100 \text{ (e1)} \quad RI^j = \frac{\sum_h Nm_{h,k}^j}{Nh^j} \text{ (e2)} \quad CR^j = \frac{\sum_h d_{h,k}^j v_h^j}{\sum_h v_h^j} \cdot 100 \text{ (e3)} \quad RS^j = \frac{\sum_h \sum_k d_{h,k}^j}{Nh^j} \text{ (e4)}$$

Los **indicadores bilaterales** ayudan a visualizar el grado de similitud o desemejanza de los patrones de regulación entre países y/o regiones. Para ello, definimos tres indicadores. **Índice de Similitud** (SI) (e5), introducido por Cadot et al. (2015), donde $d_{h,k}^j$ es una “dummy” con valor igual a 1 cuando el importador aplica al menos una MNA de la subcategoría k (definida a 4 dígitos) ($k = 1, \dots, K$), al producto (h); $id_{h,k}^j$ implica lo mismo, pero para el exportador i . Si varía entre 0 (ambos países utilizan categorías distintas de MNAs) y 1 (ambos países aplican las mismas categorías de MNAs). El **Margen de la Intensidad Regulatoria** (RIG) (e6), inspirada por el trabajo de Ferro et al. (2015), es la diferencia en el número de medidas (Nm) aplicadas por el exportador e importador, para cada producto, promediado sobre el número completo de categorías MNA. RIG no está acotado: un número positivo (negativo) indica que el importador impone un número de medidas más alto (más bajo) que el exportador, en promedio en todas las categorías. La **Superposición regulatoria** (RO), (e7), como en UNCTAD (2017c), mide la proporción de categorías de MNAs (a nivel de 4 dígitos) aplicadas por el importador que también aplica el exportador.

$$SI_h^{ij} = 1 - \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K |d_{h,k}^j - id_{h,k}^j| \text{ (e5)} \quad RIG_h^{ij} = \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K Nm_{h,k}^j - iNm_{h,k}^j \text{ (e6)} \quad RO_h^{ij} = \frac{\sum_{k=1}^K d_{h,k}^j \times id_{h,k}^j}{\sum_{k=1}^K d_{h,k}^j} \text{ (e7)}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 presenta **indicadores unilaterales** para los sectores CMT, OMT y los agregados sectoriales, para diferentes categorías de MNA (todas, SPS, TBT y otras), calculados sobre el conjunto de países disponibles (57). El análisis de **RS y RI** en el primer y segundo panel muestra una mayor prevalencia de medidas “SPS” y “TBT” en agricultura y alimentación, en comparación con manufacturas. Estos indicadores también destacan los productos cárnicos como los más regulados, superiores al promedio general del sector alimentario. **FR y CR** en el tercer y cuarto panel de la tabla 1 son similares entre sí, donde observamos que al menos una MNA afecta a más del 95% del comercio agroalimentario y en tanto que en manufacturas la ratio es inferior al 67%. Esta diferenciación es más aguda al dividir en categorías de MNAs: las medidas “SPS” afectan a más del 88% del comercio agrícola y alimentos y a menos del 12% de manufacturas. La incidencia de “TBT” es menor que la de “SPS” en productos agrícolas y alimentarios (máximo 76%) y claramente mayor en manufacturas (54%). Ambos sectores cárnicos (CMT y OMT) presentan ratios superiores al 95%. Estos porcentajes son más bajos cuando se dividen por categorías de MNAs, pero siguen manteniendo el mismo patrón: las “SPS” afectan más al comercio agroalimentario que cualquier otro tipo de medida.

La tabla 2 presenta los **indicadores bilaterales** promedios, para cada sector cárnico y agregados sectoriales, para los mismos cuatro grupos de MNAs, calculados para 5 regiones/países de especial interés para la UE por el desarrollo en curso de negociaciones comerciales. El **RO** en el primer panel de la tabla 2 muestra resultados ligeramente más altos para la agricultura que para el sector alimentario. Los mayores valores de superposición regulatoria de la UE se registran con China en todas las categorías aparte de las TBT. Canadá, por otro lado, es el país con el RO más bajo, lo que significa que la UE comparte el menor número de MNAs con este país en todas las categorías. **SI** en el segundo panel de la tabla 2, muestra resultados similares para los sectores agrícola y alimentario. Se notan diferencias en los sectores cárnicos, donde se observa el mayor SI con China (0,4) para ambos sectores CMT y OMT, y el más bajo con Canadá (0,11), lo que significa que la UE comparte una estructura NTM más homogénea con China que con las otras regiones o países. Dividiendo por categorías de MNAs, nuevamente observamos que la UE comparte la mayoría de las regulaciones con China en medidas SPS (0,50), y con MERCOSUR en medidas TBT (0,38), mientras que la estructura de MNA más heterogénea se observa para medidas TBT con China (0,0) y con MERCOSUR para medidas SPS (0,19). El **RIG** en el último panel de la tabla 2 muestra resultados idénticos para todos los sectores y países, con diferencias insignificantes. Al diferenciar por categorías de MNAs, los resultados de las medidas SPS muestran que la UE aplica un número mayor de estas medidas que el

promedio mundial. Al observar distintos países o regiones, se aprecia que Japón aplica un número mayor de MNAs de tipo SPS en el sector CMT (4,2). Canadá registra el RIG más alto para las medidas de SPS y en medidas TBT (9,0) en ambos sectores cárnicos.

Existe un alto nivel de heterogeneidad en la utilización de MNAs en todos los sectores y regiones. Estas diferencias plantean un desafío para negociadores y decisores políticos que traten de alinear los patrones de MNAs, buscando un equilibrio entre el mantenimiento de altos niveles de seguridad alimentaria y la menor distorsión posible sobre el comercio. Las diferencias entre regiones y sectores pueden proporcionar una idea general sobre los países y sectores con políticas no-arancelarias más estrictas, si bien de los datos no se puede deducir, ni el grado de rigor en su puesta en práctica, ni el impacto sobre el comercio, más cuando es previsible que algunas medidas incluso puedan favorecerlo.

Tabla 1. Indicadores unilaterales. (Fuente: Cálculos propios a partir de UNCTAD (2017b).

Sector:	Índice de Alcance				Intensidad Regulatoria				Ratio de Frecuencia				Ratio de Cobertura			
	Todo	SPS	TBT	Otro	Todo	SPS	TBT	Otro	Todo	SPS	TBT	Otro	Todo	SPS	TBT	Otro
CMT	15.7	8.0	2.9	2.4	21.8	12.4	4.2	1.4	97%	95%	76%	68%	98%	95%	76%	55%
OMT	15.5	8.0	2.8	2.4	21.8	12.7	4.3	1.4	98%	96%	77%	51%	97%	95%	73%	52%
Agricultura	12.7	5.9	2.4	2.4	16.4	9.2	3.3	1.3	96%	89%	67%	56%	95%	88%	69%	62%
Alimentación	13.8	6.7	2.8	2.4	18.3	10.2	4.2	1.3	96%	91%	76%	52%	98%	90%	80%	58%
Manufactura	5.3	0.4	1.5	2.3	4.5	0.5	2.6	0.8	53%	10%	38%	28%	67%	12%	54%	41%

Tabla 2. Indicadores bilaterales. (Fuente: Cálculos propios a partir de UNCTAD (2017b).

Región/País	Superposición Regulator. (RO)				Índice de Similitud (SI)				Margen Intensidad Reg. (RIG)				
	Todo	SPS	TBT	Otro	Todo	SPS	TBT	Otro	Todo	SPS	TBT	Otro	
CMT	ASEAN	0.40	0.50	0.52	0.07	0.29	0.33	0.33	0.06	0.01	-1.78	0.80	1.85
	Canadá	0.22	0.31	0.12	0.00	0.17	0.22	0.10	0.00	0.05	-3.18	9.00	2.30
	China	0.53	0.60	0.04	1.00	0.40	0.52	0.00	0.69	-0.03	-2.27	-2.50	-0.62
	Japón	0.37	0.40	0.35	0.61	0.28	0.30	0.30	0.55	0.06	4.15	6.18	0.88
	Mercosur	0.42	0.42	0.46	0.74	0.21	0.19	0.37	0.57	-0.04	-9.42	2.02	-0.02
OMT	ASEAN	0.42	0.51	0.52	0.12	0.29	0.33	0.30	0.11	-0.01	-3.04	-0.69	2.12
	Canadá	0.23	0.34	0.14	0.00	0.18	0.23	0.11	0.00	0.03	-4.98	8.00	2.64
	China	0.51	0.59	0.11	0.89	0.39	0.50	0.06	0.84	-0.03	-2.80	-2.84	0.18
	Japón	0.41	0.41	0.55	0.50	0.32	0.32	0.38	0.48	0.01	1.27	0.61	0.50
	Mercosur	0.40	0.42	0.51	0.60	0.21	0.19	0.39	0.57	-0.04	-10.30	1.76	0.92
Agricultura	0.43	0.62	0.57	0.43	0.20	0.26	0.20	0.36	-0.03	-6.70	0.04	1.07	
Alimentación	0.42	0.52	0.51	0.36	0.22	0.27	0.24	0.22	-0.03	-6.70	0.38	0.93	

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cadot et al. (2015). Deep Regional Integration and Non-Tariff Measures: A Methodology for Data Analysis. UN, 69, 37.
- Gourdon, J. (2014). CEPII NTM-MAP: A tool for assessing the economic impact of Non-Tariff Measures.
- Ferro et al. (2015). Food Policy, 50, 68–79.
- UNCTAD (2017a). TRAINS: The Global Database on Non-Tariff Measures - User Guide (Version 2).
- UNCTAD (2017b). Non-Tariff Measures Database.
- UNCTAD (2017c). Non-Tariff Measures in Mercosur: Deepening Regional Integration and Looking Beyond. UN.

Agradecimientos: Los autores agradecen la financiación del INIA, proyecto RTA2015-00031-00-00, cofinanciado por el FEDER 2014-2020.

INTERNATIONAL TRADE OF MEAT PRODUCTS AND SIMILARITY WITH THE EU SPS/TBT STANDARDS

ABSTRACT: The objective is to describe the degree of similarity between the sanitary and technical measures applied in the EU and main world importers that affect international trade of meat. Using the UNCTAD TRAINS database on Non-tariff Measures (NTMs), both unilateral and bilateral indicators are calculated. Such indicators help to observe which destination countries can be more difficult to access due to the weight of NTMs and/or which sectors may be more affected, but also with which markets the EU shares a higher similitude in regulations and, accordingly become more accessible for EU exports.

Keywords: *International Trade, Meat sector, non-tariff measures, European Union.*

BIODIVERSIDAD ASOCIADA A LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN OVINA EN PORTUGAL

Fernandes¹, E., Cadavez¹, V., Celaya², R., Gonzales-Barron¹, U., Cerqueira^{3,4}, J.L. y Rosa García², R.

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolonia, 5300-253 Bragança, Portugal. ²Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), 33300 Villaviciosa, Asturias, España. ³Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. ⁴Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - Universidade de Tras-os-Montes e Alto Douro (UTAD), 5000-801 Vila Real, Portugal; rociior@serida.org

INTRODUCCIÓN

Los consumidores demandan cada vez más alimentos asociados a sistemas productivos sostenibles que contribuyan a la conservación de la biodiversidad. Portugal es uno de los países europeos con gran diversidad de sistemas agrarios asociados a hábitats y paisajes rurales de reconocido valor ambiental, siendo además esenciales para otros sistemas productivos como el turismo. Esos paisajes actuales derivan con frecuencia de sistemas ganaderos sumidos actualmente en una etapa recesiva cuyas consecuencias van más allá de las meramente productivas (Domingues Martinho, 2017). Para asegurar la sostenibilidad del sector agropecuario y de las zonas rurales, el Plan de Desarrollo Rural para Portugal 2014-2020 financia líneas prioritarias que incluyen la conservación de los ecosistemas y el uso sostenible de los recursos naturales. Entre las herramientas para revalorizar el sector ganadero está la de obtener un mejor conocimiento de la capacidad de los diferentes sistemas productivos para proveer servicios ecosistémicos clave, como es la biodiversidad. En este trabajo se han caracterizado diferentes tipos de pastos con ovino en Portugal en base a las características básicas de su cubierta vegetal y la biodiversidad de artrópodos asociados, incluyendo los polinizadores, excelentes bioindicadores de la calidad de los ecosistemas y proveedores de servicios esenciales, incluida la propia polinización, clave para la supervivencia de los pastos y muchos forrajes, entre otros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se caracterizaron los pastos en cuatro fincas representativas de los sistemas de ovino vigentes en Portugal (dos en Ponte de Lima: PL1 y PL2; dos en Braganza: Br1 y Br2), así como las comunidades de artrópodos foliares, su abundancia y diversidad (Tabla 1). Durante la época de mayor floración, cada finca se dividió en 4 zonas distintas de pastos de similar tamaño y en cada una se capturaron los artrópodos con manga entomológica a lo largo de 6 transectos al azar, tras 25 pasadas con la manga en cada uno. Se identificaron todos los artrópodos a nivel de clase, orden y familia (para los órdenes Araneae, Opiliones, Coleoptera y Hemiptera). En cada zona se tomaron 100 medidas al azar de la altura de la cubierta vegetal, y en 10 cuadrados de 50 cm de lado situados al azar se registraron los porcentajes de los principales componentes del pasto (gramíneas, leguminosas, otras herbáceas y suelo desnudo), así como el número de especies vegetales y número de flores coroladas. Las diferencias en las variables de fauna (de los grupos más abundantes) y flora entre las fincas se examinaron mediante análisis de varianza, tomando las 4 zonas de pastos de cada finca como unidades experimentales. Las relaciones entre flora y fauna se evaluaron mediante correlaciones bivariadas de Pearson.

Tabla 1. Características de los pastos manejados con ovino en Portugal.

Finca	PL1	PL2	Br1	Br2
Grado intensificación	Intensivo	Extensivo	Intensivo	Extensivo
Bioregión	Atlántica	Atlántica	Mediterránea	Mediterránea
Localización	Ponte de Lima	Ponte de Lima	Braganza	Braganza
Tipo de pasto y manejo	Prado + concentrados	Prados	Prado + concentrados	Prados bajo castañeda

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pastos de las zonas de estudio diferían en varios parámetros vegetales y animales, si bien no se detectaron diferencias claras asociadas a las distintas bioregiones o grados de intensificación (Tabla 2). Así sucedió con el porcentaje de gramíneas ($P < 0,05$), el cual tendía a ser menor en PL2 que en Br1 ($P = 0,090$). El porcentaje de leguminosas presentó menores valores en Br1 que en el resto ($P < 0,001$), dándose su mayor presencia en PL2. La altura del pasto también varió entre las fincas ($P < 0,05$), tendiendo a ser mayor en Br2 que en PL1 ($P = 0,051$) y en Br1 ($P = 0,073$). No se detectaron diferencias en el número de flores, pero sí en la riqueza de especies ($P < 0,001$), registrándose los menores valores en Br1 (Tabla 2). Los porcentajes de gramíneas y leguminosas se correlacionaron negativamente entre sí ($r = -0,80$; $P < 0,001$), mientras que el porcentaje de leguminosas se relacionaba positivamente con la riqueza de especies ($r = 0,73$; $P < 0,001$) y el número de flores ($r = 0,50$; $P < 0,05$). Estudios previos vinculan la diversidad de los pastos con una mayor biodiversidad faunística, pero además, los pastos con mayor presencia de leguminosas favorecen sistemas productivos más eficientes por su aporte de proteína a la dieta del ganado, mayor capacidad de fijar nitrógeno y reducir la demanda de fertilizantes, así como por su capacidad de mejora del perfil edáfico del suelo (Baizán et al., 2018).

Tabla 2. Características del pasto y abundancia y riqueza de artrópodos en cuatro fincas de ovino (medias de 4 zonas de pastos en cada finca). Los datos de fauna corresponden a las medias de los 6 transectos (25 m) por zona.

Finca	PL1	PL2	Br1	Br2	e.e.m.	Significación
Gramíneas (%)	34,6	25,9	60,0	54,3	8,4	*
Leguminosas (%)	36,1	54,0	1,5	28,9	4,3	***
Otras herbáceas (%)	25,9	12,8	23,9	10,1	5,0	NS
Suelo desnudo (%)	3,4	7,4	14,6	7,0	4,9	NS
Altura del pasto (cm)	11,7	28,1	13,7	43,9	7,2	*
Nº flores (0,25 m ²)	36,2	33,6	10,3	29,1	13,3	NS
Nº especies vegetales (0,25 m ²)	2,8	3,0	2,1	3,0	0,8	***
Abundancia artrópodos	120,4	192,5	133,1	346,5	86,4	NS
Riqueza total	12,2	16,3	17,6	18,6	2,4	NS
Abundancia polinizadores	47,8	126,4	63,2	198,3	53,4	NS
Riqueza polinizadores	6,6	9,0	9,9	8,5	1,6	NS
Orden Araneae	1,6	6,3	7,3	6,0	2,6	NS
Orden Coleoptera	8,0	24,3	33,4	133,2	30,6	**
Orden Diptera	18,2	37,9	30,9	15,3	8,8	NS
Suborden Heteroptera	1,6	1,3	1,9	55,3	13,9	***
Suborden Homoptera	45,2	16,0	12,2	18,0	14,9	NS
Orden Hymenoptera	10,1	8,8	14,9	13,0	2,9	NS
Orden Orthoptera	1,1	0,7	4,1	3,5	0,7	**
Orden Symphypleona	33,7	94,4	10,0	84,7	33,5	+
Orden Thysanoptera	1,3	3,0	16,7	14,8	5,0	NS

e.e.m.: error estándar de la media; NS: $P > 0,10$; +: $P < 0,10$; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$.

Respecto a la fauna asociada a los pastos, se recolectaron 19.018 artrópodos pertenecientes a 3 clases, 15 órdenes y 67 familias. El 69% de todos los ejemplares eran insectos (Clase Insecta), 28% arañas y afines (Clase Arachnida) y 3% colémbolos (Clase Collembola). Los órdenes de insectos más abundantes fueron los escarabajos (O. Coleoptera, 36% de todas las capturas), seguidos de chinches y afines (O. Hemiptera, 28%),

moscas y otros dípteros (O. Diptera, 19%), y abejas y otros himenópteros (O. Hymenoptera, 9%). El 78% de las familias eran insectos, 18% arácnidos y apenas 3% los colémbolos.

Las abundancias y riquezas totales de artrópodos y polinizadores no variaron entre las fincas, pero sí lo hicieron algunos grupos como los escarabajos y las chinches (Subord. Heteroptera) ($P < 0,001$) o los saltamontes (O. Orthoptera) ($P < 0,01$). La finca Br2 albergó mayores abundancias de escarabajos que PL1 ($P < 0,01$) y más chinches que las otras tres fincas ($P < 0,01$). La abundancia de saltamontes tendió a ser mayor en Br2 que en PL2 ($P = 0,071$) y fue también superior en Br1 que en PL1 y en PL2 ($P < 0,05$). Las capturas de ciertos tipos de colémbolos (O. Symphypleona) mostraron ciertas diferencias entre las fincas ($P = 0,053$), tendiendo a ser más abundantes en PL2 que en Br1 ($P = 0,095$).

Las correlaciones entre variables vegetales y animales evidenciaron la importancia de algunas de las primeras para la fauna local. La altura del pasto se relacionó positivamente con la abundancia total de artrópodos ($r = 0,69$; $P < 0,01$) y de polinizadores ($r = 0,63$; $P < 0,01$), así como con la riqueza global de taxones ($r = 0,67$; $P < 0,01$) y de polinizadores en particular ($r = 0,60$; $P < 0,05$). Varios grupos se relacionaron también positivamente ($P < 0,001$) con la altura: escarabajos ($r = 0,80$), chinches ($r = 0,82$) y trips (O. Thysanoptera; $r = 0,56$). A su vez, el número de flores se correlacionó positivamente con la riqueza de polinizadores ($r = 0,53$; $P < 0,05$) y la presencia de insectos fitófagos chupadores del Subord. Homoptera ($r = 0,55$; $P < 0,05$). Finalmente, el porcentaje de suelo desnudo se correlacionó también positivamente ($P < 0,05$) con la abundancia de dípteros ($r = 0,59$), saltamontes ($r = 0,53$) e himenópteros ($r = 0,54$). La relación positiva entre la abundancia y diversidad de artrópodos y la altura de los pastos es coherente con estudios previos que han asociado esta variable vegetal con la provisión de microclimas más diversos que albergan comunidades faunísticas más complejas (Dennis et al., 1998). Sin embargo, ciertos grupos muestran preferencia por hábitats con menores alturas, mayores porcentajes de suelo desnudo, etc. (Jerrentrup et al., 2014). Por lo tanto, el manejo de pastos con cubiertas de diferente composición y alturas puede contribuir a la conservación de la biodiversidad de artrópodos y de los polinizadores, así como al mantenimiento de sistemas productivos sostenibles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baizán, S., Vicente, F., Barhoumi, N., Feito, I., Rodríguez, L. & Martínez-Fernández, A. 2018. ITEA 114: 353-367.
- Dennis, P., Young, M.R. & Gordon, I.J. 1998. Ecol. Entomol. 23: 253-264.
- Domingues Martinho, V.J.P. 2017. Outlook Agric. 46: 223-229.
- Jerrentrup, J.S., Wrage-Mönnig, N., Röver, K.U., Isselstein, J. 2014. J. Appl. Ecol. 51: 968-977.

Agradecimientos: El proyecto Ecolamb es financiado por la Agencia Estatal de Investigación dentro del programa ERA-Net SusAn (PCIN-2017-111).

BIODIVERSITY ASSOCIATED TO PORTUGUESE SHEEP PRODUCTION SYSTEMS

ABSTRACT: Apart from meat, milk or other products, animal production systems are increasingly required to generate additional ecosystem services, such as biodiversity conservation. In this study, flora and fauna variables were recorded in four different Portuguese sheep farms to analyse their correlations, and some implications for their future sustainability are discussed. The percentages of grasses and legumes differed between farms and were negatively correlated with each other. The legumes proliferated in pastures with higher plant richness and number of flowers, and the preservation of these conditions is linked to more sustainable systems in terms of both animal production and environmental conservation. The differences in arthropod foliage fauna between farms were linked to the variability of environmental and biological needs in a highly diverse group of fauna. The sward height was positively correlated with the abundance and diversity of the global arthropod fauna and the pollinators in particular, the number of plant species and the number of flowers. Thus, the conservation of areas with higher sward heights within the pastures could contribute to maintain higher levels of biodiversity, an ecosystem service that may also have a positive influence on the global sustainability of the farms.

Keywords: sheep, pastures, biodiversity, arthropods.

ESTRUCTURA Y RESULTADO ECONÓMICO DE EXPLOTACIONES DE VACUNO ECOLÓGICO DE EXTREMADURA

Horrillo¹, A., Gaspar¹, P., Mesías¹, F.J., Escribano¹, M., Elghannam¹, A. y Eldesouky¹, A.

¹Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura. Avda. Adolfo Suárez s/n. Badajoz; andreshg@unex.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los mercados que ha experimentado una creciente importancia en los últimos años tanto a nivel internacional como en España es el de productos ecológicos. Estudios recientes (MAPAMA, 2017 y Ecological, 2018) muestran un crecimiento sostenido en la producción y en la demanda de estos productos. Sin embargo, en España y más concretamente en Extremadura la evolución en el número de explotaciones de producción ganadera ecológica sigue estancada, a pesar de que en Extremadura los sistemas de producción ganadera extensiva de dehesas se encuentran próximos a los modelos de producción ecológica, lo que facilitaría su conversión (Horrillo et al., 2016).

En este contexto, la ganadería extensiva es una de las actividades agrícolas económicas más importante en Extremadura, desarrollada en uno de los ecosistemas más extensos y más valorados dentro de la Unión Europea, como son las dehesas y pastizales. En la actualidad, en Extremadura la ganadería ecológica cuenta con 49.171 hectáreas de pastos inscritos como ecológicos, con un total de 291 ganaderías de las cuales 145 son de ganado bovino ecológico. (MAPAMA, 2017). Así, el objetivo de este trabajo es analizar los principales factores de estructura y económicos que caracterizan las de explotaciones de ganado bovino ecológico en Extremadura.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo analiza una muestra de 10 explotaciones de ganado bovino de las 145 certificadas en ecológico presentes en la región de Extremadura, dentro del proyecto Ganecoex (IB16057). Los datos para la realización del estudio se obtuvieron mediante encuesta directa a titulares de explotaciones cuya principal especie de producción fuera el ganado vacuno, durante el año 2018. Del total de las 10 explotaciones analizadas, 7 corresponden a fincas donde se sigue un modelo de producción con venta de animales al destete y 3 explotaciones cuyo modelo contemplaba el cebo de animales para venta final. A partir de la información derivada de la encuesta se elaboraron diferentes indicadores estructurales y económicos basados en la metodología del Sistema de Cuentas Económicas Integradas, aplicada a las cuentas económicas de la Agricultura y la Selvicultura (European communities, 2002). Los datos analizados corresponden a una anualidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las tablas recogen los resultados de los dos casos analizados, es decir, de las explotaciones de vacuno al destete (VTD) y las que presentan cebo de vacuno (VTC). Los resultados se expresan por Unidad de Ganado Mayor (UGM) y por ha de superficie total.

En la tabla 1, se recogen de manera resumida los resultados en relación a los usos del suelo y el nivel de presión ganadera de las explotaciones. Las explotaciones analizadas presentan una extensión media de 494,8 ha. De esta superficie total en las explotaciones VTD el 43,9% de la tierra es en arrendamiento, mientras que en las explotaciones VTC solamente el 25,7% es en arrendamiento. Estas explotaciones, coincidiendo con la orografía propia de Extremadura combinan terrenos adhesionados, 44,7% en VTD y 77,1% en VTC con tierras de pastos sin arbolado dedicados exclusivamente a pastoreo y terrenos de cultivo. La media de las UGM por hectárea es de 0,36, que estaría por debajo de la media de las explotaciones extensivas en Extremadura 0,5 UGM/ha (López-Carrasco *et al.*, 2002), resultado esperado al ser explotaciones ecológicas exclusivamente con ganado vacuno (Escribano, 2016).

En la tabla 1, se aprecia que la tasa de reposición media total es del 20%, el número de vacas/toro promedio total es de 30,3 y el peso medio al destete 218 kg, tendiendo en estas explotaciones VTC a aumentar los pesos al destete debido posiblemente que los ganaderos aumentan el tiempo de los terneros con las madres para aprovechar el crecimiento en el campo y acortar el tiempo de cebo. Estos resultados son preliminares y las diferencias entre los casos analizados deberán ser confirmados en futuros estudios con mayor tamaño de

muestra. En cuanto a los indicadores productivos más relevantes se encuentran dentro de los márgenes esperados o normales, situándose el número de terneros nacidos por vaca en 0,8 y el número de terneros vendidos por vaca en 0,72.

La tabla 2, muestra los resultados económicos, estos se referencian a la ha de superficie o a la UGM, observándose que los gastos totales en alimentación del ganado suponen 36,8 € de media por hectárea y 101,1 por UGM para las VTD y 11,2 € de media por hectárea y 40,1 € por UGM en las VTC. Otra de las diferencias que encontramos entre los casos es en los gastos de la remuneración de asalariados, las VTC son mayores que en VTD. Las mayores diferencias se reflejan en los gastos en remuneración de asalariados fijos, con valores medios de 113,9 € por UGM en las VTD mientras que en las VTC alcanzan valores de 236,9 € por UGM. Los ingresos obtenidos mediante las producciones generadas y las subvenciones percibidas también se muestran en la tabla 2. Como cabe esperar se encuentran diferencias en las ventas de animales entre los dos casos, debido al modelo de explotación anteriormente explicado. Las VTD recaudan sus ingresos de la venta de animales al destete, 317,1 € por UGM y 132,7 € por hectárea. En cambio, las VTC sus ingresos se centran en la venta de terneros de cebo, con 399,4 € por UGM y 127,4 € por hectárea. Sin embargo, cuando observamos la media total de ventas, en las VTC es mayor que en las VTD, que se refleja también en el total de ingresos final de la explotación.

Sin embargo, también encontramos bastantes similitudes entre ambos modelos/casos de explotación en cuanto a los resultados de gastos. Observándose que los gastos medios por los servicios exteriores por hectárea son semejantes: 31,1 € para las VTD y 30,1 € para las VTC. Valores similares se aprecia también en el indicador de otros gastos tanto por hectárea como por UGM. En cuanto a los gastos en energía, combustibles (gasolina y gasoil agrario) y electricidad, se reflejan también coincidencias, hecho que puede deberse a que estos gastos en explotaciones extensivas se intentan reducir al mínimo y los que existen suelen ser debidos al gasto en gasoil de la maquinaria agrícola para labores del campo. En este sentido, en la tabla 1, se aprecia la superficie empleada para tierras de cultivo es de 85,3 hectáreas en explotaciones VTD y de 52,7 hectáreas en las VTC lo que hace que los gastos agrícolas sean muy semejantes.

El estudio de las rentas generadas puede observarse en la tabla 2, los costes intermedios y el consumo de capital fijo, los bienes de capital fijo producidos por cuenta propia, el reemplazo, la producción bruta, el valor añadido neto (VAN), excedente de explotación neto (ENE) y la renta empresarial neta (REN). Se puede observar una mayor renta de explotación neta en las explotaciones VTC con 45657,2 €/UTAs totales en comparación con las 47531,1 €/UTAs totales de las VTD, en línea con trabajos anteriores (Escribano, 2016).

Tabla 1. Características técnicas de las explotaciones analizadas.

Superficie y censos	Caso		
	VTD	VTC	VTotal
Indicadores			
Superficie total (ha)	577,9	301	494,8
% en arrendamiento	43,86	25,67	38,40
Superficie arbolada (ha)	258,7	232	250,7
Superficie de pastos (ha)	315,8	68	241,1
Superficie cultivada (ha)	85,3	52,7	75,5
UGM/ha	0,4	0,29	0,36
Características técnicas	Caso		
Indicadores	VTD	VTC	VTotal
Relación machos/hembras	30,5	29,7	30,3
Nº de terneros nacidos por vaca	0,84	0,87	0,85
Nº de terneros vendidos por vaca	0,70	0,75	0,72
Peso destete (kg)	207,1	243,3	218
Tasa de reposición %	16	20	17

Tabla 2. Indicadores económicos de las explotaciones analizadas.

Gastos Indicadores	Casos		Ingresos Indicadores	Casos	
	VTD	VTC		VTD	VTC
Servicios exteriores €/UGM	80,4	106,3	Venta animales vida €/UGM	2,6	-
Servicios exteriores €/ha	31,1	30,1	Venta animales vida €/ha	0,6	-
Total alimentación €/UGM	101,1	40,1	Venta animales destete €/UGM	317,1	78,4
Total alimentación €/ha	36,8	11,2	Venta animales destete €/ha	132,7	17,4
Energía €/UGM	48,6	37,8	Venta animales cebo €/UGM	-	399,5
Energía €/ha	17,5	11,1	Venta animales cebo €/ha	-	127,4
Otros gastos €/UGM	52,7	62,5	Total venta de animales €/UGM	333,1	502,9
Otros gastos €/ha	19,7	18,1	Total venta de animales €/ha	137,7	152,5
Consumos intermedios €/ha	105,1	70,5	Reempleo €/ha	76,4	93
Remuneración de asalariados fija €/UGM	113,9	236,7	Reempleo €/UGM	226,7	335,4
Remuneración de asalariados familiar €/UGM	33	53,1	Bienes capital fijo producidos por cuenta propia €/ha	46,3	38,3
Remuneración de asalariados total €/UGM	168,8	327,3	Bienes capital fijo producidos por cuenta propia €/ha	137,3	138,3
Remuneración de asalariados fija €/ha	29,1	74,9	Producción Bruta €/ha	393,7	451,2
Remuneración de asalariados familiar €/ha	14,9	15,4	Producción Bruta €/UGM	1072,1	1565,2
Remuneración de asalariados total €/ha	52,2	101,73	Total subvenciones €/UGM	368,5	571,1
Gastos arrendamiento €/UGM	60,4	62,8	Total subvenciones €/ha	132,1	161,9
Gastos arrendamiento €/ha	20	13,9	Total otros ingresos €/UGM	6,6	17,5
Consumo de capital fijo €/ha	37,1	40	Total otros ingresos €/ha	1,2	5,4
Total gastos €/UGM	157,3	85,7	Total ingresos €/UGM	720,2	1091,6
Total gastos €/ha	157,8	172,3	Total ingresos €/ha	273,8	319,9
Beneficios económicos			Beneficios económicos		
Valor añadido neto (VAN) €/ha	251,6	340,7	Valor añadido neto (VAN) €/UTAs totales	56748	64309
Excedente explotación neto (ENE) €/ha	222,4	265,7	Renta de explotación neta (REN) €/ha	202,4	251,8
ENE €/UGM	565,4	937,7	REN €/UGM	504,9	874,9
ENE €/UTAs totales	50174	50160	REN €/UTAs totales	45657	47531

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EcoLogical. 2018. El Sector Ecológico en España 2018.
- Escribano, A.J. 2016. Sust. 8: 572.
- European communities. 2002. Manual on the economics accounts for agriculture and forestry.
- Horrillo, A. 2016. Agric. Syst. 123: 114–125.
- López-Carrasco, J.C. 2002. Producción de pastos, Forrajes y Céspedes.
- MAPAMA. 2017. Estadísticas.

Agradecimientos: Esta investigación se encuadra en el Proyecto de Investigación GanEcoEx (Referencia del Proyecto IB16057) financiado por el V Plan Regional de I+D+i (2014-2017) de la Junta de Extremadura y Fondos FEDER

ANALYSIS OF ORGANIC BEEF CATTLE FARMS IN EXTREMADURA: CASE STUDY

ABSTRACT: This work deals with case studies of organic cattle farms in Extremadura. It shows the principal structural and economic indicators which differentiate two different farm types (with sales at weaning age and farms feeding the calves in feed lots). Indicators like percentage of rented land over the total farm area, labor expenditure or the total income derived from animal sales, are the most determinant factors.

Keywords: organic beef cattle, case study

LA INVESTIGACIÓN PARTICIPATIVA COMO MÉTODO PARA POTENCIAR LA GANADERÍA ECOLÓGICA EN SISTEMAS AGROFORESTALES DE DEHESA: FACTORES LIMITANTES

Horrillo¹, A., Gaspar¹, P., Mesías¹, F.J., Escribano¹, M., Elghannam¹, A. y Romero-Fernández¹, M.P.

¹ Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura. Avda. Adolfo Suárez s/n. Badajoz; andreshg@unex.es

INTRODUCCIÓN

En Europa, la dehesa es el sistema agroforestal más extendido y concretamente la península ibérica cuenta con alrededor de 5,5 millones de hectáreas en España y 1,2 millones de hectáreas en Portugal (den Herder et al., 2017). Las estimaciones más recientes de superficies forestales adehesadas indicaron 1,9 millones de hectáreas de dehesas en Extremadura, destacando la producción ganadera extensiva como actividad agropecuaria más extendida, donde las explotaciones aprovechan amplias zonas adehesadas, con bajos niveles de cargas ganaderas y el uso de razas autóctonas adaptadas al entorno (Horrillo et al., 2016). Sin embargo, estos sistemas están condicionados fundamentalmente por la falta de rentabilidad económica, lo que puede afectar a su sostenibilidad (Gaspar et al., 2007), por lo que actualmente la implementación de técnicas de gestión sostenible en los sistemas ganaderos extensivos junto con la transición hacia otros modelos de producción como los ecológicos garantizaría la viabilidad económica de la dehesa (López-Sánchez et al. 2016). El objetivo de este trabajo es el de conocer y analizar las limitaciones que condicionan la conversión de explotaciones ganaderas extensivas de dehesas a modelos de producción ganadera ecológica/sostenible. El ámbito regional de este trabajo se debe a que la dehesa es el sistema agroforestal predominante en Extremadura, al bajo censo de este tipo sistemas certificados en la región y que la Comunidad Autónoma es una unidad administrativa de gobernanza.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio está basado en una investigación cualitativa con un enfoque participativo (grupos de discusión). Se celebraron cuatro sesiones, asistiendo entre 6 y 12 personas de media. Estas sesiones se realizaron en cuatro municipios estratégicamente seleccionados para facilitar la participación de agentes de toda la región. Los participantes fueron en un 72,8% hombres y 27,2% mujeres, con edades de entre 30 y 65 años. La mayoría poseían estudios universitarios o formación profesional relacionada con la ganadería.

Las sesiones se iniciaban con la explicación del proyecto de investigación (GanEcoEx) para poner en antecedentes a los participantes. Posteriormente se abrió un debate estructurado en tres bloques. En el primero se fomentó un debate abierto cuya finalidad fue la de identificar las limitaciones del sector. En el segundo bloque se planteó a los participantes que priorizaran las limitaciones en función de la facilidad para eliminarlas o reducirlas. El tercer bloque se centró en las propuestas de mejora concretas que pudieran revertir o paliar las limitaciones identificadas. Las grabaciones de video y audio de las cuatro sesiones se transcribieron y se anonimizaron para su posterior análisis. El análisis de la información recogida se realizó utilizando el análisis de contenido y el software Atlas.ti 7.0 para análisis de datos cualitativos. El análisis de contenido es una técnica de investigación que busca obtener inferencias válidas y replicables a partir de textos, buscando reducir el material de partida (Flick, 2009). La información fue organizada en temas comunes y en cada tema se agrupaban ideas o conceptos que se mencionaban de forma recurrente durante las sesiones y se codificaban para hacer un recuento. Los resultados se categorizaron como limitaciones o propuestas de mejora, que es el formato utilizado en este trabajo. La medida utilizada es la frecuencia de mención, que se refiere al número de veces que aparece cada tema en todas las sesiones. Además, con el objetivo de mejorar la validez de los resultados, el análisis se llevó a cabo mediante triangulación (Eldesouky et al., 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las figuras 1-3 se detallan los resultados que se presentan divididos en tres ejes temáticos: 1) aborda las causas que limitan los procesos de producción y transformación en

las explotaciones ganaderas ecológicas, así como, las referentes a la vertebración del sector ganadero ecológico y comercialización del producto (figura 1 a y b); 2) hace referencia a la gestión administrativa y a la propia gobernanza de los sistemas ganaderos ecológicos (figura 2); 3) se centra en la educación y la formación de los distintos actores, y la demanda y el consumo de productos ecológicos (figura 3 a y b).

En la figura 1 a, se destacan los altos costes de producción y los elevados precios que alcanzan los piensos ecológicos, en parte, provocado por la escasez de estas materias primas existente en la región. Además, se mencionó el escaso desarrollo industrial. En la figura 1 b, se señala la falta de comercialización de los productos ecológicos de origen animal por la incapacidad de conseguir el canal adecuado que genere un valor añadido a estos productos. Esta dificultad hace que las explotaciones sean incapaces de lograr un sobreprecio por sus productos (Sahm et al., 2013) pudiendo frenar a los productores en su conversión.

En la figura 2, la limitación más mencionada fue la forma que tiene el gobierno en Extremadura de aplicar e interpretar la normativa europea y que se consideró como excesivamente estricta en todos sus apartados. Ejemplos de esta severidad fueron la reducción de la carga ganadera, la introducción de materias primas certificadas de otras CCAA o de otros países de la UE, los tiempos de conversión o la movilidad de machos. Además de la normativa, las ayudas o subvenciones que perciben los productores siguen generando gran debate, especialmente las derivadas de la inadecuada gestión administrativa (por ejemplo, retrasos en el cobro de las ayudas, lentitud en los trámites o falta de respuesta a peticiones y solicitudes). Todo ello en un contexto en el que las explotaciones ecológicas presentan mayor dependencia de las subvenciones que las convencionales (Gillespie y Nehring, 2013) lo que hace indispensable una gestión eficaz.

La figura 3 a, refleja factores que influyen directamente en la sensibilización necesaria para la transición a ecológico. Se destacó la poca confianza de los consumidores, lo que puede estar relacionado con el desconocimiento de los sistemas productivos y de las características nutricionales de estos productos. Otra fue el desconocimiento por parte de los ganaderos en técnicas de producción en ecológico, denominado en la figura 3 a, falta de formación de los ganaderos. Este aspecto es atribuido a la falta de asesoramiento sobre técnicas para la producción ganadera ecológica en la región y a la escasez de técnicos cualificados en el sector. También se comentó la falta de conocimientos de la sociedad sobre la ganadería en general y sobre los diferentes sistemas de producción en particular.

En cuanto a demanda y consumo figura 3 b, se señaló que hay una falta de demanda hacia los productos ecológicos. No obstante, esta idea se contradice con estudios recientes (Ecological 2018) que muestran un crecimiento sostenido tanto en la producción como en la demanda de los productos ecológicos no solo en el mercado español sino también a nivel internacional. También se señaló la falta de confianza que el consumidor presenta ante este tipo de productos, junto con la escasa presencia de estos en el mercado cotidiano. Esto permite concluir que la “falta de demanda” indicada por los ganaderos y la “falta de oferta” en el caso de los consumidores pueden ser un indicador de la desconexión, lo que hace que ambas partes no se encuentran satisfechas y genera una situación de desequilibrio.

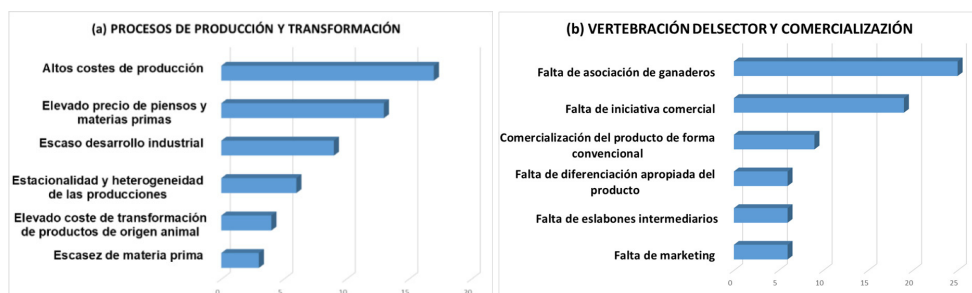


Figura 1 a y b. Factores de a) producción y transformación y b) vertebración del sector y comercialización en explotaciones ganaderas ecológicas (Escala: frecuencia de mención total).

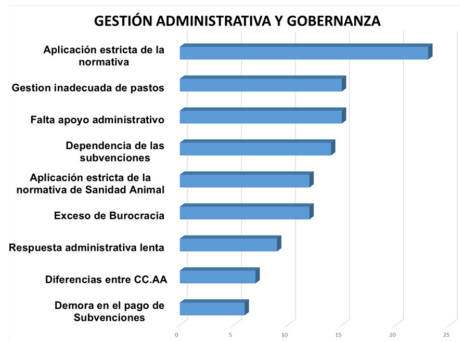


Figura 2. Representación gráfica de las menciones recibidas por los distintos factores relacionados con gestión administrativa y la gobernanza de los sistemas productivos ecológicos (Escala: frecuencia de mención total).

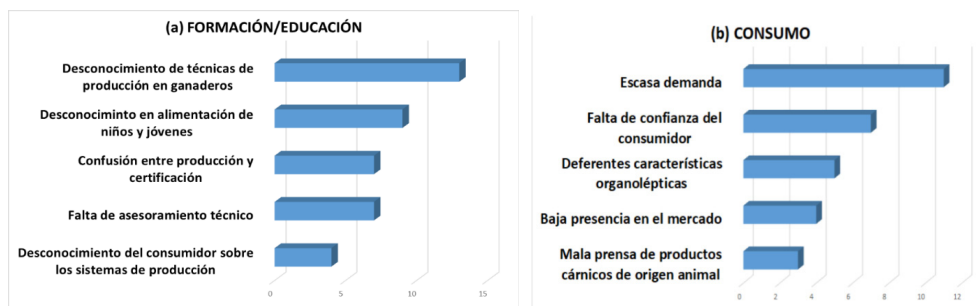


Figura 3 a y b. Representación gráfica de las menciones recibidas por los distintos factores limitantes relacionados con a) la educación y la formación y b) demanda y consumo. (Escala: frecuencia de mención total).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EcoLogical. 2018. El Sector Ecológico en España 2018. • Eldesouky, A. 2015. J. Sens. Stud. 30 (5): 360–369. • Flick, U. 2009. An Introduction to Qualitative Research. • Gaspar, P. 2007. Agrofor. Syst. 71:151–162. • Gillespie, J. 2013. Aust. J. Agric. Resour. Econ. 57 (2): 178–192. • den Herder, M. 2017. Agric. Ecosyst. Environ. 241: 121–132. • Horrillo, A. 2016. Agric. Syst. 123: 114–125. • López-Sánchez, A. 2016. For. Ecol. Manage. 362: 99–106. • Sahm, H. 2013. Renew. Agr. Food Syst. 28 (3): 263–275.

Agradecimientos: Esta investigación se encuadra en el Proyecto de Investigación GanEcoEx (Referencia del Proyecto IB16057) financiado por el V Plan Regional de I+D+i (2014-2017) de la Junta de Extremadura y Fondos FEDER.

PARTICIPATORY RESEARCH AS A METHOD TO PROMOTE ORGANIC LIVESTOCK IN DEHESA AGROFORESTRY SYSTEMS: LIMITING FACTORS

ABSTRACT: This study uses the focus group technique to get farmers' point of view in the region of Extremadura in order to find the possible limitations to organic conversion in livestock production systems. It has been observed that the lack of organisation of the sector, the high prices of organic feed, the application of European standards without regional distinction, along with the lack of experience in marketing of farmers and the increasing but still low demand for organic products from animal origin, are some of the factors that currently limit more farms converting to organic production.

Keywords: Organic, participatory research, barriers

LA INVESTIGACIÓN PARTICIPATIVA COMO MÉTODO PARA POTENCIAR LA GANADERÍA ECOLÓGICA EN SISTEMAS AGROFORESTALES DE DEHESA: PROPUESTAS DE MEJORA

Horrillo¹, A., Gaspar¹, P., Mesías¹, F.J., Escribano¹, M., Elghannam¹, A. y Romero-Fernández¹, M.P.

¹ Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura. Avda. Adolfo Suárez s/n. Badajoz; andreshg@unex.es

INTRODUCCIÓN

El sistema agroforestal de dehesa es uno de los ecosistemas singulares de la Unión Europea, ocupa más de 6,7 millones de hectáreas en el suroeste de la península ibérica, concretamente alrededor de 5,5 millones de hectáreas en España y 1,2 millones de hectáreas en Portugal (den Herder et al., 2017) y se caracteriza por ofrecer importantes valores ambientales, culturales, estéticos y económicos.

El principal aprovechamiento agropecuario de este ecosistema se basa en la explotación en régimen extensivo de ganado, con bajas cargas ganaderas y bajos insumos. Sin embargo, actualmente estos sistemas están condicionados fundamentalmente por la falta de rentabilidad económica lo que puede afectar a su sostenibilidad (Gaspar et al., 2007). En este contexto, la gestión sostenible de los modelos de producción ganadera ecológica puede ser la estrategia a seguir que garantice la viabilidad económica y la continuidad de la actividad ganadera en la dehesa.

El objetivo del trabajo se basó en identificar cuáles son las acciones concretas de mejora que podrían adoptar los ganaderos extensivos para su conversión a producción ecológica. Este trabajo es la segunda parte del estudio sobre la conversión a ganadería ecológica y está vinculado con el trabajo que señala las limitaciones para la conversión, también presentado a este congreso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo está basado en una investigación cualitativa con grupos de discusión. Los resultados se han dividido en tres bloques de los que se presentan aquí los correspondientes a las propuestas de mejora que pudieran revertir o paliar a las limitaciones identificadas en los bloques iniciales presentados en la comunicación "La investigación participativa como método para potenciar la ganadería ecológica en sistemas agroforestales de dehesa: factores limitantes". Puesto que este trabajo es la continuación de dicha comunicación, la metodología no vuelve a desarrollarse para evitar repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan divididos en tres ejes temáticos: 1) se recogen las propuestas de mejora de los procesos de producción y transformación en explotaciones ganaderas ecológicas y de las relaciones entre actores del sector y la comercialización (tabla 1); 2) se abordan los resultados obtenidos sobre la gestión administrativa de las explotaciones ganaderas ecológicas por parte del gobierno de Extremadura y la gobernanza que se aplica en estos sistemas productivos, entendida como la interacción de las distintas administraciones implicadas con los productores, sus organizaciones y otros agentes (tabla 2); 3) se representan los resultados relativos a la educación y la formación en referencia a ganadería ecológica y las propuestas de mejora para la demanda y consumo de los productos ecológicos de origen animal.

En la tabla 1, se destaca el fomento del autoabastecimiento de fincas mediante la extensificación. Del mismo modo se mencionaron algunas técnicas para conseguir este objetivo como: la mejora de pastos, utilización de praderas mejoradas o hacer con el maíz pastoreo propio para la alimentación del ganado. Otra posible acción de mejora señalada fue la de fomentar el cultivo de materias primas ecológicas para la alimentación de la ganadería, como los cereales de invierno o el maíz, que podría hacer que los precios de estas se redujeran y aumentara la disponibilidad y oferta. Con respecto al escaso desarrollo industrial en ecológico (factor limitante mencionado en la primera parte del estudio) se propusieron iniciativas como la puesta en funcionamiento del matadero móvil en la región, actualmente no autorizados por la administración regional, la construcción de instalaciones específicas,

como podría ser un centro de tipificación exclusivo de corderos ecológicos, o también infraestructuras industriales comunitarias y así hacer más asequible el inicio en la producción ecológica a pequeñas o medianas empresas.

Tabla 1. *Propuestas de mejora procesos de procesos de producción y transformación en explotaciones ganaderas ecológicas y de las relaciones entre actores del sector.*

Propuestas de mejora en los procesos de producción y transformación	Freq. de mención*	Propuestas de mejora en la vertebración del sector y comercialización	Freq. de mención*
Fomentar el autoabastecimiento de fincas mediante la extensificación	17	Impulsar la venta directa y el canal corto de comercialización	9
Aplicación y mejora de técnicas productivas (mejora de pastos, praderas permanentes, pastoreo de maíz,)	11	Aumentar la publicidad del sector ganadero ecológico (redes sociales, nuevas tecnologías...)	9
Puesta en funcionamiento del matadero móvil en la región	6	Promover el cooperativismo ganadero ecológico	7
Reapertura de mataderos	6	Venta del producto ecológico más caro (mayor calidad)	5
Mejorar los formatos de venta de los productos cárnicos ecológicos	4	Hacer producto ecológico por encargo	4
Fomentar el cultivo de materias primas ecológicas en la CCAA de Extremadura	3	Elaborar una "guía" grupos de consumo (en las OCAS) para el ganadero	4
Construcción de instalaciones específicas	3	Crear una mesa de precios para productores ecológicos	4

* *Frecuencia de mención total: número de veces en total que aparece cada tema en las cuatro sesiones.*

En cuanto a la mejora de la comercialización pasaría por explorar otros canales de ventas, como la venta directa o los canales cortos, que pueden contribuir a una mejora de los precios en el mercado. Estas propuestas coinciden con lo indicado por otros autores (Lee y Yun, 2015). Sin embargo los representantes de explotaciones y empresas de mayor dimensión no compartían estas ideas y proponían como solución la unión y agrupación de los ganaderos del sector a través de un enfoque cooperativo. En la tabla 2, la solución que generó mayor consenso fue la de "Instaurar una ayuda inicial hasta que el mercado tome el relevo". Además propuestas concretas como la creación de un registro telemático para resolver temas como "el exceso de burocracia" y "respuesta administrativa lenta" (factores limitantes de la primera parte del estudio) se postula como una buena solución para encarrilar una gestión administrativa inadecuada.

Por último en la tabla 3, el pilar fundamental de este eje es la propuesta de mejorar el conocimiento tanto en la sociedad en general, como a la administración, a los productores e intermediarios del concepto de ganadería ecológica y todo lo que integra. Además, en relación con las propuestas de mejora sobre la demanda y el consumo de los productos derivados de la ganadería ecológica la opinión más reiterada fue la de aumentar la información que se transmite al consumidor, tanto en el número de medios como en frecuencia de aparición. Todo esto para reforzar la confianza en el producto ecológico, confianza que debe reforzarse a través de mayores controles antifraude y mediante el fomento de la imagen de marca de los productos ecológicos. En este sentido líneas adecuadas de publicidad y el apoyo gubernamental jugarían un papel transcendental.

También apareció en varias de las sesiones la marca "Organics, Alimentos de Extremadura", como marca representativa del sector y que podría funcionar con un apoyo y promoción.

Tabla 2. *Propuestas de mejora de la gestión administrativa y la gobernanza de los sistemas productivos ecológicos.*

Propuestas de mejora de la gestión administrativa y la gobernanza	Freq. de mención*
Instaurar una ayuda inicial hasta que el mercado tome el relevo	13
Establecer un registro telemático entre los ganaderos y la administración	5
Reuniones administración-sector ganadero ecológico	4
Fomentar el Comité de Agricultura Ecológica en Extremadura como facilitador del sector	3
Flexibilización de la normativa ecológica	3
Flexibilización de la normativa de sanidad animal	2

Tabla 3. *Propuestas de mejora procesos de procesos de producción y transformación en explotaciones ganaderas ecológicas y de las relaciones entre actores del sector.*

Propuestas de mejora en educación y formación como factor de sensibilización	Freq. de mención*	Propuestas de mejora en demanda y consumo	Freq. de mención*
Formación del productor	7	Aumentar la información al consumidor sobre los productos ganaderos ecológicos	21
Formación de la sociedad	5	Promocionar "Organics, Alimentos de Extremadura", como marca identificativa del sector	6
Formación a la administración	2	Fomentar la investigación para crear confianza del consumidor en el producto	4
Formación en materia de producción ecológica a mataderos y empresas de transformación	2	Aumentar los controles antifraude de productos cárnicos ecológicos	3

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- den Herder, M. 2017. *Agric. Ecosyst. Environ.* 241: 121–132.
- Gaspar, P. 2007. *Agrofor. Syst.* 71:151–162.
- Lee, H.-J. 2015. *Food Qual. Prefer.* 39: 259–267.

Agradecimientos: Esta investigación se encuadra en el Proyecto de Investigación GanEcoEx (Referencia del Proyecto IB16057) financiado por el V Plan Regional de I+D+i (2014-2017) de la Junta de Extremadura y Fondos FEDER.

PARTICIPATORY RESEARCH AS A METHOD TO PROMOTE ORGANIC LIVESTOCK IN DEHESA AGROFORESTRY SYSTEMS: PROPOSALS FOR IMPROVEMENT

ABSTRACT: This study uses a qualitative methodology with a participatory approach (Focus Group) to propose possible improvement actions that would facilitate the conversion of livestock farmers to organic production in Extremadura region. Management actions like self-sufficiency along with others such as; the improvement of pastures, improved grassland and the promotion of organic farming were highly mentioned. In addition, improvements in infrastructure in the region such as the reopening of slaughterhouses and the construction of specific facilities, were also considered by the farmers. Regarding the administrative management, subsidies to start the activity or the creation of an electronic register, were also proposed. To sum up, a great effort in training and transmission of information in all sectors is needed to build confidence and increase consumption.

Keywords: Organic, participatory research, improvement measures

EFFECTOS DE LA MELATONINA EN OVEJAS LECHERAS AL INICIO DE LA LACTACIÓN

Elhadi, A., Salama, A., Such, X. y Caja, G.

Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España; abdelali.elhadi@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La melatonina es la señal neuroendocrina que transmite la información de la luz ambiental recibida por la retina y está implicada en la regulación de varios procesos fisiológicos (Borjigin et al., 1999). La actividad reproductiva de las ovejas se reduce en primavera y la administración de melatonina induce el inicio de la temporada de reproducción, al imitar el efecto estimulante de los días cortos (Chemineau et al., 1996). Abecia et al. (2007) han demostrado su interés en el caso de ovejas lecheras españolas. Por otro lado, la producción de leche disminuye, mientras aumenta la composición en grasa y proteína, por efecto de los días cortos en ganado ovino (Bocquier et al., 1997). El efecto está mediado por la menor secreción de prolactina y de IGF-1, tal como han observado Dahl et al. (2000) en vacas lecheras. Cabe esperar así que, como consecuencia del uso de implantes, los altos niveles de melatonina en sangre, reduzcan la producción de leche, lo que se vería agravado porque los implantes no suprimen la producción endógena de melatonina (Zarazaga et al., 2011). Aunque existe poca información en ovejas lecheras, Abecia et al. (2005) indicaron que la aplicación de implantes de melatonina en otoño-invierno en ovejas Lacaune y Assaf lactantes, para mejorar su reproducción, no redujo su producción de leche, aunque se desconocen los efectos sobre la composición.

El objetivo del presente trabajo fue la evaluación de los efectos de los implantes subcutáneos de melatonina sobre la ingestión, la producción y la composición de la leche en ovejas lecheras en fotoperiodo de otoño-invierno, en el que se espera la mayor producción de melatonina endógena.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 72 ovejas lecheras de raza Manchega (MN, n = 36; 72,4 ± 1,9 kg PV; 3,06 ± 0,09 puntos CC; 4,6 ± 0,4 años) y Lacaune (LC, n = 36; 77,7 ± 2,3 kg PV; 2,92 ± 0,13 puntos CC; 4,0 ± 0,4 años) del Servicio de Granjas y Campos Experimentales de la UAB. Las ovejas se distribuyeron en 12 lotes homogéneos (con respecto al PV, CC, edad, producción y composición de la leche) de 6 ovejas a los que se asignaron los tratamientos experimentales al azar según un diseño factorial 2 × 2 × 3 (tratamiento × raza × réplica). Los tratamientos fueron:

- Control (CO): 36 ovejas (MN, n = 18; LC = 18) no recibieron ningún tratamiento.
- Melatonina (MEL): 36 ovejas (MN, n = 18; LC = 18) a las que se colocó un implante subcutáneo de melatonina (18 mg; Melovine, Ceva Salud Animal, Barcelona, ES) una semana después (35 ± 1 d) del destete de los corderos (28 d).

Las ovejas se alojaron en condiciones de estabulación y se alimentaron con una ración total mezclada ad libitum y maíz grano (0,2 kg/d, en dos porciones diarias ofrecido en el ordeño). El experimento duró 12 semanas (1 semana adaptación y 11 semana de medida). La ración se calculó de acuerdo con INRA (2010), utilizando el programa INRAtion v. 4.07 (Educagri, Dijon, FR), y consistió en 40% forraje (heno de alfalfa) y 56% concentrado (cebada, maíz, avena, gluten feed, salvado de soja, soja tratada, minerales y vitaminas) sobre MS. El ordeño (40 kPa, 120 p/min y 50% RP) se realizó 2 veces al día (7 y 17 h) en una sala 2x12 (Amarre Azul-1, DeLaval Equipos, Alcobendas, ES) con medidores automáticos (MM25SG; DeLaval, Tumba, SE) y desconexión de pezoneras por flujo (<0,1 L/min) o tiempo de ordeño (>3 min). La ingestión de MS de la ración se midió diariamente en cada lote de ovejas al inicio (semanas 2 y 3), mitad (semanas 6 y 7) y final (semanas 10 y 11) del experimento. La producción de la leche se registró diariamente y de forma individual a lo largo del experimento. La composición (grasa, proteína, lactosa, urea y SCC), se analizó a partir de muestras de leche (100 ml) de cada oveja durante 2 d consecutivos en las semanas 2, 4, 6 y 10 en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Cataluña (ALLIC, Cabriils, ES). Finalmente, se tomaron muestras de sangre de la yugular (d 15, 30, 45 y 75) para análisis de hormonas (melatonina, prolactina e IGF-1) en plasma.

Los datos se analizarán mediante el procedimiento PROC MIXED para medidas repetidas de SAS (v.9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). El modelo incluyó los efectos del tratamiento (CO vs. MEL), la raza y su interacción, como efectos fijos, la unidad experimental (la oveja, para las medidas individuales, o el lote para la ingestión) y el error residual como efectos aleatorios. Las medias se expresaron como lms y se separaron mediante PDIFF a $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados productivos obtenidos se han resumido en la Tabla 1. No se detectaron efectos de los implantes de MEL en la ingestión total diaria de MS ($P = 0,12$) que, sin embargo, fue mayor (51%; $P < 0,001$) en las ovejas LC, respecto a las MN.

Tampoco se detectaron diferencias por efecto de la MEL en la producción de leche bruta ($P = 0,60$) o estandarizada por grasa y proteína ($P = 0,73$), tanto a nivel medio, como a lo largo de todo el experimento (Figura 1; Tabla 1). Como era de esperar, las ovejas LC produjeron más de leche que las ovejas MN ($P < 0,001$) en el mismo periodo, aunque con menores concentraciones de grasa y proteína. Los coeficientes lineales de persistencia de la producción de leche fueron de $-0,013$ y $-0,015$ L/d, en el caso de las LC, y de $-0,010$ y $-0,012$ L/d en el de las MN, para los tratamientos CO y MEL, respectivamente. La menor persistencia de los lotes tratados con MEL produjo una disminución no significativa del 7% y 3% en la leche de las ovejas MN y LC, respectivamente, para el periodo de ordeño considerado (35-114 d). Es de esperar que esta tendencia se mantenga y aumente el efecto en los siguientes meses de lactación.

Sin embargo, el tratamiento con MEL no tuvo efecto significativo en los contenidos medios de grasa (+1,6 g/L y +2,2 g/L) de la leche, respectivamente para MN y LC, sin efecto también en los demás componentes, así como en las producciones diarias de cada uno de ellos ($P = 0,25$ a $0,99$; Tabla 1). Únicamente, en el caso de las células somáticas de la ubre se detectó una tendencia a su disminución en las ovejas MN por efecto de MEL ($P = 0,08$).

Por otro lado, el peso vivo (PV) y la condición corporal (CC) de las ovejas no variaron por efecto del tratamiento o de la raza en el periodo estudiado.

Tabla 1. Efectos productivos del tratamiento con melatonina (MEL) al día 35 del parto en ovejas lecheras de distintas razas (R) durante el principio de lactación.

Item	Manchega		Lacaune		ESM	Efecto ($P =$)		
	CO	MEL	CO	MEL		MEL	R	MEL×R
Ingestión, kg MS/d	2,20	2,14	3,35	3,22	0,05	0,12	0,001	0,50
Producción de leche ¹								
Total, kg	101	94	185	179	15	0,59	0,001	0,99
Media, kg/d	1,27	1,19	2,34	2,26	0,15	0,60	0,001	0,99
LE ² , kg/d	1,25	1,19	2,03	2,00	0,14	0,73	0,001	0,90
Grasa, g/d	91	87	136	136	10	0,85	0,001	0,83
Proteína, g/d	75	70	127	123	8	0,60	0,001	0,97
Sólidos totales, g/d	239	226	395	389	26	0,71	0,001	0,89
Composición de leche ¹								
Grasa, %	7,18	7,34	5,75	5,97	0,17	0,25	0,001	0,85
Proteína, %	5,89	5,84	5,44	5,46	0,10	0,90	0,001	0,73
Lactosa, %	4,77	4,75	4,68	4,70	0,08	0,99	0,40	0,79
Sólidos totales, %	18,8	18,9	16,8	17,1	0,2	0,47	0,001	0,69
SCC, log ₁₀ células/mL	5,69 ^x	5,23 ^y	5,53	5,43	0,16	0,08	0,88	0,25
Urea, g/L	64	66	59	60	1	0,28	0,001	0,81
Variación de PV, g/d	73	72	77	69	11	0,66	0,96	0,78
Variación de CC-30 d	0,11	0,10	0,07	0,04	0,03	0,57	0,17	0,80

¹En 79 d de ordeño (desde el día 35-114 después del parto); ²Según INRA (2010): LE = Leche × (0.071 × Grasa + 0.043 × Proteína + 0.2224).

La ausencia de efectos significativos de la aplicación de implantes de MEL en la producción de leche, coincide con los resultados indicados por Abecia et al. (2006) en las razas

Lacaune y Assaf, en 150 y 180 d de ordeño respectivamente, aunque se desconocen los efectos que obtuvieron en composición de leche.

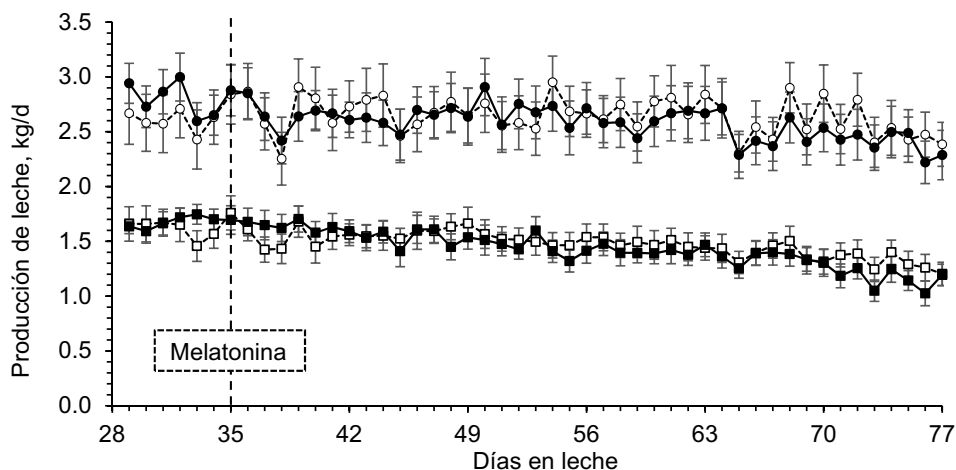


Figura 1. Efecto de la melatonina (CO, control; MEL, melatonina) en la producción de leche de ovejas lecheras Manchegas (□, MN-CO; ■, MN-MEL) y Lacaune (○, LC-CO; ●, LC-MEL).

Pese a lo indicado por Molik et al. (2012) en ovejas lecheras de raza Polish, no se observaron efectos positivos de la MEL en la composición en proteína de la leche, siendo sus efectos igualmente que en el caso del contenido en grasa no significativos.

En conclusión, el uso de MEL exógena, unido al efecto de la MEL endógena producida en condiciones de fotoperiodo decreciente, no tuvo efectos significativos a medio plazo en la producción y composición de leche de ovejas lecheras de media y alta producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia, J.A., et al. 2005. Spanish J. Agr. Res. 3: 396-401.
- Abecia, J.A., et al. 2007. Small Rumin. Res. 69:10-16.
- Bocquier, F., et al. 1997. Ann. Zootech. 46: 427-438.
- Borjigin, J., et al. 1999. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 39: 53-65.
- Dahl, G.E., et al. 2000. J. Dairy Sci. 83: 885-893.
- INRA. 2010. Éditions Quæ, Versailles, FR, 312 pp.
- Molik, E., Bonczar, G., Mistzal, et al. 2012. <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0>
- Zarazaga, L.A., Celi, I., Guzmán, J. & Malpaux, B. 2011. J. Endocrinol. 211: 263-272.

Agradecimientos: Ceva Salud Animal (Barcelona, ES) y personal del SGCE de la UAB.

EFFECTS OF MELATONIN IN DAIRY EWES DURING EARLY LACTATION

ABSTRACT: The effects of implants of melatonin (18 mg/ewe, d 35 ± 1) were studied in 2 breeds of dairy ewes (Manchega, n = 36; Lacaune n = 36) during early lactation (d 28-114). Treatments were: CO (Control) and MEL (Melatonin). Ewes were penned indoors and fed a TMR ad libitum. Lactational responses varied according to breed by not to MEL, the yield values being greater in LC and the composition greater in MN. No changes were observed between MEL and CO treatments in DM intake of either breed throughout the experiment. There were no differences in milk yield between treatments in both breeds. Moreover, no MEL effects were observed on milk composition (fat, protein, lactose and urea) in both breeds, with the exception of a tendency to decrease SCC ($P = 0.08$) in MN ewes. BW and BCS did not change by treatment. In conclusion, the use of melatonin implants in lactating dairy ewes during early lactation, did not impair either DM intake or milk production and milk composition.

Keywords: dairy sheep, early-lactation, melatonin, prolactin

CARACTERÍSTICAS TERMOFISIOLÓGICAS Y VARIACIÓN DE LA RESPUESTA A UN RETO DE ESTRÉS POR CALOR EN UN REBAÑO DE OVEJAS MANCHEGAS

Caja¹, G., Elhadi¹, A., González-Luna^{1,2}, S., Cedeño¹, M., Chaalia¹, B., Serhan¹, S., Salama¹, A.A.K. y Such¹, X.

¹Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España. ²Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán, México; gerardo.caja@uab.es

INTRODUCCIÓN

Ante a las expectativas de calentamiento global y frecuentes olas de calor, se han puesto en marcha diversas iniciativas de mitigación en ganadería que incluyen la identificación y selección de animales resistentes al estrés por calor (EC). En el caso de los rumiantes lecheros, todo parece indicar que los efectos del EC aumentan con el nivel de producción y que, a partir de índices termohigrométricos (THI) >70, en vacuno (West, 2003), y >75 en ovino y caprino (Silanikove, 2000; Hamzaoui et al., 2013; Salama et al., 2014), se ven comprometidas su salud y la cantidad y calidad de la producción. Los valores de THI varían según la ecuación utilizada (Bohmanova et al., 2007; i.e., THI = 81-85 para 35°C y 50%HR) aunque, en general, un THI > 79 (según NRC, 1971) produce un EC severo y con THI > 89 el EC es ya de emergencia.

En vacuno lechero, Ravagnolo y Mistzal (2000) indicaron una correlación genética negativa ($r_g = -0.3$) entre resistencia al calor y producción de leche, lo que supone que ignorar este criterio en selección agravará la sensibilidad al EC. La información disponible sobre los efectos del EC en ovejas de ordeño es muy escasa (Finocchiaro et al., 2005; Ramón et al., 2017; Mehaba et al., 2018), pero se estima que sus efectos son similares. Para adaptarse a los cambios ambientales, los animales homeotermos activan mecanismos de termorregulación que se resumen en la ecuación de balance calórico:

$$PM = Q + R + E + C + K$$

donde: PM = producción metabólica, Q = almacenamiento de calor, R = radiación (color y vasodilatación), E = pérdidas por evaporación (transpiración y respiración), C = pérdidas por convección (aire) y K = pérdidas por conducción (aislamiento). Dado que en los ovinos las pérdidas R, C y K son limitadas, la vía más rápida y eficiente para evitar un aumento de la temperatura corporal, es el incremento del ritmo respiratorio (RR, rpm). Las especies y razas difieren marcadamente en los valores de RR ante cambios de temperatura ambiental, por lo que se utilizan para evaluar su resistencia al calor. En ovino, los valores de referencia según Silanikove (2000) son: bajo, 40-60; medio, 60-80; alto, 80-200 rpm. Junior et al. (2007) han utilizado un índice de adaptación al calor (IAC) que expresa el cambio relativo combinado de las temperaturas rectales y RR en ganado caprino que es de especial interés.

El objetivo del presente estudio fue evaluar las respuestas termofisiológicas de un rebaño de ovejas raza Manchega, ante un reto a corto plazo de estrés por calor, con la finalidad de conocer la variabilidad natural y clasificar los animales de distintas categorías productivas según su resistencia al calor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y manejo: Se utilizó el rebaño de ovejas lecheras de raza Manchega (n = 100) del Servicio de Granjas y Campos Experimentales (SCGE) de la UAB en Bellaterra (Barcelona). El rebaño sigue un sistema de producción semi-intensivo de 1 parto/año, con pastoreo en praderas naturales y cultivadas de secano (raygrás italiano, triticale, veza-avena), durante el día (6 h), y cubrición en primavera (abril-mayo) para partos en otoño (septiembre-octubre). Todos los animales se marcaron con crotales plásticos (Allflex Europe, Vitré, FR) y minibolos ruminales (20 g; Datamars, Bedano, SW), como métodos de identificación visual y electrónica. El rebaño está conectado al esquema de selección de la raza (AGRAMA) mediante inseminaciones bianuales con semen congelado y utilización de moruecos de raza pura.

La evaluación de la respuesta al calor se realizó en primavera, antes de la época de cubrición, y el rebaño estuvo formado por 3 clases de hembras vacías (n, PV y CC): corderas de reposición (n = 12, 33.9 ± 1.1 kg, 2.98 ± 0.01), ovejas secas (n = 14, 55.1 ± 2.1 kg, 2.98 ± 0.16) y ovejas en lactación (n = 74, 75.6 ± 1.0 kg, 3.64 ± 0.04), respectivamente.

Las ovejas en lactación (1.07 ± 0.05 L/d, 162 ± 15 d) se ordeñaban $\times 1/d$ (8:00 h) antes de salir al pasto, en una sala 2×12 con línea alta (Amarre Azul-1 DeLaval Equipos, Alcobendas, ES) y 12 unidades de ordeño con medidores automáticos (MM25SG DeLaval, Tumba, SE). En cada animal se valoró el índice de cobertura del vellón con una escala subjetiva (1, escaso; 2, medio; 3, abundante) y apreciación de 0.5 puntos (Elhadi et al., 2019).

Reto de estrés por calor (REC): Se realizó en una sala experimental (4×8 m) del SGCE con paredes aisladas y suelo cementado, con sistemas de calefacción y ventilación forzada (Trivic, Vic, ES). La sala fue dividida, mediante separadores plásticos móviles, en 11 pequeños corrales equipados con comederos, bebederos y cama de serrín. El rebaño se repartió en 5 grupos de 20 animales a los que se aplicó sucesivamente el REC. La tarde anterior al REC, todos los animales se alojaron en la sala en condiciones de termoneutralidad (TN, 17.7°C y $71\%\text{HR}$; $\text{THI}_{\text{NRC}} = 63$), con alimentación y agua a libre disposición, para su adaptación. El THI se calculó de acuerdo con NRC (1971). En el caso de las ovejas en lactación, el ordeño se realizó a las 13:00 h del día previo y a las 16:00 h del día del REC, para no interferir con su realización. Como nivel de producción de referencia se tomó la producción media de leche en la semana anterior. La mañana del REC (9:00 h), se tomaron medidas termofisiológicas individuales de temperatura rectal (TR, AccuVet digital, TW) y del escudo perineal (TP) mediante infrarrojos (Optris MS Plus infrared, Berlin DE), en condiciones TN. El ritmo respiratorio (RR) fue medido visualmente (en el ijar) por 2 observadores durante 15 s y expresado como rpm. Una vez finalizadas las medidas basales, se retiraron los bebederos y comederos y se inició el REC (10:00 h), incrementando para ello la temperatura a razón de $+0.5^\circ\text{C}/\text{min}$ (30 min) hasta alcanzar las condiciones fijadas de estrés por calor (EC, 35.6°C y $43\%\text{HR}$; $\text{THI}_{\text{NRC}} = 84$). A las dos horas de alcanzadas las condiciones de EC, se valoraron nuevamente las medidas termofisiológicas antes mencionadas. Al acabar las medidas, se refrescó la sala, se repuso el agua y los animales retornaron a las condiciones de granja.

Análisis estadístico: Se realizó un ANOVA utilizando el paquete R v.3.5.2 (R Core Team, 2018; <http://www.R-project.org/>), comprobando la normalidad de las variables por categoría mediante la prueba Shapiro-Wilks y separando las medias con el test de Tukey a $P < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se pueden observar las condiciones de temperatura y humedad relativa utilizadas durante las fases TN y EC del REC cuyo valor medio durante el periodo de

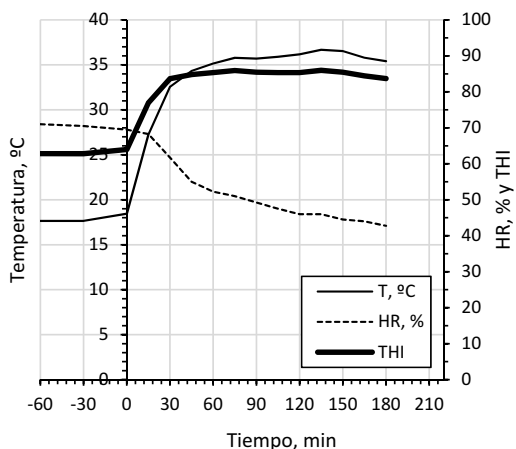


Figura 1. Condiciones ambientales del reto de estrés por calor (REC).

estado II (aversivo) de Silanikove (2000), en el que los mecanismos evaporativos aumentan de forma exponencial. No se observó relación entre TR y TP, tanto en condiciones TN ($R^2 =$

medida resultó de $\text{THI} = 84,1 \pm 0,3$ confirmando las condiciones de EC.

Al comparar los valores obtenidos en condiciones TN, la temperatura rectal de las corderas resultó superior a la de las ovejas (Tabla 1, $P < 0.05$), que no variaron entre sí por el estado de lactación o el nivel de producción. Los valores de TP por infrarrojos no variaron entre clases de animales, así como tampoco los de RR que fueron bajos e independientes del nivel de producción o del grado de cobertura del vellón.

Por otro lado, al pasar a condiciones de EC (aumento de 18 unidades de THI) los valores de TR y RR aumentaron una media de $0.21 \pm 0.03^\circ\text{C}$ y 75 ± 9 rpm (Tabla 1), siendo mayor el efecto en las corderas ($P < 0.05$), pero indicando que todas las clases del rebaño se encontraban todavía en EC moderado,

0.02) como EC ($R^2 = 0.03$) y, en consecuencia, el uso del termómetro de infrarrojos fue descartado en el estudio. Los valores de TR y RR tampoco correlacionaron ($R^2 < 0.01$).

Tabla 1. Temperaturas (TR, rectal; TP perineal, °C), ritmo respiratorio (RR, rpm) e índice de adaptación al calor (IAC) en condiciones termoneutras (TN) o de estrés por calor (EC).

Clase	n	TN (THI _{NRC} = 63)			EC (THI _{NRC} = 84)			EC-TN			IAC ¹
		TR	TP	RR	TR	TP	RR	TR	TP	RR	
Corderas	12	39.39 ^a	35.7	42 ^a	39.38 ^a	37.8	129 ^a	–	2.1 ^a	87 ^a	4,1 ^a
Ovejas											
Secas	14	39.15 ^b	35.5	34 ^b	39.32 ^b	38.1	114 ^a	0.18 ^b	2.6 ^a	80 ^a	4,3 ^a
Lactación	74	38.97 ^b	35.8	40 ^c	39.22 ^b	37.3	99 ^b	0.25 ^a	1.5 ^b	58 ^b	3,5 ^b
Media	100	39.17 ^y	35.7 ^y	39 ^y	39.31 ^x	37.7 ^x	114 ^x	0.21	2.1	75	4,0
± ESM		0.12	0.1	2	0.05	0.2	8	0.03	0.3	9	0,3

¹TR(EC/TN) + RR(EC/TN); ^{a,b}Letras distintas en la misma columna o ^{xy} en misma fila indican $P < 0.05$.

Los indicadores de EC fueron mayores en el caso de las corderas y ovejas secas, en relación a las ovejas lactantes, en contra de lo esperado, lo que puede ser consecuencia de un efecto de disipación del calor de la ubre lactante, dada su elevada vascularización. La distribución de los valores de TR y RR, así como de sus diferencias entre condiciones TN y EC y del IAC, fue de tipo normal, observándose que aproximadamente un 15% de los animales era tolerante al EC, mientras que otro 15% fue de tipo sensible, lo que parece indicar la posibilidad de obtener genotipos resistentes al calor en la raza Manchega.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bohmanova, J. et al. 2007. J. Dairy Sci. 90: 1947-1956. • Elhadi, A. et al. 2019. J. Dairy Sci. 101: 1712-1724. • El-Zarei, M.F. et al. 2019. Int. J. Biometeor.: on line. • Finocchiaro, R. et al. 2005. J. Dairy Sci. 88: 1855-1864. • Hamzaoui, A. et al. 2013. J. Dairy Sci. 96: 6355-6365. • NRC. 1971. A guide to environmental research on animals. Natl. Acad. Sci., Washington, USA. • Mehaba, N. et al. 2018. Proc. 10th ISNH. Clermont-Ferrand, 2-6 September. France (Abstr. 728). • Ramón, M. et al. 2016. J. Dairy Sci. 99:5764-5779. • Ravagnolo O. & Misztal I. 2000. J. Dairy Sci. 83: 2126-2130. • Salama, A.A.K. et al. 2014. Small Rumin. Res. 121: 7 3-79. • Silanikove N. 2000. Livest. Prod. Sci. 67:1-18 • West J.W. 2003. J. Dairy Sci. 86: 2131-2144.

Agradecimientos: Proyecto INIA-RTA2015-0035-CO3-02 de MINECO (España) y becas de postgrado a B. Chaalia y S. Serham del IAMZ y S. González-Luna de CONACYT (México).

THERMOPHYSIOLOGICAL TRAITS WITHIN A FLOCK OF DAIRY EWES AND VARIATION IN THE RESPONSE TO A HEAT STRESS CHALLENGE

ABSTRACT: The response to a short-term heat stress (HS) challenge was studied in a flock of Manchega dairy ewes (n=100). Ewe classes were: hoggets (12), dry-open (14) and lactating (74). Lactating ewes were machine milked x 1-daily. Ewes were randomly allocated at thermoneutral conditions (TN, 17.7°C and 71%; THI_{NRC} = 63) and thermophysiological traits consisting of rectal temperature (RT), infrared perineal temperature (PT) and respiratory rate (RR) were recorded. The room was switched to HS (35.6°C and 43%; THI_{NRC}=84) and thermophysiological traits were recorded again after 2 h. Concerning RT, hoggets showed higher values than adult ewes under TN and HS ($P < 0.05$) conditions. No differences were detected by class for PT. No correlation between RT and PT was found. About RR, the hoggets and adult ewes showed similar breathing under TN but under HS, lactating ewes showed lower breathing than dry-open and hoggets (99±3 vs. 122±7 breaths/min; $P < 0.001$), the last not differing between them. The normal distribution of the thermophysiological traits studied may allow the selection of Manchega dairy sheep by heat tolerance.

Keywords: ewes, heat, challenge, thermophysiological

RELACIÓN ENTRE MICROORGANISMOS AMBIENTALES DE LA GANADERÍA Y DE LA LECHE DE TANQUE

Quintana¹, A.R., Jiménez¹, L., Pérez-Guzmán¹, M.D., Garzón², A.I., Seseña³, S., Palop³, M.L.L., Arias¹, R.

¹Centro Regional de Selección y Reproducción Animal-IRIAF. Valdepeñas. Ciudad Real.

²Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. ³Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica. Universidad de Castilla-La Mancha; alvaroo@jccm.es

INTRODUCCIÓN

El sector del ovino lechero en Castilla-La Mancha tiene una gran importancia socioeconómica y un papel relevante en el mantenimiento del medio rural, siendo la base territorial de la DOP Queso Manchego, marca de calidad diferenciada de gran prestigio a nivel nacional e internacional. En el ámbito agroalimentario han cobrado gran importancia aquellas actuaciones dirigidas a la protección de la salud pública, para garantizar la seguridad alimentaria. La calidad higiénica de la leche de tanque se determina de forma rutinaria en los sistemas de control de calidad, mediante el recuento de mesófilos totales, tal como establece el Reglamento CE nº 853/2004. Sin embargo, existen diferentes estudios que evidencian que éste es un parámetro poco específico para determinar la presencia y el origen de los diferentes grupos microbianos de interés tecnológico, higiénico-sanitario, etc. en la leche de tanque (Gonzalo et al., 2002; Jiménez et al., 2018). El ambiente de las ganaderías tiene una carga microbiana muy diversa, y se ha comprobado que dichas comunidades microbianas tienen una relación directa con los microorganismos presentes en la leche (Montel et al., 2003). Sin embargo, las fuentes de contaminación y los factores que pueden afectar a los diferentes grupos microbianos de la leche no han sido tratados en profundidad (Vacheyrou et al., 2011). Por ello, se plantea este trabajo con el objetivo de estudiar la relación entre la microbiota presente en la leche de tanque y aquella del aire de las salas de ordeño y de la nave de las ovejas de ordeño en ganaderías de ovino lechero.

MATERIAL Y MÉTODOS

La toma de muestras se llevó a cabo en doce ganaderías seleccionadas de la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA), a razón de una toma en cada estación del año 2018. En cada visita se recogieron dos muestras de aire, una en la sala de ordeño y otra en la nave de las ovejas de ordeño. Para ello se utilizó un muestreador de aire AirPort MD8 (Sartorius Stedim Biotech), que opera a través del método de filtración e impacto de los microorganismos sobre un filtro de gelatina (Sartorius Stedim Biotech) siendo el volumen final filtrado de 1m³ de aire. Asimismo, en cada ocasión se tomaba una muestra de leche del tanque de refrigeración que había sido previamente agitado, utilizando para ello botes estériles. Las muestras fueron trasladadas inmediatamente al Laboratorio de Lactología del CERSYRA para su procesamiento.

El filtro de gelatina se colocaba en tubos con 25 mL de solución salina (NaCl 9 g/L) estéril para su completa disolución y seguidamente se realizaban las diluciones seriadas necesarias. En las muestras de aire y de leche se realizaron recuentos en placa de mesófilos totales (RMT), para lo que se utilizó Tryptone Soy Agar (TSA, Panreac, Barcelona) adicionado con 100 mg/L de cicloheximide (Sigma, St. Louis, USA) incubando las placas a 30°C durante 72 horas; de esporas aerobias (EA), en medio TSA al que se añadía 2 g/L de almidón (Merck, Madrid), tras pasteurizar las muestras, incubando las placas a 30°C durante 48 horas; de bacterias ácido-lácticas (BAL), en el medio Man, Rogosa y Sharpe (MRS, Oxoid, Basingstoke, UK) con 100 mg/L de cicloheximide y 50 mg/L de sodium azide (Sigma, St. Louis, USA), incubándose las placas a 30°C durante 72 horas en condiciones de anaerobiosis (Anaerogen Oxoid Limited, Hampshire, Inglaterra); de levaduras (LEV), en el medio Glucose Cloranfenicol Agar al que se añadía 200 µg/mL de cristales de difenilo (Sigma, St. Louis, USA), incubando a 25°C durante 48 horas; de mohos (MOH), en el agar Rosa de Bengala (Panreac, Barcelona) que se incubaba a 28°C durante 96 horas y de *Staphylococcus* (ESTAF), para lo que se utilizó el agar salino Mannitol que se incubaba a 37°C durante 24 horas.

Los datos de los recuentos obtenidos se transformaron en logaritmos decimales y se realizó un análisis de correlaciones de Spearman con el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS v9.3, USA, 2011) considerando la relación entre los microorganismos

presentes en las muestras de leche y aquellos de las muestras de aire procedentes de los dos espacios muestreados, así como la relación entre las dos muestras de aire.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A pesar del bajo número de muestras analizadas (n=48), se han obtenido correlaciones estadísticamente significativas tanto entre los recuentos microbianos de la leche de tanque y los de las muestras de aire de la sala de ordeño y de la nave de las ovejas de ordeño, como entre los recuentos de las muestras de aire de ambas salas (Tabla 1).

Tabla 1. Correlaciones entre los recuentos de distintos de los microorganismos analizados en las muestras leche de tanque (L), de aire de la sala de ordeño (1) y de aire de la nave de las ovejas de ordeño (2).

	RMT1	EA1	BAL1	LEV1	MOH1	ESTAF1	RMT2	EA2	BAL2	LEV2	MOH2	ESTAF2
RMT-L	0.17	0.09	0.10	-0.01	0.04	0.06	0.10	0.00	0.01	0.11	0.07	0.11
EA-L	0.00	0.34*	0.25	0.22	0.02	0.22	-0.08	0.37*	0.09	0.09	-0.02	0.00
BAL-L	0.07	-0.10	0.09	0.09	-0.01	0.12	-0.10	-0.31*	-0.09	0.01	-0.13	-0.08
LEV-L	0.08	0.09	0.26	0.18	-0.01	0.12	-0.13	-0.04	0.07	0.25	-0.06	-0.03
MOH-L	0.02	0.14	0.28	-0.08	0.00	0.13	0.00	0.20	0.01	0.15	-0.01	0.00
ESTAF-L	0.33*	0.17	0.18	-0.16	0.15	0.24	0.13	0.09	0.13	0.08	-0.03	0.11
RMT1							0.33*	0.33*	0.28	0.09	0.30*	0.24
EA1							0.08	0.35*	0.00	-0.17	0.13	0.00
BAL1							0.22	0.35*	0.45**	-0.03	0.11	0.26
LEV1							-0.06	-0.22	-0.12	0.19	-0.14	-0.12
MOH1							0.21	0.18	0.07	-0.03	0.39**	0.02
ESTAF1							0.22	0.36*	0.32*	0.20	-0.05	0.23

**La correlación es significativa al nivel $p < 0.01$ (bilateral). *La correlación es significativa al nivel $p < 0.05$ (bilateral). Microorganismos: RMT: mesófilos totales; EA: esporas aerobias; BAL: bacterias ácido-lácticas; LEV: levaduras; MOH: mohos; ESTAF: Staphylococcus.

Como puede observarse en la Tabla 1, existe una correlación estadísticamente significativa entre los recuentos de esporas aerobias en la leche (EA-L) y aquellos de las muestras de aire de la sala de ordeño (EA1) ($r=0,34$; $p < 0,05$), y de la nave de las ovejas de ordeño (EA2) ($r=0,37$; $p < 0,05$). De igual manera, se observa una correlación positiva ($r=0,35$; $p < 0,05$) entre los recuentos de esporas en las muestras de aire de ambos espacios: sala (EA1) y nave de ordeño (EA2). De todos los grupos microbianos analizados sólo en el caso de las esporas aerobias se encontró correlación tanto entre las muestras de aire como también entre las esporas de ambos ambientes y las muestras de leche, evidenciando la resistencia de las esporas a las condiciones ambientales estresantes (sequedad, temperatura, radiaciones, etc.) (Matković et al., 2007), lo que favorecería su transferencia desde el aire a la leche.

Asimismo, se observa una correlación positiva y significativa ($r=0,33$; $p < 0,05$) entre el recuento de estafilococos en leche de tanque (ESTAF-L) y de mesófilos totales en el aire de la sala de ordeño (RMT1), así como una correlación positiva, aunque no significativa, entre el recuento de estafilococos de la leche de tanque (ESTAF-L) y del aire de la sala de ordeño (ESTAF1). Con ello se comprueba que también existen diferencias en las relaciones de las formas vegetativas entre el aire de la sala de ordeño y la leche de tanque, así como la importancia de las condiciones higiénicas de las instalaciones, que puede condicionar los niveles de mesófilos totales y el de estafilococos en la leche como indicador del estado de la sanidad mamaria del rebaño (Gonzalo et al., 2002; Jayarao and Wolfgang, 2003).

Por otra parte, se observa una correlación positiva ($r=0,35$; $p < 0,05$) entre el recuento de bacterias lácticas en el aire de la sala de ordeño (BAL1) y de esporas en el aire de la nave de ordeño (EA2), y una correlación negativa entre el recuento de bacterias lácticas en la leche de tanque (BAL-L) y de esporas en el aire de la nave de las ovejas de ordeño (EA2) ($r=-0,31$; $p < 0,05$), en concordancia con la correlación negativa, aunque no significativa, entre ambos grupos de microorganismos entre el aire de la sala de ordeño y la leche de tanque.

Este resultado indicaría la relación entre ambos tipos de microorganismos y los diferentes ambientes de la ganadería, y evidencia que existen diferencias en las relaciones entre microorganismos en función del tipo de muestra, estación del año, características de los alojamientos (material de cama, etc.) (Monsallier et al., 2014), y las características propias de una forma de resistencia como son las esporas.

Son destacables las correlaciones encontradas entre muchos de los microorganismos presentes en el aire de la sala y de la nave de ordeño. Así se observan correlaciones positivas y significativas para los recuentos de mesófilos totales ($r=0,33$; $p<0,05$), esporas aerobias ($r=0,35$; $p<0,05$), mohos ($r=0,39$; $p<0,01$) o bacterias lácticas ($r=0,45$; $p<0,01$), siendo también las correlaciones positivas para el recuento de las levaduras o de los estafilococos entre ambos ambientes, aunque estas no llegan a ser estadísticamente significativas. Por último, se observan correlaciones positivas entre el recuento de estafilococos de la sala de ordeño (ESTAF1) con otros grupos microbianos como las esporas aerobias (EA2) ($r=0,36$; $p<0,05$) y bacterias lácticas (BAL2) ($r=0,32$; $p<0,05$) de la nave de ordeño. Popescu et al. (2011) también observaron una relación directa entre las condiciones higiénicas de los alojamientos de los animales con el recuento microbiano en el aire de la ganadería, circunstancia que explicaría la relación entre los recuentos de microorganismos del aire de la sala y de la nave de ordeño.

A la vista de estos resultados, y a modo de conclusión, se evidencia que existe relación entre los recuentos de diferentes grupos microbianos de importancia ambiental en el aire de la sala de ordeño y de la nave de las ovejas de ordeño, en particular de las esporas aerobias que también muestran su relación entre estos ambientes y la leche de tanque. En esta línea, sería interesante continuar con estudios que determinen la casuística de la transferencia de microorganismos entre el aire de los ambientes estudiados y la leche de tanque de las explotaciones ovinas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen las normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DOUE L nº 139/55, 2004.
- Gonzalo, C. et al. 2002. *J. Dairy Sci.* 85: 1460-1467.
- Jayarao, B.M., Wolfgang, D.R. 2003. *Vet. Clin. Food Anim.* 19: 75-92.
- Jiménez, L. et al. 2018. *FCV-LUZ / Vol. XXVIII*, 1: 11-18.
- Matković, K. et al. 2007. *Animal Sci.*, 52: 249–254.
- Monsallier, F. et al. 2014. *Options Méditerranéennes. Série A: Séminaires Méditerranéens*, 109.
- Montel, M.C. et al. 2003. *INRA Productions Animales* 16: 279–282.
- Popescu, S. et al. 2011. *African J. Agric. Res.* 6(32): 6726–6734.
- Vacheyrou et al. 2011. *Int. J. Food Microbiol.* 146: 253–262.

Agradecimientos: A los ganaderos de AGRAMA por facilitar e interesarse por el estudio.

RELATIONSHIPS BETWEEN MICROBIAL COMMUNITIES IN THE ENVIRONMENTAL DAIRY FARM AND THE BULK TANK MILK

ABSTRACT: The dairy farm environment plays an important role in diversity of milk because it may influence the microbial communities through the air from the stables to the milk. This study aims at evaluating the microbiological quality of milk and to assess the microbial transfers through the farm environment. The air samples were collected in the breed shed and the milking parlour in twelve Spanish farms. In addition, a bulk tank milk sample was sampled for the microbial analysis. Results showed that significant correlations appear for different microbial groups between the air of the milking parlour and the air of the stable, as well as this farm environment and bulk tank milk. The aerobic spores present in the farm environment correlate with those found in milk. These aerobic spores also correlate positively with lactic acid bacteria found in the farm environment, but negatively with those found in milk. Therefore, these results showed that there is a relationship between both places of the farm environment, and this microbial flow to the bulk tank milk depends on the resistance of the microorganism.

Keywords: milk, microbial transfer, airborne bacteria, farm.

RÉGIMEN ALIMENTARIO Y TIEMPO DE PREPARACIÓN DE LAS RACIONES UNIFEED (TMR) EN VACAS LECHERAS

Cerqueira, J.O.L.^{1,2}, Faria, M.F.C.G.^{1,3}, Morgado, E.³, Blanco-Penedo, I.⁴, Cantalapiedra J.⁵, Araújo, J.P.^{1,6}

¹Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. ² Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal. ³Cooperativa Agrícola de Barcelos, Rua Fernando Magalhães, 206, 4750-290 Barcelos. ⁴ Departamento de Ciencias Clínicas - Universidad de Ciencias Agrarias, Suecia. ⁵Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España.

⁶Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo; cerqueira@esa.ipvc.pt

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas los avances científicos en alimentación y nutrición animal han facilitado el desarrollo de modelos matemáticos para la formulación de alimentos para el ganado en base a la composición química de ingredientes que componen el régimen alimentario de la vaca lechera (Sova *et al.*, 2014). Según Rossow y Aly (2013), en la explotación lechera existen tres dietas: la dieta formulada por el nutricionista, basada en la composición química de los ingredientes disponibles; la dieta que el operador responsable de la alimentación ejecuta (orden de carga de los ingredientes, tiempo de mezcla, cantidad cargada); y por último, la dieta que realmente es ingerida por el animal, determinada por el comportamiento de ingestión, principalmente la selección de partículas con diferentes tamaños. Según Almeida *et al.* (2013), para que las 3 dietas sean lo más parecidas entre sí, se hace necesario la monitorización de la calidad y cantidad del alimento completo. El objetivo de la homogeneización de todos los ingredientes y el suministro a los animales en forma de alimento único (TMR), pasa por la entrada de los nutrientes en el rumen de una forma continua y equilibrada, manteniéndose constante a lo largo del día, y de esta forma mejorar el equilibrio existente entre energía y proteína, facilitando un mejor aprovechamiento del alimento (Zabeli *et al.* 2012). Heinrichs *et al.* (1999) al evaluar el efecto del tiempo de mezcla en la reducción del tamaño de las partículas en el TMR, observaron que los tiempos elevados de mezcla pueden reducir en exceso el tamaño de las partículas, aumentando la posibilidad de disturbios metabólicos, mientras que Oelberg (2011) evidencia que las dietas más homogéneas se obtienen después de 3 a 5 minutos de mezcla, una vez se introduce el último ingrediente en el remolque mezclador. El objetivo del presente trabajo consistió en monitorizar el tiempo de preparación y el tipo de ingredientes incluidos en el TMR en diferentes explotaciones de vacuno de leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en cuatro granjas lecheras ubicadas en el municipio de Barcelos, en el norte de Portugal. Los datos fueron recogidos en el mes de agosto de 2018, durante 4 semanas en días alternos. Durante este periodo se acompañó la tarea de preparación del TMR, con el registro de los ingredientes incorporados en la dieta diaria de los animales. Simultáneamente se efectuó la contabilización del tiempo gastado en la preparación y mezcla de los ingredientes en el unifeed. En cuanto a características estructurales de las explotaciones estas fueron recogidas mediante un cuestionario. Los datos productivos de las vacas fueron facilitados por el Servicio de Control Lechero. Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó Microsoft Excel 2013.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La estadística descriptiva de los indicadores más importantes se presenta en la Tabla 1. La SAU se cifró en 12,3±7,9 ha, con un número medio de 38,5 vacas por explotación. En lo que se refiere al tiempo de preparación del TMR, las explotaciones tardaron de media 32,8 minutos para finalizar el proceso de carga, de los cuales 7,4 minutos se destinaron a la homogeneización final del alimento. La producción de leche a los 305 días en las explotaciones en estudio fue de 9241,6±1783,8 kg, para una media de 179 días en lactación. El tiempo medio de preparación del remolque mezclador en las cuatro

explotaciones varía entre 23 y 47 minutos y el tiempo de mezcla entre 4 y 12,3 minutos, revelando grandes oscilaciones entre explotaciones, y por lo tanto, con posibilidad de mejora de la eficiencia (Figura 1). En cuanto al régimen alimentario formulado para cada explotación, la explotación 1 presentó los cargamentos (kg/vaca) más próximos al pretendido.

Tabla 1. Indicadores generales de estadística descriptiva de las explotaciones del estudio.

Parámetros	Media±DT	Mín.	Máx.	CV (%)
SAU (ha)	12,3±7,9	5,0	20,0	64,1
Vacas en lactación	38,5±14,5	25,0	52,0	37,6
Tiempo de preparación TMR (min)	32,8±10,3	23,0	47,0	31,6
Tiempo de mezcla TMR (min)	7,4±3,7	4,0	12,3	50,6
Ingestión de alimento (kg/vaca/día)	45,2±2,7	41,5	47,7	6,0
Producción de leche - 305 días (kg)	9241,6±1783,8	7946,0	12154,0	18,5
Días en lactación	179,0±23,8	151,0	208,0	13,4

La explotación 4 fue la que más se alejó de la dieta propuesta, esencialmente debido a los 29,3 kg/vaca de silo de maíz cargado, cuando lo esperado era de 35 kg/vaca (Figura 2). La explotación 3 no presentó valores en relación con los kilos cargados, ya que no posee balanza en el remolque mezclador. Las explotaciones 2 y 3 fueron las únicas con silo de hierba en el régimen alimentario, así como la explotación 2 fue la única que no incorporó paja en el TMR. Según Oelberg (2011), varios factores pueden interferir en el grado de homogeneidad final del TMR, siendo el tiempo de mezcla el que presenta mayor efecto significativo, donde dietas satisfactoriamente homogéneas se obtienen después de 3-5 minutos de mezcla en cualquier caso, tras la colocación del último ingrediente cargado en el mezclador. Las explotaciones en estudio presentaron valores de mezcla de 7,4 minutos, muy por encima de los valores recomendados, siendo el tiempo medio necesario para la preparación de todo el TMR de 32,8 minutos (con el tiempo de mezcla incluido). Estos tiempos reducen en exceso el tamaño de las partículas, lo cual podría conducir a un aumento en disturbios metabólicos como ya se ha observado (Heinrichs *et al.*, 1999).

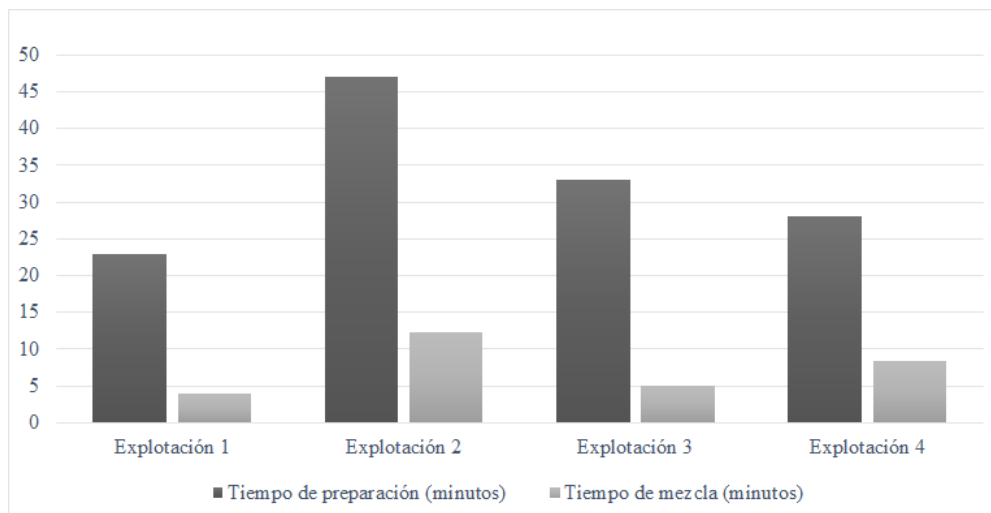


Figura 1. Tiempo de preparación del alimento único y respectivo tiempo de mezcla para la homogeneización final del TMR.

En cuanto al régimen alimentario propuesto para cada una de las 4 explotaciones, frente a la cantidad ejecutada por el productor, el ingrediente de silo de maíz generó la mayor

oscilación observándose mayores discrepancias para la explotación 4, como ya se ha mencionado, donde se alcanzaron diferencias en 5,7kg/vaca. En menor grado se sitúa la explotación 2, con una variación inferior en 3,9 kg/vaca de silo de maíz. La paja fue el ingrediente con menor oscilación a lo largo de los días en el estudio, variando en un máximo de 200 g/vaca en la explotación 4. Rodrigues *et al.* (2015) evaluaron la precisión de carga de los ingredientes en los remolques mezcladores para 24 explotaciones, y observaron un error medio de carga del 10% por encima o por debajo del recomendado, siendo los ingredientes más precisos los concentrados.

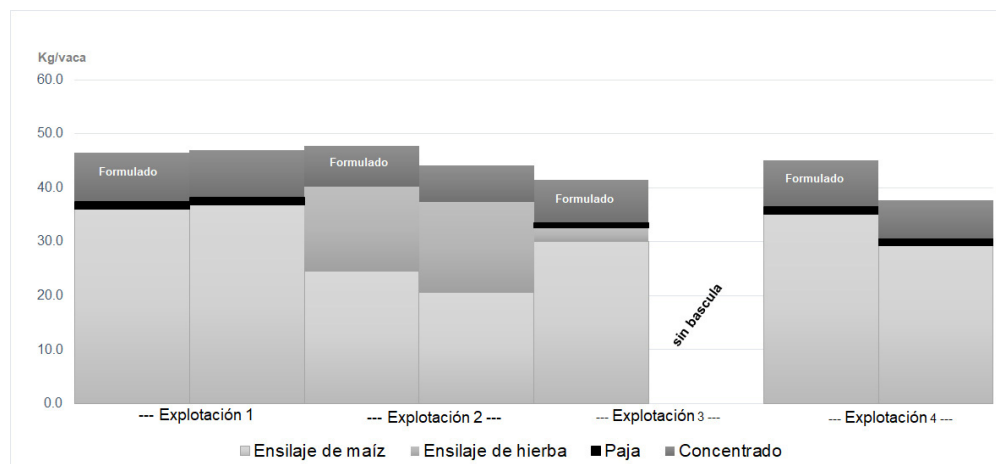


Figura 2. Relación entre la cantidad de alimento formulado para el preparado en el TMR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, R, Lima, I.M. & Ramires, C.H, 2013. XXIII Congresso Brasileiro de Zootecnia. Anais Foz do Iguaçu, 4884-4894.
- Heinrichs, A.J., Buckmaster, D.R., Lammers, B.P., 1999. J. Animal Sci., 77: 180-186.
- Oelberg, T., 2011. TMR Audits TM Improve TMR Consistency. Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop. Anais Grantville, PA, 81-86.
- Rodrigues, S., Trillo, T., Lago, A. & Silva-del-Rio, N., 2015. Description of close-up cow recipes in California dairies. Joint Annual Meeting (ADSA - ASAS). Proceedings, Florida, 98: 112.
- Rossow, H.A. & Aly, S.S., 2013. J. Dairy Sci., 96: 7371-7381.
- Sova, A.D., LeBlanc, S.J., McBride, B.W. & Devries T.J., 2014. J. Dairy Sci., 97: 562- 571.
- Zebeli, Q., Aschenbach, J.R., Tafaj, M., Boguhn, J., Ametaj, B.N. & Drochner, W., 2012. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. J. Dairy Sci., 95: 1041-1056.

Agradecimientos: A los productores de leche de las explotaciones en estudio y a la Cooperativa Agrícola de Barcelos.

FEEDING AND TIME OF PREPARATION OF TMR IN DAIRY COWS

ABSTRACT: Precision nutrition has become highly relevant in recent years mainly due to the increase in feed costs, derived from a constant cattle genetic improvement, causing the productivity of the animals to increase continuously as well as their nutritional requirements, leading to only correctly formulated diets support to achieve higher milk yields. With regard to the quantities loaded in the mixer trailer, only one farm showed a minimum variation (less than 1 kg/feed) compared to the designed feed ration. Corn and herb silage were the ingredients with the highest oscillations in the composition of the diet, followed by the concentrate and the straw.

Keywords: milk production, diet, formulation, TMR.

ANÁLISIS BIG DATA DE REGISTROS PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS INDIVIDUALES DE VACAS LECHERAS

López-Suárez, M., Henarejos, L., Calsamiglia, S. y Castillejos, L.
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; Lorena.Castillejos@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Actualmente, debido al grado de tecnificación alcanzado en las explotaciones lecheras, se puede disponer de una gran cantidad de datos, tanto a nivel individual como a nivel de granja. La información contenida en estos datos puede ser de gran ayuda en la toma de decisiones técnico-económicas para mejorar la rentabilidad de las explotaciones. Sin embargo, se requiere de una integración, análisis e interpretación de estos datos para poder extraer información útil y fácilmente interpretable.

En los últimos 20 años, en la era del Big Data, se han llevado a cabo múltiples estudios en el campo de la producción lechera para obtener información útil y aplicable y para definir modelos predictivos (Greziak et al, 2003; Murphy et al, 2014; Pinedo & De Vries, 2017 y Hertl et al, 2018).

El objetivo del presente estudio fue analizar una base de datos compuesta de registros individuales de vacas lecheras para identificar indicadores en los datos técnicos de primera lactación que puedan ser utilizados como predictores del rendimiento total esperado de la vida productiva de una vaca.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo se utilizaron técnicas de gestión de datos y técnicas estadísticas, para la integración, análisis e interpretación de múltiples registros históricos de más de 800.000 vacas proporcionados por la “Confederación Nacional de la Raza Frisona” (CONAFE). Estos registros contenían información referente a las lactaciones (duración, rendimiento lechero por lactación, contenido de grasa y proteína, etc.), a los controles lecheros oficiales (kg de leche, % de grasa, % de proteína, recuento de células somáticas (RCS), velocidad de ordeño, etc.), al historial de partos (número, fecha, facilidad de parto, etc.), al historial de inseminaciones artificiales (IA) realizadas (número, fecha, toro, diagnóstico de gestación, etc.), a los índices genéticos (ICO, KL, etc.) y a la calificación morfológica (estructura y capacidad, sistema de ordeño, aplomos, etc.).

En un primer paso se integraron los distintos registros anteriormente mencionados en un único archivo utilizando el identificador del animal como nexo. A continuación, se procesaron los datos para eliminar errores de registro. Únicamente se incluyeron aquellos animales con registros completos y con un mínimo de 150 días de vida productiva. A partir de este filtraje, se obtuvo una base de datos de 103.637 vacas con registros de 301.217 lactaciones de 2.035 granjas durante el periodo 2006-2016.

Con el objetivo de estimar o predecir el rendimiento total de la vida productiva de una vaca de forma temprana se utilizaron los datos del pico de la primera lactación, los datos de la primera lactación finalizada y los referentes al rendimiento productivo vitalicio del animal. Para el cálculo de las variables correspondientes al pico de lactación, se consideraron los valores promedio de los controles lecheros comprendidos entre los 50 y 150 días en leche (DEL). En el análisis de la base de datos se incluyeron las siguientes variables: granja y comunidad autónoma (CA) de origen, estación de nacimiento de la vaca, estación del primer parto, edad al primer parto, índices genéticos de producción (KL) y de mérito total (ICO), calificación morfológica del animal, días de vida, días de vida productiva, media de días improductivos por lactación, causa de baja, número de lactaciones, producción vitalicia, producción media por día de vida y por día de vida productiva, índices productivos y reproductivos de la primera lactación (producción total, DEL, producción diaria, intervalo parto-primer IA, número de inseminaciones realizadas y días abiertos), e índices productivos del pico de la primera lactación (producción diaria y contenido de grasa, proteína y RCS). Para la gestión de datos, se utilizó Java para importar los archivos csv originales, transformar los datos y calcular las variables y un sistema SQL (MySQL) para filtrar y almacenar los datos.

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SAS (v9.4). Primero se realizó la estadística descriptiva de la muestra (PROC MEANS) para conocer la distribución de los datos. A continuación, se estudiaron las relaciones entre variables mediante una tabla de correlaciones (PROC CORR) y por ende se realizaron regresiones lineales (PROC REG). El rendimiento productivo vitalicio se tomó como variable respuesta de los modelos de regresión realizados para explorar la relación de las variables de primera lactación con la producción media por día de vida productiva. En un primer modelo se utilizaron las variables de la primera lactación (edad 1er parto, KL, ICO, calificación morfológica, producción de primera lactación, DEL de la primera lactación, producción media diaria de primera lactación, DEL a primera IA de la primera lactación, número de IA realizadas en la primera lactación y días abiertos de la primera lactación), y en el segundo modelo se incluyeron únicamente aquellas variables conocidas a los 150 DEL de la primera lactación (edad 1er parto, KL, ICO, calificación morfológica, DEL a primera IA de la primera lactación, número de IA realizadas en la primera lactación y producción diaria, % grasa, % proteína y RCS del pico de la primera lactación). La significación estadística se estableció en $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede observar en la *Tabla 1*, los valores promedio de edad al primer parto, número de lactaciones, producción vitalicia, producción de la primera lactación y producción diaria del pico de lactación fueron de 806 días (26,8 meses), 2,91 lactaciones, 29.346 kg, 10.196 kg (8.520 kg/305 días) y 31,2 kg/día, respectivamente. Cabe comentar que existe una ligera desviación en los valores medios de la base de datos respecto a la media española, debido a que las granjas que aportan información a CONAFE están en control lechero y normalmente tienen buenos índices productivos y de calidad de leche.

Tabla 1. Resultados de la estadística descriptiva de las variables incluidas en el estudio (media, desviación estándar, mínimo, máximo).

Variable	Promedio	Desv.Est.	Min.	Max.
Edad 1er parto (d)	806,1	91,5	570	1.265
KL	30,4	505,74	-2.123	2.202
ICO	1.455	544,08	-845	3.537
Calificación morfológica	78,5	2,92	63	91
Longevidad (d)	1.943	622,40	794	4.990
Vida productiva (d)	1.089	607,52	150	4.194
Días improductivos/lactación (d)	65,6	23,27	0	150
Número de Lactaciones	2,91	1,507	1	11
Producción vitalicia (kg)	29.346	16.464,	2.053	149.177
Producción media por día de vida (kg/d)	14,2	4,542	1,7	34,6
Producción media por día de vida productiva (kg/d)	27,3	5,07	4,8	53,7
<i>Primera lactación</i>				
Producción (kg)	10.196	2.998	1.693	31.535
DEL (d)	361,9	84,16	150	800
Producción media diaria (kg/d)	28,2	5,27	8,9	53,7
DEL a primera IA (d)	86,3	34,69	30	220
Número de IA realizadas	2,35	1,759	1	16
Días abiertos (d)	131,8	67,92	30	350
<i>Pico (50-150 DEL) de primera lactación</i>				
Producción media diaria (Kg/d)	31,2	5,96	9,0	59,9
% Grasa	3,52	0,612	1,18	8,28
% Proteína	3,11	0,223	2,17	8,42
RCS (x1.000 CS/ml)	154,2	439,6	1,50	19.634

El coeficiente de determinación obtenido en el primer modelo fue de 0,75, donde la variable de producción media diaria de la primera lactación por sí sola obtuvo un R^2 parcial de 0,72. Estos resultados indican que la cantidad de leche producida diariamente por una vaca en su vida productiva estuvo directamente relacionada con su producción diaria en la primera lactación.

Con respecto al segundo modelo realizado, se obtuvo un coeficiente de determinación inferior (0,69) y, en este caso, la variable de producción media del pico de la primera lactación presentó un coeficiente parcial de 0,63 y, al añadir la variable ICO, el coeficiente parcial incrementó a 0,67. Por lo tanto, el modelo a los 150 días de la primera lactación con estas dos variables, puede explicar el 67% de la variabilidad existente en el rendimiento productivo vitalicio de una vaca.

Los resultados presentados son un ejemplo de cómo la integración y el análisis de datos, a pesar de la complejidad actual del manejo del Big Data, permiten identificar indicadores útiles para la toma de decisiones a nivel de granja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Murphy, M.D., O'Mahony, M.J., Shalloo, L., French, P., & Upton, J. Comparison of modelling techniques for milk-production forecasting. 2014. *J. Dairy Sci.* 9:3352-3363 • Grzesiak, W., Lacroix, R., Wójcik, J., & Blaszczyk, P. A comparison of neural network and multiple regression predictions for 305-day lactation yield using partial lactation records. 2003. *Can. J. Anim. Sci.* 83: 307-310 • Hertl, J.A., Schukken, Y.H., Tauer, L.W., Welcome, F.L. & Gröhn, Y.T. Does clinical mastitis in the first 100 days of lactation 1 predict increased mastitis occurrence and shorter herd life in dairy cows? 2018. *J Dairy Sci.* 101: 2309-2323. • Pinedo, P.J. & De Vries, A. 2017. Season of conception is associated with future survival, fertility, and milk yield of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 100: 6631-6639.

Agradecimientos: Este proyecto ha sido financiado por el MINECO/FEDER (AGL2015-67409-C2-1-R). La base de datos original fue proporcionada por CONAFE.

BIG DATA ANALYSIS OF DAIRY COWS' PRODUCTIVE AND REPRODUCTIVE RECORDS

ABSTRACT: Dairy Big Data analysis may facilitate decision making to maintain or increase herd productivity. The objective of this study was to analyze dairy cow recordings to find indicators to estimate the expected lifetime performance of a cow. A database containing more than 800,000 Holstein-Frisian cows' recordings, provided by CONAFE, was cleaned and filtered obtaining a new dataset with 301,217 lactations (103,637 cows). Genetic, productive, and reproductive indexes, among other variables, were included in the study. Two regression models were performed with the average daily yield per productive lifetime as dependent variable. The first model using first lactation variables, obtained a determination coefficient of 0.75, where first lactation daily production explained, by itself, the response variable (partial $R^2 = 0.72$). The second model, including variables from the first 150 days of the first lactation, obtained a coefficient of determination of 0.69. In this case, the average daily peak milk production obtained a partial R^2 of 0.63, which increased to 0.67 when variable ICO was added. Therefore, this second model explained 67% of the variability existing in the outcome variable. These results suggest that dairy data analysis is a useful tool providing indicators for predictive models which can facilitate dairy farm management.

Keywords: Big Data, predictive model, dairy production, first lactation

ANÁLISIS DE HUELLA DE CARBONO EN EXPLOTACIONES OVINAS DE CARNE Y LECHE EN EXTREMADURA

Eldesouky¹, A., Escribano¹, M., Elghannam¹, A., Horrillo¹ A., Gaspar¹, P., Romero¹, M.P. y Mesías¹, F.J.

¹Instituto de Investigación de Recursos Agrarios (INURA). Avda. Adolfo Suárez s/n. Universidad de Extremadura. Badajoz. España; fjmestas@unex.es

INTRODUCCION

Uno de los retos mundiales para las próximas décadas es preservar los recursos naturales y al mismo tiempo producir suficientes alimentos para satisfacer la demanda de una población humana en continuo aumento (Ibidhi et al., 2017). Pero con una creciente preocupación sobre el cambio climático y la importante contribución de la producción alimentaria a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) (Herrero et al., 2013) surge la necesidad de incrementar la producción de alimentos y compensar las emisiones de GEI. En este contexto, el cálculo de la huella de carbono (HC) se ha hecho cada vez más popular. La HC proporciona una estimación de GEI totales emitidos durante parte o la totalidad de la vida de un bien o servicio (BSI, 2011), expresado como dióxido de carbono equivalente (CO₂eq). La HC se utiliza cada vez más en la cadena de suministro de alimentos para determinar la cantidad de GEI emitidos en cada etapa del proceso productivo y puede extenderse a las fases de distribución y uso (Jones et al., 2014).

Entre las producciones agropecuarias, la carne tiene el mayor impacto ambiental, debido a la ineficiencia de los animales en la conversión de los alimentos a carne, ya que el 75-90% de la energía consumida se usa para el mantenimiento corporal o se pierde en subproductos como estiércol, piel o huesos (Röös et al., 2013). Hay muchos procesos que contribuyen de manera importante a las emisiones de GEI durante la producción de carne, principalmente: (1) la producción de piensos, (2) la fermentación entérica de la digestión de los animales (principalmente rumiantes), (3) el manejo de estiércol y (4) el uso de energía en las explotaciones ganaderas (Steinfeld et al., 2006). En este sentido, la intensificación de la producción animal con cebo o con cambios en su dieta permite el sacrificio temprano y se ha definido como una estrategia adoptada en varios países para reducir las emisiones de GEI en la producción de carne (Ruviaro et al., 2016). Por lo tanto, es de gran interés estudiar el papel de la HC en sistemas extensivos dentro de un marco de estudio de casos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El cálculo de la HC se ha realizado conforme a las directrices de IPCC 2006 para los inventarios nacionales de GEI (IPCC, 2006) y la adaptación metodológica a nivel nacional para la gestión y manejo del estiércol y los suelos (MAPA, 2012). El cálculo de la HC se realiza mediante el análisis del ciclo de vida (ACV), método estandarizado y aceptado internacionalmente para estimar las emisiones de GEI y cuantificar el impacto ambiental de un producto (Buratti et al., 2017). El procedimiento metodológico seguido está basado en el análisis de diferentes casos de estudio. Los datos se obtuvieron mediante el control de diferentes explotaciones ovinas a través de visitas de campo y entrevistas con los ganaderos, que se llevaron a cabo entre enero y mayo de 2017. En sistemas ovinos de carne, la unidad funcional (UF) habitualmente utilizada es el kilogramo de peso del producto, es decir el kg de peso vivo de corderos. Mientras que en los sistemas de ovino de leche la UF es un litro de leche. A continuación, detallamos los dos estudios de caso que se analizaron en este trabajo:

Explotación extensiva de ovino de carne: Esta explotación se dedica a la cría extensiva de ovejas de carne de raza autóctona Merina en dehesas. La explotación se encuentra ubicada en las zonas de pastos de secano del sudoeste de la Península Ibérica. El principal producto de la explotación son los corderos cebados hasta los 85-90 días y 25 kg de peso.

Explotación de ovejas lecheras de pastoreo: Explotación con aprovechamiento de áreas de pastizales de secano marginales. En estos sistemas las fincas tienen zonas de pastoreo, un elemento diferencial frente a otros modelos de producción de ovino de leche. El manejo es semi-intensivo con el uso de pastos naturales y suplementación con paja y concentrados. Su producción principal es la leche, mientras que los corderos son sólo un subproducto de la explotación. En estas explotaciones suelen encontrarse ganado entrefino, cruces y en los últimos años Lacaune.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los sistemas analizados se definen por sus características técnicas, sus producciones y sus necesidades de inputs, aspectos que se muestran en la Tabla 1. Puede apreciarse que las explotaciones analizadas tienen en común que los animales se alimentan en pastoreo en mayor o menor medida. Esta proporción del tiempo dedicada al pastoreo se reduce en el ovino lechero, aunque es del 100% en el ovino de carne. Las explotaciones tienen una superficie de 250-270 ha, con cargas ganaderas de entre 0,30 y 0,46 UGM. Los corderos nacidos por oveja oscilan entre los 1,12 en sistemas cárnicos y los 1,20 en lecheros.

La Tabla 2 incluye el aporte de diversos gases de efecto invernadero en los dos sistemas analizados expresados en Kg CO₂eq por UF. Las explotaciones ovinas de carne presentan mayor porcentaje de emisiones por fermentación entérica. Dentro de los inputs, se aprecia que la alimentación es el elemento que representa el porcentaje más alto de las emisiones de las explotaciones, ya que puede alcanzar hasta el 44,6% de las emisiones totales en explotaciones de ovino de leche y 21,2% en las granjas de ovejas de carne.

Generalmente en España los sistemas de cría de ovejas son sistemas extensivos basados en el pastoreo. Las emisiones de gases de efecto invernadero de estos sistemas varían entre 19,5-25,9 kg CO₂eq por kg peso vivo de cordero en el norte de España (Ripoll-Bosch et al., 2013) y 12,5-26,0 kg CO₂eq por kg peso vivo de cordero en dehesas de Andalucía (Batalla et al., 2014), cifras que son similares a los obtenidos en este estudio.

La HC en explotaciones de ovino de leche varía de 2,02 kg CO₂eq/litro de leche en granjas semi intensivas a 5,17 kg CO₂eq/litro de leche en granjas semi extensivas (Batalla et al., 2015). Estas cifras están en concordancia con las obtenidas en nuestro estudio, donde las granjas semi-intensivas producen 1,84 kg CO₂eq/litro de leche.

No obstante, las granjas extensivas suelen tener un componente territorial (hectáreas de tierras agrícolas, con pastos, árboles...) que pueden ayudar a compensar las emisiones de CO₂ debido al secuestro del carbono. Sin embargo, no es común considerar el secuestro del carbono en los estudios de ACV, lo que supone una desventaja para los sistemas extensivos. Esto puede enviar mensajes confusos a los consumidores y poner en peligro la persistencia de estos sistemas complejos y valiosos, así como limitar el atractivo de estos etiquetados medioambientales en dehesas.

Tabla 1. Indicadores técnicos y económicos de las explotaciones analizadas

Indicadores	Ovino de carne extensivo	Ovino de leche semi-intensivo
	Extensivo	Semi-intensivo
Tipo de Sistema	Extensivo	Semi-intensivo
Superficie de pastos (ha)	270	250
Carga ganadera (UGM/ha)	0,46	0,30
Corderos nacidos por oveja	1,12	1,20
% tiempo pastoreo al año	100	60
Inputs de la explotación		
Kg totales de pienso comprados por oveja/año	105	225
Forraje comprado por oveja/año	60,71	200
Combustible (litros/año)	520	3000
Electricidad (kwh/año)	4200	6789
Producción de la explotación		
Corderos vendidos/ oveja reproductora	1	0,8
Peso medio por cordero vendido	25	22-25
Kg pienso/cordero	32,62	41,96
Leche, litros/oveja reproductora	-	350
Kg pienso/litro leche	-	1,07

Tabla 2. HC por UF en los Sistemas analizados

Emisiones GEI	Ovino de carne extensivo		Ovino de leche semi-intensivo	
	kg CO ₂ eq /kg producto	%	kg CO ₂ eq/l	%
Fermentación entérica CH₄	9,01	64,10	0,80	43,63
Manejo del estiércol				
CH ₄	0,25	1,78	0,02	1,16
N ₂ O directo	0,27	1,92	0,02	1,07
N ₂ O indirecto	0,10	0,71	0,01	0,43
Total manejo del estiércol	0,64	4,55	0,05	2,66
Manejo del suelo				
N ₂ O suelo directo	1,09	7,73	0,10	5,16
N ₂ O suelo indirecto	0,22	1,54	0,02	1,03
Total manejo del suelo	1,32	9,39	0,11	6,19
Emisiones totales producidas en la explotación	10,97	78,04	0,97	52,48
Alimentación				
Pienso para ovejas	2,12	15,08	0,70	38,04
Pienso para corderos	0,66	4,70	0,05	2,71
Paja	0,08	0,57	0,00	0,00
Heno	0,12	0,85	0,06	3,10
Total Alimentación	2,98	21,20	0,81	43,84
Electricidad	0,05	0,36	0,00	1,75
Combustibles				
Combustión	0,05	0,36	0,03	1,72
Generación	0,01	0,04	0,00	0,21
Total Combustibles	0,06	0,40	0,04	1,92
Emisiones totales generadas fuera de la explotación	3,09	21,96	0,85	47,52
TOTAL HC kg CO₂eq/UF	14,06	100,00	1,84	100,00
Total Kg CO₂eq	357.321	-	425.036	-
Total Kg CO ₂ eq por ha	1.319	-	1.700	-

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Batalla, I. 2014. in: XI Congreso de SEAE: «Agricultura Ecológica Familiar». Vitoria-Gasteiz.
- Batalla, I. 2015. J. Clean. Prod. 104: 121–129.
- Buratti, C. 2017. Sci. Total Environ. 576: 129–137.
- BSI. 2011. BSI Standards Report to the Department of Business, Innovation and Skills.
- Herrero, M. 2017. Ecol. Indic. 77: 304–313.
- IPCC. 2006. Directrices del IPCC de 2006 para los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero.
- Jones, A.K. 2014. Agric. Syst. 123: 97–107.
- Ripoll-Bosch, R. 2013. Agric. Syst. 116: 60–68.
- Rööös, E. 2013. Ecol. Indic. 24: 573–581.
- Ruviaro, C.F. 2016. Ecol. Indic. 60: 930–939.
- Steinfeld, H. 2006. Environmental issues and options. Rome.

ANALYSIS OF CARBON FOOTPRINT IN MEAT SHEEP FARMS AND MILK SHEEP FARMS IN EXTREMADURA

ABSTRACT: This paper aims to study the role of carbon footprint (CF) in extensive systems within a case study framework. Results have found that meat sheep farms are those with the lowest CF. Enteric fermentation is linked to the extensification of these systems and to diets based on grazing. In addition, a clear relationship between intensification and CF reduction per unit of product has been found.

Keywords: carbon footprint, life cycle assessment, extensive production, greenhouse gases.

ESTIMACIÓN DE EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN PEQUEÑA ESCALA EN EL ALTIPLANO CENTRAL DE MÉXICO

Prospero-Bernal^{1,2}, F., López-González¹, F., Martínez-García¹, CG., Flores-Calvete², G. y Arriaga-Jordán¹, C.M.

¹Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales (ICAR), Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), C.P. 50000 Toluca, México. ²Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM), C.P 15318, La Coruña, Galicia, España; fprosperob@uaemex.mx

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de leche en pequeña escala (SPLPE) en México representan el 78% de las explotaciones especializadas en producción, aporta el 37% de la producción nacional (Hemme et al., 2007) y son una fuente de empleo y generación de ingreso en zonas rurales (Espinoza-Ortega et al., 2007; FAO, 2010), lo que los convierte en una herramienta de desarrollo rural. Sin embargo, ante un escenario de cambio climático y presión sobre los sistemas de producción agropecuarios, se debe dirigir la producción a sistemas sostenibles con disminución en las intensidades de emisión de gases efecto invernadero (GEI) y aumento en la productividad. Según Gerber et al. (2013), los sistemas ganaderos emiten el 14,5% de los GEI, la emisión de metano por fermentación entérica representa el 17% del metano global y el ganado vacuno es el principal emisor de este (EPA, 2010). Las mediciones directas de metano son costosas y requieren de equipos especializados (Niu et al., 2018) lo que hace necesario el desarrollo de métodos de estimación que vayan eliminando incertidumbre y generen factores de emisión más ciertos. El objetivo de este estudio fue estimar la emisión de metano por vaca y día en los SPLPE del altiplano central de México, los cuales aplican distintas estrategias de alimentación con la incorporación de forrajes de calidad, mediante las metodologías del IPCC (2006) y Moraes et al. (2014) que incorporan parámetros de calidad de los alimentos y leche, dentro del Nivel 2 de estimación según los parámetros del IPCC.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el altiplano mexicano entre las coordenadas 20° 06' y 20° 17' Norte y 99° 40' and 100° 00' Oeste, a una altura de 2360 msnm, clima templado subhúmedo. Durante el periodo de medición se presentaron medias de temperatura de 15,6°C y precipitación de 1.054 mm (CONAGUA, 2017). La evaluación fue de enero a diciembre de 2015, en sistemas de producción de leche en pequeña escala bajo un enfoque de investigación participativa rural donde se involucra al productor en los objetivos del trabajo con la finalidad de lograr un mayor interés, mejorando la veracidad y confiabilidad de la información colectada (Conroy, 2005). Se analizaron 24 explotaciones divididas en cuatro grupos conforme al sistema de manejo en las estrategias de alimentación. Cinco explotaciones con manejo convencional (MC) basado en el corte y acarreo de praderas, suplemento de concentrados comerciales y uso de rastrojo de cereales. Los siguientes grupos han incorporado Ensilado de Maíz (EM) y Pastoreo Continuo Intensivo (PCI): seis con uso de EM, seis con uso de PCI y siete con uso de EM y PCI. Mensualmente se realizaron visitas a las explotaciones para coleccionar información de alimentación, composición de la dieta y rendimiento de leche, se tomaron muestras de alimentos y leche para analizar en el laboratorio. El consumo de materia seca (MS) fue medido mediante pasaje directo de cada alimento de la dieta ofrecida al ganado en pesebre, el consumo de MS de praderas se estimó indirectamente por los requerimientos y concentración de energía metabolizable en los alimentos (Hernández y Leaver, 2006). La composición química de la dieta y leche fueron determinados en el laboratorio del Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales, por procedimientos estandarizados. Cenizas por incineración a 550°C en un horno de mufla, Proteína Cruda (PC) por el método de Kjeldahl, Fibra Neutro Detergente (FND) por el método de micro-bolsas (Ankom, 2005), Digestibilidad in vitro enzimática de la materia orgánica siguiendo el método propuesto por Riveros y Argamenteira (1987) y la Energía Bruta (EB) se estimó a partir de Moraes et al. (2014). El Extracto Etéreo (EE) se tomó de tablas de Feedipedia (2019). El contenido de grasa, proteína y lactosa en leche fue

determinado por un analizador de ultrasonido, la Leche Corregida en Energía (LCE) fue a 35 g/kg de grasa en leche a partir de Niu et al. (2018). La producción de metano por fermentación entérica fue calculada por dos metodologías; Moraes et al. (2014) [CH_4 (MJ/d) = $-9,311+0,042*\text{Consumo de EB (MJ/d)}+0,094*\% \text{FND}-0,381*\% \text{EE}+0,008*\text{Peso vivo}+1,621*\% \text{Grasa}$] e IPCC (2006) [CH_4 (MJ/d) = $0,065*\text{Consumo de EB (MJ/d)}$]. El factor de corrección de metano (Y_m) que utiliza el IPCC (2006) es el 6,5% del consumo de EB, para Moraes et al. (2014) se calculó con la siguiente ecuación $Y_m = 100[\text{CH}_4 \text{ (MJ/d)}/\text{Consumo de EB (MJ/d)}]$. Para el cálculo de g de CH_4/d se dividió la producción de MJ/d entre 0,05565 (g/kg de CH_4) que es el contenido de energía del metano (IPCC, 2006). El análisis estadístico fue ANOVA ($P < 0,05$) para identificar diferencias entre grupos, para identificar los grupos diferentes se realizó una prueba de Tukey con el programa SPSS v24.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se presentan los resultados en la Tabla 1, existiendo diferencias ($P < 0,05$) en las variables de calidad de la dieta y producción de metano, no existen diferencias ($P > 0,05$) en rendimiento y calidad de leche.

Tabla 1. Valores medios de producción y calidad de leche, consumo y calidad de la dieta y producción de metano de los grupos evaluados.

	MC	EM	PCI	EM+PCI	EEM	Valor de P
Número de observaciones	60	72	72	84		
Peso vivo	512,5	500,1	502,3	505,1	1,913	0,152
Consumo de MS	12,09 ^b	12,40 ^b	11,05 ^a	11,13 ^a	0,106	0,000
Consumo de EB (MJ/día)	225,0 ^b	231,0 ^b	203,5 ^a	207,4 ^a	1,988	0,000
Composición de la dieta (g/kg de MS)						
EB	186,1 ^b	186,3 ^b	184,3 ^a	186,4 ^a	0,127	0,000
PC	142,3 ^b	131,4 ^a	149,7 ^b	147,2 ^b	1,116	0,000
FND	420,3 ^{ab}	426,5 ^{ab}	407,1 ^a	435,0 ^b	3,043	0,008
EE	28,09 ^a	28,94 ^{ab}	29,69 ^{bc}	30,70 ^c	0,207	0,000
Cenizas	88,92 ^b	79,56 ^a	104,3 ^c	100,0 ^c	0,911	0,000
Rendimiento y composición de la leche						
Producción por vaca (kg/día)	14,36	14,20	14,69	14,60	0,170	0,722
LCE (kg/día)	14,65	14,36	14,73	14,81	0,177	0,818
Grasa (%)	3,43	3,37	3,30	3,40	0,020	0,101
Proteína (%)	3,27	3,23	3,23	3,23	0,010	0,541
Lactosa (%)	4,60	4,63	4,54	4,58	0,020	0,524
Emisiones de metano (Moraes et al., 2014)						
g/vaca/día	227,9 ^c	229,4 ^c	202,9 ^a	213,3 ^a	2,088	0,000
g/l de LCG	15,87 ^b	16,38 ^b	13,98 ^a	14,75 ^a	0,154	0,000
MJ/vaca/día	12,69 ^c	12,77 ^c	11,30 ^a	11,87 ^a	0,116	0,000
Y_m (% del consumo de EB)	5,65 ^b	5,53 ^a	5,53 ^a	5,73 ^b	0,025	0,008
Emisiones de metano (IPCC, 2006)						
g/vaca/día	262,8 ^b	269,8 ^b	237,7 ^a	242,2 ^a	2,323	0,000
g/l de LCG	18,23 ^b	19,21 ^c	16,44 ^a	16,65 ^a	0,148	0,000
MJ/vaca/día	14,63 ^b	15,02 ^b	13,23 ^a	13,48 ^a	0,129	0,000
Y_m (% del consumo de EB)	6,50	6,50	6,50	6,50	0,000	1,000

EEM, Error Estándar de la Media MS, Materia Seca; EB, Energía Bruta; PC, Proteína Cruda; FND, Fibra Neutra Detergente; EE, Extracto Etéreo; LCG, Leche Corregida en Energía; Y_m , Factor de corrección de Metano.

Los grupos MC y EM tuvieron en promedio 9,1% de mayor consumo EB respecto a los grupos que incorporaron PCI, esto se ve reflejado en las emisiones de metano, representa un aumento de 9,9% en la producción de metano (Metodología de Moraes et al., 2014) para los grupos que tienen un mayor consumo de EB. Utilizando la metodología de Moraes et al. (2014) se identificaron diferencias numéricas en la estimación de emisiones de metano entérico con; 15,5, 17,6, 17,2 y 13,5% para MC, EM, PCI y EM+PCI, respecto a las estimaciones del IPCC (2006), dado la incorporación de factores de características del ganado, calidad de la leche y de la dieta.

En estimaciones de vacas lecheras en E.E.U.U. reportaron 16,57 MJ/d de producción de CH₄ por vaca con producciones medias de leche de 23,3 kg/d (Moraes et al., 2014), que contrastan con los resultados obtenidos en este estudio, con valores medios de 12,15 MJ/d de CH₄ y 14,46 kg/d de producción de leche. Esto representó una mayor intensidad de emisión de los sistemas estimados en este estudio por 15% más por kg de leche respecto a los estimados por Moraes et al. (2014). Un estudio comparativo de estimaciones de emisiones entre sistemas de EE. UU. y Europa no identificó diferencias significativas, reportando una media de 13,5 g de CH₄/d por kg de LCE (Niu et al., 2018). Se obtuvieron estimaciones de emisiones ligeramente mayores para el grupo PCI en este trabajo, que fue el que menores emisiones de CH₄ presentó. Cameron et al. (2017) identificaron que la incorporación de forrajes frescos y de alta calidad son elementos que permiten disminuir la emisión de metano entérico el 28% en sistemas lecheros respecto a sistemas convencionales en Escocia.

Se concluye que los sistemas de producción de leche en pequeña escala tienen un potencial en la disminución de emisión de metano mediante la incorporación en el uso de forrajes de calidad. Además, incorporar mayor número de parámetros en las metodologías de estimación permite eliminar incertidumbre y tener mediciones más precisas y fiables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hemme et al., 2007. IFCN Dairy Report. Kiel, Alemania • Espinoza-Ortega et al., 2007. Exp Agr 43: 241–256. • FAO. 2010. Status and prospects for smallholder milk production. • Gerber et al., 2013. Tackling climate change through livestock. • EPA, 2010. Publication 430-R-11-005. EPA. • Niu et al., 2018. Glob Change Biol 24:3368-3389. • IPCC, 2006. Guidelines for national greenhouse gas inventories. • Moraes et al., 2014. Glob Change Biol 20:2140-2148. • CONAGUA (2019) Comisión Nacional del Agua- Datos Anuales. • Conroy, 2005. Participatory livestock research: a guide. • Hernandez y Leaver, 2006. Grass Forage Sci 61: 335–346. • Ankom, 2005. Procedures (for NDF, ADF, and in vitro Digestibility). www.ankon.com. • Riveros y Argamentaría, 1987. Avances en Producción Animal 12: 59–75. • FEEDIPEDIA, 2019. Animal Feed Resources Information System. www.feedipedia.org. • Cameron et al., 2017. Grass Forage Sci 73: 789-797.

Agradecimientos: A los productores por brindar información y muestras de las explotaciones. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México por financiar el proyecto 129449 CB-2009 y otorgar una beca de Investigación Posdoctoral a Fernando Prospero-Bernal.

ESTIMATION OF ENTERIC METHANE EMISSIONS IN SMALL-SCALE DAIRY SYSTEMS IN THE HIGHLANDS OF CENTRAL MÉXICO

ABSTRACT: The objective was to calculate the methane emission intensity due to enteric fermentation in four groups of small-scale dairy farms in the highlands of central Mexico with different feeding strategies, from equations of Tier 2 recommended by IPCC. Twenty-four farms were evaluated during one year by monthly analyses of diets. Farms that implemented grazing as source of quality feed reduce enteric methane by 10% compared to conventional and maize silage groups. This demonstrates that fresh high-quality herbage reduces methane emissions, in there are farms.

Keywords: Rural development, Feeding strategies, Quality forage, Small Scale Dairy Systems

EFFECTO DEL TIPO DE ALOJAMIENTO (CUBÍCULOS CONVENCIONALES VS. LECHO COMPOSTANTE) Y TEMPERATURA SOBRE LA PRODUCCIÓN DE N EN LAS DEYECCIONES EN VACUNO LECHERO

Seradj, A.R., Costa, S., Maynegre, J., Alonso, L., Navarro, L., Villalba, D. y Balcells, J.
Departament de Ciència Animal. UdL– Agrotecnio Center; balcells@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas el impacto ambiental de los diferentes sistemas ganaderos se encuentra bajo debate; hoy en día una de las mayores preocupaciones es el control de la contaminación derivada de deyecciones ganaderas. Especial atención merecen la contaminación con N (nitratos) en suelos vulnerables y la aplicación de N por Ha y (en el caso vacuno lechero) su producción por cabeza (DOGC 136/2009). La contaminación del suelo y los acuíferos es importante pero también lo es la emisión de gases contaminantes, entre los que destaca el amoníaco, cuya emisión puede alcanzar hasta el 50% del N excretado en las deyecciones (MWPS, 2001). Es sabido que los factores que pueden alterar dichas emisiones son la alimentación y la gestión de las propias deyecciones. El objetivo del presente trabajo fue el comparar la producción residual de N en sistemas de explotación de vacuno lechero con dos modelos de recolección y gestión de las deyecciones, cubículos convencionales con fosa de deyecciones versus lecho compostante (sistema israelí). Adicionalmente, se analizó el efecto de la temperatura (creciente/decreciente) sobre dicha producción de N.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las determinaciones se realizaron en dos periodos experimentales, incrementando (Febrero a Mayo) y descendiendo (Agosto a Noviembre) la temperatura ambiental. Las explotaciones (n=6) se seleccionaron en el área de Lleida situada dentro del Valle del Ebro; tres de las instalaciones estaban dotadas con un sistema de colección continua de deyecciones mediante arrobaderas y balsa de purines (CUB) y en las tres restantes las heces se depositaron en lecho compostante (LC) o en los pasillos de alimentación donde se recogían diariamente. Los detalles de las explotaciones se resumen en la Tabla 1. El tipo de animal y raciones utilizadas fueron representativas de los sistemas de explotación de vacuno lechero en esta zona. Durante los tres meses de cada periodo de colección, a intervalos de quince días, se procedió a establecer el balance de N en un tipo de explotación, la primera y tercera semana se muestrearon las explotaciones CUB, la segunda y cuarta las LC, hasta alcanzar los 6 balances en cada periodo de muestreo. La ingestión de N se determinó estimando el consumo diario (mediante diferencia entre oferta y el rehúso) y la composición de N del "unifeed". La excreción de N en leche se calculó a partir de la producción individual estimada por la composición media (laboratorio ALLIC) registrada en cada explotación.

El volumen de deyecciones se calculó de la siguiente manera: [1] Explotaciones tipo CUB: La producción de purín se determinó por volumetría (Δ Volumen en la balsa por la concentración de N en el purín). Las muestras se extrajeron mediante sonda volumétrica en diversas localizaciones (n >10) dentro de cada balsa que fueron posteriormente agrupadas. La densidad se determinó por volumetría y el N se analizó sobre el purín fresco; [2] Explotaciones tipo LC: Las deyecciones depositadas en el pasillo de alimentación fueron recogidas mecánicamente (mediante pala motorizada), se pesaron y se muestrearon antes de ser depositadas en el estercolero. El estimación del estiércol depositado en el lecho compostante se determinó también por volumetría (Superficie de del lecho por su profundidad), la determinación de la profundidad se determinó mediante catas realizadas sobre ambas las diagonales (n>50) mediante barrenas de muestreo de suelo que sirvieron a su vez para obtener un muestreo fiable del estiércol almacenado en el lecho. Para la determinación de la densidad se realizaron tres cortes (surcos) en tres zonas simétricas del lecho y se tomaron muestras (n=3) con volúmenes conocidos a diferentes alturas (n=3). El valor medio de las densidades obtenidas (9 por corte) en los tres cortes se consideró como la densidad media del estiércol depositado; [3] Animales en periodo seco: Dado que las vacas en fase seca se mantienen con las terneras de reposición no es posible un muestreo independiente, por ello, las pérdidas de N se estimaron a partir de la ingestión asumiendo que la retención de N en estos animales es igual a 0. Las pérdidas por volatilización de

estas deyecciones, junto con las deyecciones recogidas en el pasillo de alimentación se calcularon a partir de las registradas en el simulador de deyecciones (SD). El SD se diseñó a partir de un barril de plástico abierto que se mantuvo próximo y en las mismas condiciones que los estercoleros y en cada periodo de muestreo se añadieron cantidades de estiércol que simulaban las modificaciones que se registraban en el estercolero.

En el análisis estadístico se consideró el grupo de animales dentro de cada tipo de explotación como unidad experimental; los datos (valores por día/vaca) se analizaron según el modelo: $Y_{ijk} = \mu + A_j + W_k + S_l + (A \times W \times S)_{(jkl)} + \xi_{ijk}$, donde Y_{ijk} representa los valores obtenidos en cada grupo dentro de cada establo ($l = 1$ to 6), μ es la media general; A_j es el sistema de colección de deyecciones ($j = 1$ CUB; $J = 2$ LC); W_k es la semana tratada como medida repetida ($k = 1$ to 5) and S_l , temperatura ($l = 1$ creciente and $l = 2$ decreciente), $A \times W \times S$ es la interacción y finalmente ξ_{ijk} el error residual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La selección de los establos se hizo con un criterio de homogeneidad; a pesar de ello algunas diferencias se mantuvieron en relación al espacio (por vaca) del lecho compostante (de 11.00 a 13.56 m²/animal) e incluso en lo referente al pasadizo de alimentación (m²/vaca), fue mayor en CUB (3.31±0.35) que en los de LC (2,17±0.45). Sin embargo, no se apreciaron diferencias aparentes en el comportamiento de los animales aunque es cierto que ello puede incrementar la variabilidad residual. La deyecciones excretadas durante el ordeño (1 h por cada ordeño), no se recolectaron, no obstante, la distancia entre los alojamientos y la ordeñadora no difirió entre ambos sistemas (CUB vs LC) y la evaluación de dicha pérdidas indica que el error en el que se incurre tiene escasa relevancia (White et al., 2001).. Aunque la composición proteica y energética variaron entre el 14.0 y 17 % of DM y entre el 2,05 and 1,98 (EM Mcal/Kg MS), el aporte de proteína degradable (46.4±4,62 g/Mcal EMF) cubrió las necesidades de los microorganismos y el aporte de proteína sin degradar la del animal hospedador (AFRC 1993).

Tabla 1. Características de los establos en dos sistemas en estabulación libre en vacuno lechero con sistema de gestión de las deyecciones basados en la recogida continua con arrobaderas y balsa de purín (CUB) y lecho compostante (LC).

Tipo granja ^a	Suelo y manejo de deyecciones	Superficie vaca, m ²		
		Pas	CUB	CB
1CUB	Suelo pavimentado, canal provisto de arrobaderas en circulación continua (cada 3 h),balsa de purines con vaciado cada 3-4 meses	3,45	6,7	-
2CUB	Suelo pavimentado, canal provisto de arrobaderas en circulación continua (cada 3 h),balsa de purines con vaciado cada 3-4 meses	3,74	6,3	-
3CUB	Suelo pavimentado, canal provisto de arrobaderas en circulación continua (cada 3 h),balsa de purines con vaciado cada 3-4 meses	2,74	5,4	-
4LC	Laboreo diario del lecho y limpieza mecánica pasillo alimentación(2/día), Intervalo de vaciado > 6 meses y no adición material de compostaje	2,11	-	11,0
5LC	Laboreo diario del lecho y limpieza mecánica pasillo alimentación(2/día), Intervalo de vaciado > 6 meses y no adición material de compostaje	2,45	-	13,1
6LC	Laboreo diario del lecho y limpieza mecánica pasillo alimentación(2/día), Intervalo de vaciado > 6 meses y no adición material de compostaje	1,96	-	13,4

Los niveles de ingestión de N y su excreción no fueron modificados por el tipo de alojamiento, no obstante sí lo fueron por el periodo de balance, en el periodo que se situaría entre finales de invierno e inicio de primavera los animales mostraron mayores niveles de

ingestión y produjeron una mayor cantidad de leche (34.6 vs 31.35; EE= 0.68;P<0.05 para el primer y segundo periodo, respectivamente.

Tabla 2. Balance anual (Kg/año) de N: ingestión, excreción en leche, recuperación de N en las deyecciones junto con la producción anual de estiércol (Tn/año) en dos sistemas en estabulación libre en vacuno lechero con sistemas de gestión de las deyecciones basados en, la recogida continua con arrobaderas y balsa de purín (CUB) o en lecho compostante (LC). El balance anual se determinó en dos periodos, incrementando [($\nearrow T^a$) Febrero-Mayo] o decreciendo la temperatura [($\searrow T^a$) Agosto- Noviembre] y considerando que la proporción de días en lactación fue del 83.6 %.

Item	Tipo establo		Período		EE	Valores P		
	CUB	LC	$\nearrow T^a$	$\searrow T^a$		TE	P	T x S
N ingerido	218.5	209.6	223.6	204.5	2,36	0,12	0,004	0,06
N leche	60.1	56.2	62.48	53.8	1,60	0,23	0,02	0,24
N Recuperado	133.5	70.9	98.4	106.0	4,98	<0,001	0,46	0,79
N Volatilizado	24,9	114.3	80.9	57,6	5,92	0,001	0,10	0,63
Producción Estiercol(Tn/año)	33,5	10,3	21.1	22.8	1.94	0,001	0,05	0,08

El tipo de alojamiento mostró un efecto altamente significativo en la recuperación (y/o la producción de N), del nitrógeno teóricamente excretado (N ingerido – N lácteo), de forma que los establos tipo CUB recuperaron el 86 % del N excretado mientras que en LC sólo se recuperó una media del 46 %. Las elevadas pérdidas de N por volatilización en el sistema LC coincide con el rango propuesto en la bibliografía (Eghball *et al.* 1997, Atzory *et al.* 2009) y estaría relacionado efecto favorecedor del manejo del lecho compostante sobre la volatilización de N.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agricultural and Food Research Council. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. CAB International, Wallingford
- Eghball, et al. 1997. J. Environ. Qual. 26: 189-193.
- Atzory et al. 2009. Ital. J. Anim. Sci. 8 (2): 253-255.
- MWPS. 2001. Manure Storages. Manure Management System Series.
- MWPS-18, Section MidWest Plan Service, Iowa State University, Ames.
- White et al. 2001. J. of Envir. Quality 30: 2180–2187.

Agradecimientos: Proyecto de investigación financiado por el DARP (Servei S-18017)

N BALANCE IN FREE-STALL DAIRY BARNs USING CUBICLES OR COMPOSTING BEDS AS HOUSING SYSTEMS

ABSTRACT: The objective of the study was to compare N production/recovery and N volatilisation (NVOL) free-stalls were slurry was conventional scrapped and stored in a lagoon (CUB) against bedded-pack barns (LC) using a massive mass-N balance. N intake, milk N and residual N was measure in 6 barns (3 CUB/3LC) during two season, increasing [($\nearrow T^a$) from February to May] and decreasing temperature [($\searrow T^a$) from August to November]. The annual mean N recover in bedded-pack barns was equal to 46 % of the (theoretically) excreted N whereas this coefficient in CUB was much higher 85 %. Season show a low effect on N volatilization (in relation to N intake) that trend to be higher in season 1 (increasing) than season 2, (decreasing temperature, 35 vs 27 %, respectively)

Keywords: Cows, nitrogen mass balance, bedded-pack barns, nitrogen emission

CUANTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PURINES PORCINOS EN EXPLOTACIONES DE ENGORDE

Parera¹, J., Ortiz¹, C., Murillo¹, G., Canut¹, N., Tugues¹, J. y Puigpinós¹, E.

¹Servei de Sòls i Gestió Medioambiental de la Producció Agrària. DARP. Avinguda Rovira Roure 191, 25191 Lleida; jparera@gencat.cat

INTRODUCCIÓN

Actualmente el sector porcino ha mejorado mucho los índices productivos gracias a una serie de cambios en factores como: la mejora genética, el procesado de los piensos, la formulación de nuevas dietas, el uso de nuevos aminoácidos sintéticos y/o aditivos, el diseño de comederos y bebederos, el mantenimiento de las instalaciones o el cambio en las condiciones ambientales y de confort de los animales. Este conjunto de mejoras ha conllevado una reducción de la excreción de nutrientes y del volumen de los purines y, por lo tanto, un cambio en su composición.

Ante todos estos cambios, se plantea la necesidad de cuantificar la cantidad total de nutrientes (N, P, K) realmente generada en cada ciclo de engorde en los purines, así como conocer la evolución de su concentración durante el vaciado de la fosa o balsa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre 2015 y 2018, se ha realizado el estudio de 15 explotaciones porcinas de engorde, representando un total de 30.049 cerdos, donde se ha medido la cantidad de purín generado y como se modificaba la composición.

El seguimiento se iniciaba, para cada una de las explotaciones, con un vaciado del purín almacenado y continuaba con la medición del purín sedimentado en las fosas y balsas. Al final del engorde/s se volvía a medir el volumen de purines almacenados y se procedía a la aplicación en campo mediante cisternas. Las cisternas se taraban y pesaban durante cada vaciado, y se cogía una muestra de purín para conocer su composición. En el caso de no poder pesar las cisternas se calculaba el volumen de purín generado teniendo en cuenta las áreas de las fosas y la altura de purín generado.

De las muestras de purín recogido se analizaron materia seca (MS), conductividad eléctrica (CE), N total (Nt), N amoniacal (Nam), fósforo (P), potasio (K) y, en algunas explotaciones, el Cobre (Cu) y zinc (Zn).

En cada explotación, se recogieron los datos productivos y los consumos de pienso, la composición de los piensos, el número de lechones entrados y cerdos salidos, las bajas y, en algunos casos, los consumos de agua y datos ambientales como la temperatura y la humedad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 18 seguimientos se han descartado 3 debido a problemas en la cuantificación del sedimento almacenado. El peso medio de entrada de los lechones de los 15 seguimientos fue de 17,58 kg y el peso de salida de 109,13 kg. Los engordes duraron de media 139 días que, con un vacío sanitario de 14 días, representa 2,39 ciclos por plaza y año. Todos los engordes realizaron una dieta multifase, y el porcentaje de Proteína Bruta media fue del 15,04%, con un rango entre 14,14 y 15,89%. El consumo de pienso se situó en 217,13 kg/cerdo, y el rango de consumo de pienso entre las explotaciones estudiadas varió entre 198 y 255 kg/cerdo engordado, valores dentro de la media española de 219 kg/cerdo (DARP, 2018). El índice de conversión (IC) obtenido fue de 2,39, siendo 0,05 mejor que la media de las explotaciones españolas.

La generación de purín por cerdo fue de 339 litros, equivalentes a 0,8 m³/plaza y año. Este valor confirma la disminución del volumen de purín que ha experimentado el sector en estos últimos años (LIFE+ Futur Agrari, 2018). Junto a la disminución del volumen de purines, también se ha observado una disminución del contenido de N por plaza y año, quedando como media 4,42 kg N/plaza y año (Figura 1). Este valor obtenido es un 39% menor a la concentración descrita en el Real Decreto 324/2000 de 7,25 kg N/plaza y año por cerdo de cebo. Aunque haya disminuido el volumen y la generación de N, la concentración de N en los purines de las granjas no ha menguado, sino que se ha mantenido constante y en algunos casos ha incrementado.

Uno de los efectos en la disminución del volumen de los purines es el incremento de la MS de estos. El contenido medio de MS de los purines fue del 9%, encontrando explotaciones donde la media fue superior al 11%. Se obtuvo una relación significativa ($P < 0,0001$) entre la MS y el N total, el N orgánico y el P total con un coeficiente de determinación (r^2) de 0,84; 0,85 y del 0,79, respectivamente.

La concentración media de N de las granjas estudiadas fue de 6,52 kg N/m³, observándose diferencias significativas entre ellas (Sig<,001) (3,23 - 9,67 kg/m³) (Tabla 1). Yagüe et al 2012 también encontraron valores similares para explotaciones de engorde (6,22 kg N/m³). La relación entre el N amoniacal y el N total fue del 67%, encontrado una explotación con una relación media del 73%. Para el P y K la concentración media fue de 1,91 kg/m³ y 4,18 kg/m³, respectivamente. Aunque se observaron diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre explotaciones en relación a la concentración media del P y K, la variabilidad fue mucho mayor con el P (0,22 vs 3,69 kg/m³) que con el potasio (2,24 vs 6,61 kg/m³).

Por otra parte, cuando se analizó la evolución de la concentración de nutrientes durante el vaciado de los purines en la explotación también se observó una gran variabilidad (Figura 2). Seguramente el diseño de las fosas y de las balsas y el manejo de estos durante el vaciado tienen un gran efecto con la variación de la composición, junto a que los purines son cada vez más densos ya que contienen más MS (6,68% 2009; 7,62% 2016, DARP,2017). Por ejemplo, en la explotación 8, de las 25 cisternas (15 m³) que se necesitó para vaciar la fosa, la concentración de N varió entre 1,61 y 9,46 kg/m³, una diferencia de casi 6 veces la concentración. Esta variabilidad aún es mayor con el P, donde en la explotación 1 se observó que el rango de concentración en las diferentes cisternas estuvo entre 0,04 y 3.36 kg/m³, una diferencia de 84 veces.

Tabla 1. Composición media y desviación estándar (Desv Std) y los valores mínimos y máximos de los parámetros^a fisicoquímicos de los purines analizados en las diferentes explotaciones de porcino de cebo.

Expl.	n ^o	Media±Desv.Std				Mínimo-Máximo			
		MS (%)	Ntotal (kg/m ³)	P (kg/m ³)	K (kg/m ³)	MS (%)	N total (kg/m ³)	P (kg/m ³)	K(kg/m ³)
1	27	5,56±3,31	4,61±1,12	1,15±1,26	3,20±0,33	1,99-10,29	3,51-7,05	0,04-3,36	2,26-3,65
2	11	8,83±2,82	6,83±0,80	0,22±0,23	4,83±0,22	3,19-11,83	5,20-8,16	0,08-0,85	4,39-5,28
3	23	7,01±3,98	5,89±1,34	1,75±1,25	3,13±0,25	2,77-12,79	4,40-8,08	0,45-3,98	2,70-3,81
4	138	11,86±0,76	8,03±0,52	3,69±0,28	6,61±0,25	10,66-13,40	5,55-8,99	3,22-4,61	6,17-7,35
5	18	11,42±1,26	8,64±1,27	3,16±0,71	5,88±0,70	7,98-13,15	6,77-10,74	2,15-4,30	5,13-6,99
6	30	9,68±2,45	7,06±1,30	2,70±0,59	5,04±0,39	4,26-13,52	4,63-9,01	1,98-4,10	4,25-5,68
7	15	7,24±3,07	5,17±1,95	1,37±0,61	2,78±1,16	2,20-10,46	2,39-7,68	0,34-2,25	1,47-4,12
8	25	7,41±5,30	5,47±3,44	1,85±1,42	3,58±2,15	1,05-14,51	1,61-9,46	0,18-3,56	1,47-6,37
9	22	7,75±3,80	5,19±1,73	1,63±0,85	3,83±0,94	3,43-14,98	3,43-9,25	0,45-3,25	2,95-6,63
10	23	3,83±3,35	3,23±0,78	0,68±0,55	2,22±0,16	2,09-15,86	2,56-5,67	0,28-2,64	1,90-2,54
11	15	8,35±1,24	7,22±0,50	2,12±0,32	4,24±0,35	6,44-10,74	6,46-8,38	1,78-3,03	3,86-4,90
12	9	9,81±0,84	7,21±0,45	2,11±0,16	3,46±0,32	8,55-11,75	6,04-7,60	1,90-2,39	3,11-3,91
13	6	12,11±0,83	9,67±0,49	2,67±0,40	5,37±0,16	11,52-13,72	8,94-10,42	2,30-3,44	5,14-5,54
14	15	9,00±2,87	7,03±1,19	1,60±0,85	4,36±0,74	4,45-13,05	5,30-9,18	0,41-2,86	2,98-5,48

^a MS: Materia seca; Ntotal: Nitrógeno total; Nam: Nitrógeno amoniacal; P: fósforo total; K: potasio total

Con los datos recogidos se puede concluir que actualmente hay una mejor eficiencia en la producción porcina de engorde, que se traduce con una menor generación de N por plaza, pero a la vez se evidencia la necesidad de disponer de sistemas rápidos para conocer el contenido de nutrientes de los purines ya que su concentración de nutrientes, principalmente N y P y en menor grado K, dista mucho entre granjas y dentro del vaciado de la misma granja.

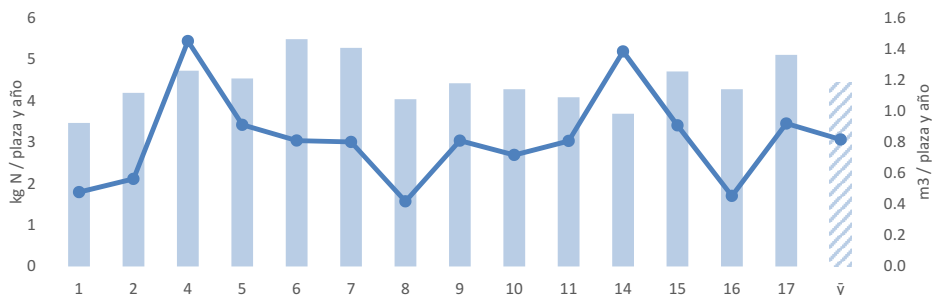


Figura 1. Generación por plaza y año de cerdos de engorde de purín y nitrógeno (N) de los 14 seguimientos.

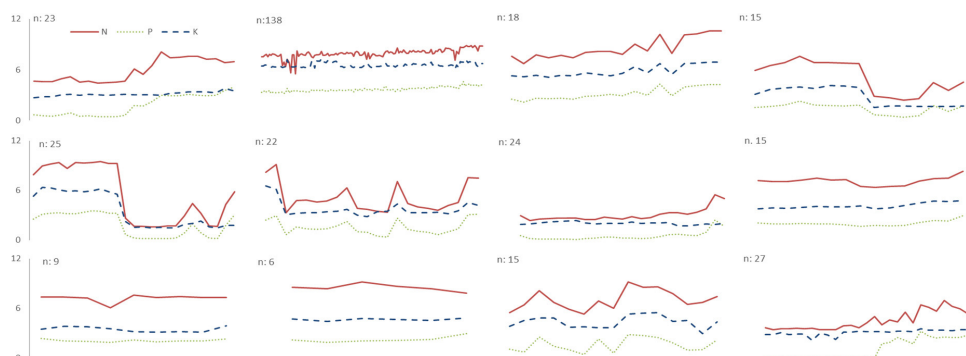


Figura 2. Evolución de la composición (kg/m^3) del nitrógeno (N), fósforo (P) and potasio (K) durante el vaciado de las fosas/balsa de purines de 12 seguimientos (n:337).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Yagüe, M.R, et al., Biosystems engineering III (2012) 206-216
- DARP, 2018. Informe anual del sector porcino 2017
- DARP, 2019. Informe Interno Análisis de composición y relación con la conductividad eléctrica del purín porcino en Catalunya (2007-2017).

Agradecimientos: Este trabajo ha estado cofinanciado por el Programa LIFE+ de la Comisión Europea mediante el proyecto LIFE+ Futur Agrari (LIFE12 ENV/ES/000647).

QUANTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF SLURRY OF FATTENING PIG FARMS

ABSTRACT: Lots of changes in the management of pig farms occurred in the recent years, which implied relevant changes in the slurries. Between 2015 and 2018, 18 pits containing slurries from 15 fattening pig farms (representing 30,049 pigs) were monitored. The amount of nutrients generated per farm and the evolution of the composition of the slurry during its removal from the pit were determined. Results showed a volume generation of 339 l per animal (0.8 m³/place and year). The amount of N generated was about 4.42 kg per place and year, 39 % below the value indicated in the Spanish law that regulates the swine sector. The composition of slurries (N,P,K) ranged from 3.47 to 9.67 kgN/m³, 0.22 to 3.69 kgP/m³, and 2.24 to 6.61 kgK/m³. According to the emptying of 15 pits, the monitoring indicated high nutrient variation in the composition of slurries within the same pit. As a conclusion, data show a clear improvement in efficiency of pig fattening slurry management, which means less nutrients and volume generated per animal. Besides, the high nutrient variation in the composition of pig slurries during the emptying process evidences the need of tools to determine the real-time nutrient content of slurries

Keywords: slurry, nitrogen, phosphorus, concentration

CARACTERIZACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE SISTEMAS DE SEPARACIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO PARA LA GESTIÓN DE LOS PURINES EN EXPLOTACIONES PORCINAS

Parera¹, J., Bonmatí², A., Riau², V., Burgos², L. y Ortiz¹, C.

¹Servei de Sòls i Gestió Medioambiental de la Producció Agrària. DARP. Avinguda Rovira Roure 191, 25191 Lleida. ²IRTA-GIRO. Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui; jparera@gencat.cat

INTRODUCCIÓN

Una herramienta necesaria en muchas explotaciones porcinas para mejorar la gestión de los purines son los separadores sólido-líquido (sep. S/L). Con el uso de los separadores se consigue obtener una fracción sólida (FS) con una concentración más elevada de nutrientes, principalmente fósforo (P) y nitrógeno (N), y una fracción líquida (FL) más diluida. Los dos productos resultantes, FS y FL, son más homogéneos que el purín inicial y, por consiguiente, de mejor manejo, facilitando a su vez una mayor especialización de su posterior gestión.

La necesidad de tratamiento de los purines en zonas de alta concentración ganadera debido a la falta de superficie agrícola conlleva, en la mayoría de los casos, el uso de sep. S/L.

Las tecnologías de separación han sido estudiadas por varios autores desde diferentes enfoques (Møller et al., 2007; Bertora et al., 2008; Hjorth et al., 2010; Kumaragamage et al., 2013) sin embargo, aunque son sistemas fáciles de utilizar, la tecnología elegida, los parámetros de operación, el tipo de purín, la disposición y mantenimiento de las instalaciones, influirán en el rendimiento (η), por lo que se requieren estudios exhaustivos para abordar el efecto de las diferentes variables.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante un periodo de 4 años, se llevó a cabo el seguimiento y caracterización de 12 sep. S/L instalados en diferentes explotaciones ganaderas porcinas, con diferentes tecnologías de diferentes casas comerciales. Se midieron los caudales con un caudalímetro y se analizaron la materia seca (MS), materia orgánica (MO), nitrógeno total (N), N orgánico, N amoniacal, fósforo (P), potasio (K), cobre (Cu), zinc (Zn), pH y conductividad eléctrica (CE) en muestras de purín, FS y FL, con un mínimo de 3 repeticiones. Con los valores de caudal (Q) y los resultados analíticos se realizó el balance másico del sistema.

En una segunda fase, se realizó el seguimiento de 3 sep. S/L modificando parámetros de trabajo como: Q, diámetro de luz de los tamices (\emptyset) o tipo de aditivos antes de realizar el balance. Dos de las explotaciones estudiadas tenían un sistema de separación con tamizado y tornillo prensa (sistema más común en explotaciones porcinas en Cataluña) y otra explotación un sistema de centrifugación horizontal posterior a una separación con tornillo prensa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de η obtenidos para la caracterización de los sep. S/L se muestran en la Figura 1. El η de separación del N y P fue más elevado en el sistema con centrífuga y aditivos que en el sistema mecánico con tamiz y tornillo prensa. Por otra parte, la figura muestra como el manejo juega un papel importante, ya que con un mismo sistema de separación (caso del tamiz y tornillo prensa) se obtuvieron rendimientos muy dispares, ente 2 – 15% y 2,5 – 22% para el N y P, respectivamente.

Cuando se realizó el seguimiento modificando el Q en un sep. S/L con tamiz y tornillo prensa, se hizo evidente la importancia del Q para mejorar el η de separación (Figura 2a). Para el N, los Qes bajos ($<10 \text{ m}^3/\text{h}$) presentaron un mejor η , pero para el P, los mejores rendimientos se obtuvieron con Qes de trabajo de entre 15-25 m^3/h .

La incorporación de un tamiz vibratorio después del tamiz estático no supuso mejoras significativas del η del N, con un leve incremento del 12%; en el caso del P, el η se incrementó en un 56%.

La otra explotación con sistema de tamiz y tornillo prensa en la que se realizó el seguimiento no presentó diferencias en el η según el tipo de purín tratado (cerdas, transición y engorde) debido, seguramente, a que el sistema de alimentación de la explotación era líquido, y a diferencia de las explotaciones con alimentación seca o semi-seca, la composición de los purines es similar independientemente del estado productivo. Los rendimientos de

separación obtenidos fueron alrededor del 10% para el N y 8% para el K (Figura 2b). Para el caso del P, sí que se observaron diferencias entre tipo de purín con incrementos de hasta el 25% con purines de cerdas, y del 13% en cerdas de engorde y de transición. Cuando se trabajó con un Q de 5 m³/h se obtuvo un mejor η másico cuando el diámetro de luz del tamiz era menor (350 vs 500 μ m). Asimismo, se observaron incrementos de η del 2% N y 5% en P, Cu y Zn. También se mejoraron los resultados cuando el diámetro de luz del filtro del tornillo prensa se reducía de 500 μ m a 260 μ m. Se obtuvo una relación positiva (sig<.001) entre el contenido de materia seca del purín y el η de separación del N y P.

El tercer sistema analizado en detalle fue un sistema de separación mediante un tornillo prensa y una centrifuga horizontal con coagulante y polímeros añadidos. Durante el seguimiento, se modificó el tipo de coagulante y en una ocasión se incorporó una centrifuga vertical al final del sistema para ver si mejoraba el η de separación. Como promedio, el η de separación de los elementos N, P, Cu y Zn fue muy elevado, con valores de 45, 86, 86 y 87%, respectivamente (Figura 3). Cuando se cambió de coagulante, el η de separación bajó a valores de 39, 52, 84, 85% N, P, Cu i Zn, respectivamente. Por otro lado, cuando se incorporó la centrifuga vertical al final del sistema de separación, los rendimientos incrementaron poco (3% de N). Con este incremento de η no parece justificable el coste energético y de inversión que resultaría incluir una centrifuga vertical en el sistema.

Con los resultados obtenidos se puede concluir de la importancia del manejo para obtener un buen η de separación y cuando se necesita exportar más de un 25% del N como FS el mejor sistema de separación es la centrifuga con aditivos.

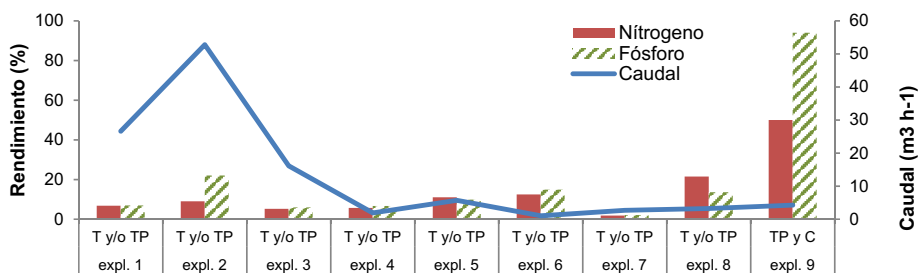


Figura 1. Rendimientos de distribución del nitrógeno (N) y fósforo (P) y caudal de trabajo de los diferentes sistemas de separación sólido - líquido analizados según sistema de separación y tipo de purín tratado (nº: 9). T: tamiz; TP: tornillo prensa; C: centrifuga.

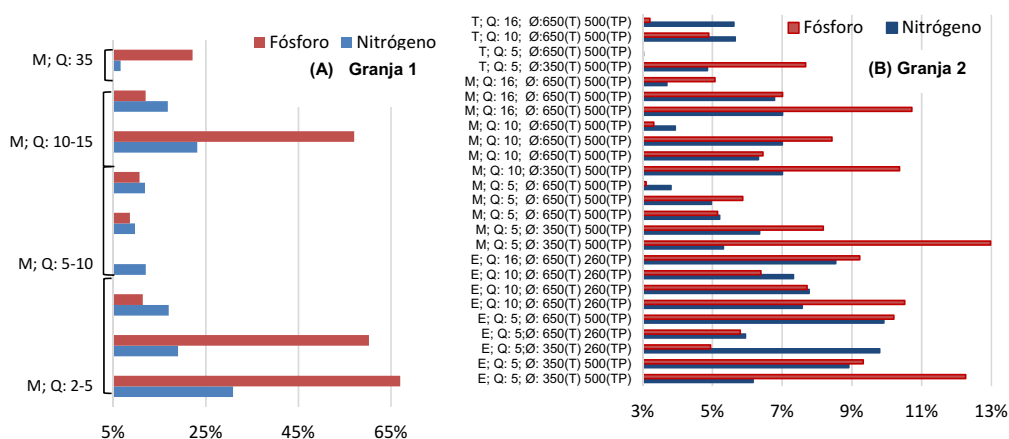


Figura 2. Rendimientos de distribución del nitrógeno (N) y fósforo (P) a la fracción sólida del sistema de separación tamiz (T) y tornillo prensa (TP) de 2 explotaciones según producción (T; Transición; M; Madres; E; Engorde), caudal de trabajo (m³h⁻¹) y diámetro de luz del tamiz (T) y del filtro (F).

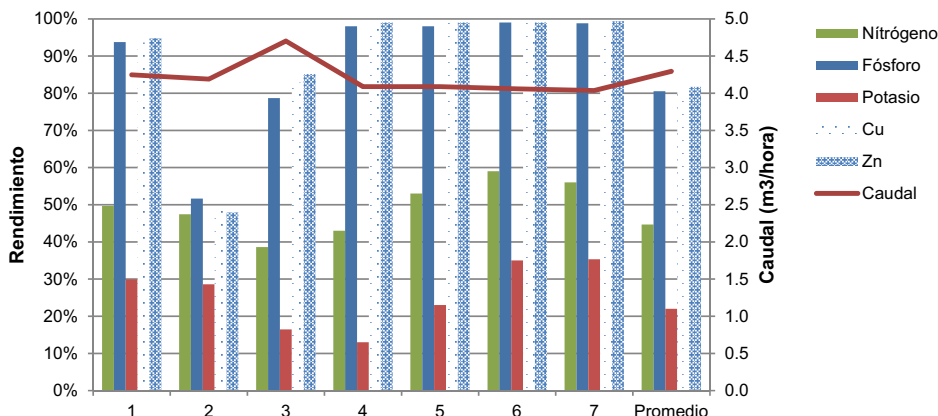


Figura 3. Rendimientos de separación del nitrógeno, fósforo, potasio, cobre y zinc y caudal de trabajo del sistema de separación de purines mediante un tornillo prensa y una centrifuga.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Møller et al., 2007. Nutrient recovery by solid-liquid separation and methane productivity of solids. *Trans. of the ASABE*, 50(1): 193-200.
- Bertora et al., 2008. Pig slurry treatment modifies slurry composition, N₂O, and CO₂ emissions after soil incorporation. *Soil Biol. and Bioch.*, 40(8): 1999-2006.
- Hjorth et al., 2010. Solid-liquid separation of animal slurry in theory and practice. A review. *Agron. for Sust. Dev.*, 30(1): 153-180.
- Kumaragamage et al., 2013. Phosphorus fractions in solid and liquid separates of swine slurry separated using different technologies. *J. of Env. Qual.*, 42(6): 1863-1871.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido cofinanciado por los Programas LIFE+ de la Comisión Europea mediante el proyecto LIFE+ Futur Agrari (LIFE12 ENV/ES/000647) y LIFE+ Agriclose (LIFE 17 ENV/ES/000439). A su vez agradecer a los ganaderos y casas comerciales su participación en el proyecto.

CHARACTERIZATION AND OPTIMIZATION OF SOLID-LIQUID SEPARATION TREATMENTS FOR THE MANAGEMENT OF SLURRIES IN PIG FARMS

ABSTRACT: Solid-liquid separation are becoming a crucial treatment to improve slurry management, allowing nutrients (nitrogen and phosphorus mainly) exportation from high livestock density areas to low density zones. Different separation systems from 12 pig farms has been monitored during 5 years (2014 – 2018), with 61 sampling campaigns. Although the most common systems combine sieves with screw press, the highest separation efficiency was obtained with screw press followed centrifuge. The mass flow of solid fraction (SF) obtained was 7% with the screw press and 20% with the centrifuge. Concerning the distribution of nutrients in the SF, the system of sieve + screw press reached lower efficiencies, 10%, 17%, 9%, 12% and 11%, than screw press + centrifuge, 45%, 86%, 23%, 94% and 85% for N, P, K, Cu and Zn, respectively. A good prediction according to the mass performance of the separation system and the distribution of N to SF ($R^2=0.8$) has been obtained. Regarding the effect of the filter diameter of the screw press (260 – 650 μm), the distribution of nutrients increased by 2 and 3%. With the results obtained, we can conclude the importance of management to obtain a good separation yield and when the farmer need to export more than 25% of the N as FS the best separation system is the centrifuge with additives

Keywords: Slurry, separation system, N, P.

CARACTERIZACIÓN PRODUCTIVA (HUEVOS) EN LAS RAZAS AVÍCOLAS AUTÓCTONAS PORTUGUESAS

Brito¹, N.V., Lopes¹, J. C. y Ribeiro², V.A.

¹CISAS - Center for Research and Development in Agrifood Systems and Sustainability, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal. ²AMIBA – Associação de Criadores de Raça Bovina Barrosã, Vila Verde – Portugal; nunobrito@esa.ipv.pt

INTRODUCCIÓN

Las razas autóctonas portuguesas de gallinas jugaron, en los sistemas agrícolas tradicionales y hasta mediados del siglo XX, un papel decisivo en la producción animal, en un contexto de minifundio, que las ha protegido de la amenaza de extinción, con consecuencias positivas en la salvaguarda de la biodiversidad genética.

Distribuidas en todo el país, es en el noroeste de Portugal donde las razas de gallinas autóctonas tienen su solar, con mayor número de explotaciones y genéticamente menos degradadas. Se caracterizan por sistemas productivos complementarios a otras actividades agrícolas, en los que la producción de carne y huevos son consideradas como subproducto de la explotación, primordialmente dirigida hacia el autoconsumo (Costa *et al.*, 2005).

Las cuatro razas de gallinas autóctonas portuguesas son la Pedrês Portuguesa, Preta Lusitânica, Amarela y Branca y se caracterizan por su rusticidad, resistencia a enfermedades, a condiciones adversas del clima y elevada adaptabilidad alimentaria (Brito *et al.*, 2018).

Los huevos tienen una importante función reproductiva, constituyen una importante reserva de nutrientes necesarios para el desarrollo embrionario del pollo y presentan un alto interés nutricional. Conocido el tipo de producción de las gallinas de raza autóctonas en régimen libre, la variación de la composición química de los huevos es determinada, entre muchos otros factores, por las características genéticas de las aves, el tipo de manejo y por la alimentación de los animales, que influyen en sus cualidades nutricionales (Carolino *et al.*, 2018). El objetivo de este estudio fue conocer la productividad de las razas avícolas portuguesas, a través del contraste de puesta, a lo largo de su ciclo productivo y en condiciones de producción tradicionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio de contraste de puesta se realizó en la estación experimental de AMIBA, en el período comprendido entre 2014 y 2017, período de vida útil de una gallina autóctona. Se seleccionaron 12 hembras de las razas Pedrês Portuguesa, Preta Lusitânica, y Branca y 10 hembras de la raza Amarela. La alimentación suministrada fue la tradicional de estos sistemas productivos, las condiciones ambientales sin interferencias externas y la recogida de huevos se realizó diariamente, por la mañana a la misma hora. Para el análisis estadístico se recurrió al procedimiento de comparación de medias y ANOVA (SPSS24).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se constató, durante los cuatro años, una producción total de 17.818 huevos, distribuidos según se observa en la Tabla 1. También se presenta el número de huevos por ave (Tabla 2).

Tabla 1. Total de huevos recogidos (2014 - 2017) en cuatro razas autóctonas portuguesas.

Raza	2014	2015	2016	2017	TOTAL
Amarela	869	846	780	733	3228
Branca	793	705	889	733	3120
Pedrês Portuguesa	1914	1681	1435	1173	6203
Preta Lusitânica	1661	1367	1173	1066	5267

Tabla 2. Media mensual ($\pm s$) de huevos recogidos por gallina (2014-2017) en cuatro razas autóctonas portuguesas.

Raza	2014	2015	2016	2017
Amarela	12,07 ^b \pm 4,97	11,75 ^b \pm 3,95	8,13 ^{ab} \pm 2,68	7,64 ^a \pm 2,70
Branca	6,00 ^a \pm 3,47	5,34 ^a \pm 3,17	6,73 ^a \pm 3,03	6,60 ^a \pm 3,75
Pedrês Portuguesa	12,27 ^a \pm 7,66	10,18 ^a \pm 5,58	9,20 ^a \pm 3,76	8,15 ^a \pm 4,07
Preta Lusitânica	10,65 ^a \pm 4,99	8,76 ^a \pm 5,46	7,52 ^a \pm 3,78	8,88 ^a \pm 4,48

Distintas letras en una línea significan diferencias significativas ($p < 0,05$)

Se observó una variación importante de la producción mensual de huevos a lo largo de los años, con menor producción en los años 2016 y 2017, con excepción de la raza menos productora, la raza Blanca. Se constataron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la producción mensual de las razas a lo largo de los 4 años solamente para la raza Amarela. La elevada variabilidad estacional y las condiciones climáticas pueden justificar estos resultados. Las razas que presentaron mejores producciones fueran la Pedres Portuguesa y Amarela, resultados no coincidentes con Soares (2015) que presenta la raza Amarela como la de mejores características de puesta.

En un análisis de la variación mensual (Fig. 1) de la puesta, se verificó que los picos se sitúan entre abril y julio, correspondiendo al período de días con mayor fotoperiodo, factor esencial para la producción de huevos. Se observa una gran irregularidad en la producción de estas aves, que se asocia a una discrepancia en las edades, a una mezcla de animales en ciclos de postura distintos y, por consiguiente, pausas de postura relativamente largas. Dado que el objetivo del estudio fue de análisis en situación de campo, distintos factores pueden influir negativamente en los resultados, lo que ha obligado a iniciar estudios comparativos entre grupos de campo y grupos en situación experimental, que actualmente se desenrollan.

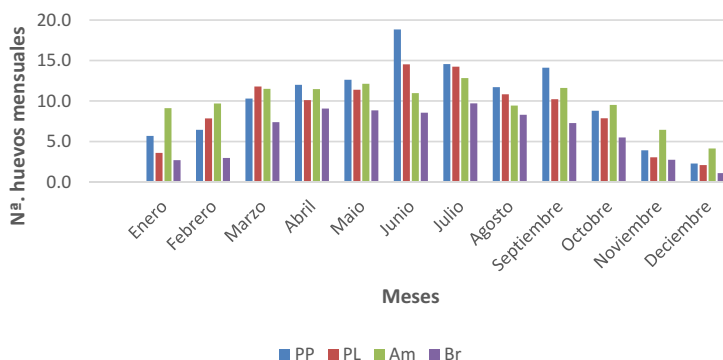


Figura 1. Análisis de la variación mensual del contraste de postura, en el intervalo comprendido entre 2014 y 2017, de las gallinas de razas autóctonas portuguesas.

Se presenta gráficamente (Fig. 2) la estimación ajustada del contraste de postura de las gallinas de raza autóctonas portuguesas, que indica la mayor producción de la raza Pedrês Portuguesa y mayor estabilidad a lo largo de los meses de la raza Amarela.

Comparando nuestros resultados con razas autóctonas españolas, los de las razas portuguesas fueran inferiores, aunque se mantienen los indicadores de baja productividad, como en la raza Menorca con 129 huevos / ave / año (Villalba *et al.*, 2007), la raza Gallina de Mós con 181 huevos/ave/año (Rivero *et al.*, 2009) y la raza Castellana Negra con 163 huevos/ave/año (Miguel *et al.*, 2007). De acuerdo con Cerolini *et al.*, (2010), la raza autóctona italiana Mericanel della Brianza también tuvo grandes oscilaciones en la producción de huevos: en 11 semanas 392 huevos por 14 hembras y variaciones de producción, en nueve semanas, de 48% a 29% de postura.

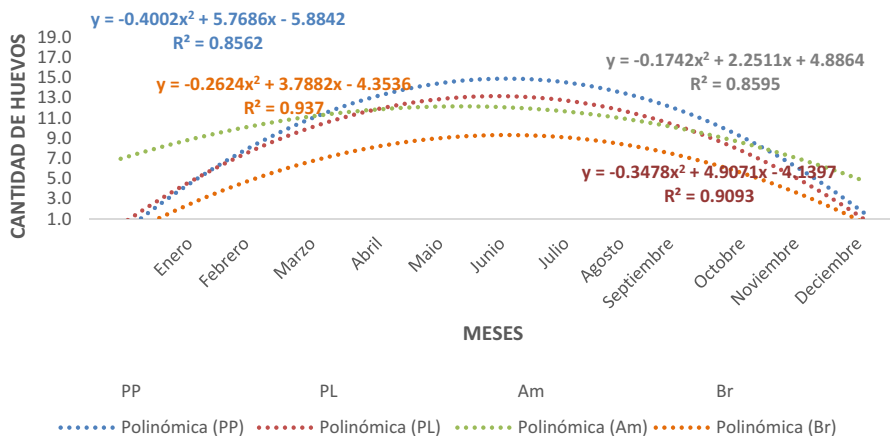


Figura 2. Estimación del contraste de postura de las gallinas de razas autóctonas portuguesas.

Dada la diversidad de resultados, las distintas condiciones de producción y experimentación, y la similitud de postura entre razas pesadas y ligeras, es necesario efectuar más estudios para conocer mejor y caracterizar el potencial de estas razas y de esa forma valorar estos recursos genéticos autóctonos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brito, V.N., Gouveia, A., Leite, J., Ribeiro, V., Alves, M., A. & Dantas, R., 2018. Município de Ponte de Lima, 127pp
- Costa, L., Leite, J.V., Lopes, J.C., Soares, M.L. & Brito, N.V., 2005. ITEA, Vol. Extra N.º 26. Tomo I, pp 78-80.
- Carolino, I., Lordelo, M., Ribeiro, V., Alves, S., Bessa, R. & Carolino, N., 2018. Revista Voz do Campo, Edição nº. 211.
- Cerolini, S., Madeddu, M., Zaniboni, L., Cassinelli, C., Mangiagalli, M.G. & Marelli, S.P., 2010. I.J.A.S., vol.9: 72.
- Miguel, J.A., Asenjo, B., Ciria, J. & Calvo, J.L., 2007. British Poultry Sci. 48: 651-654.
- Rivero, C.J., López, C., Fernández, M., Rois, D., Justo, J.R., Adán, S. & Lama, J., 2009. Arch. Zootec.58: 525-528.
- Soares, M.L.C., 2015. ICBAS. Porto. Pp 15-24.
- Villaba, D., Francesh, A., Pons, A., Bustamante, J., Espadas, J., J.M. & Cubiló, D., 2007. Arch. Zootec. 56: 545-550.

PRODUCTIVE CHARACTERIZATION (EGGS) IN THE PORTUGUESE AUTOCHTHONOUS CHICKEN BREEDS

ABSTRACT: The Portuguese autochthonous poultry breeds have been forgotten over the years, having re-grown in small traditional productions, particularly in Northern Portugal. The first characterization studies of the four breeds were started, in order to develop Breeding Plans of the autochthonous breeds, to encourage the preservation of the breed and to promote, with the consumer, their products. Initial studies of posture contrast of the four breeds found reduced values of productivity, standing out the Pedrês Portuguesa and the Amarela breeds as more producers and the Branca breed as the minor producing breed. Slightly higher values were found in the Spanish autochthonous breeds and great diversity in other European breeds. Complementary studies on different modes of production, environmental and housing conditions are fundamental to better understand the productive potential of laying eggs of our autochthonous breeds. The consumer's enormous interest in more sustainable systems creates an opportunity that can boost these small local productions.

Keywords: eggs, autochthonous, chicken, breeds.

CARACTERIZACIÓN PRODUCTIVA (CRECIMIENTO) EN TRES RAZAS AVÍCOLAS AUTÓCTONAS PORTUGUESAS

Brito¹, N.V., Lopes¹, J. C., Sarandão², M.S. y Ribeiro³, V.A.

¹CISAS - Center for Research and Development in Agrifood Systems and Sustainability, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal. ²ESAPL – Escola Superior Agrária de Ponte de Lima. ³AMIBA – Associação de Criadores de Raça Bovina Barrosã, Vila Verde - Portugal; nunobrito@esa.ipv.pt

INTRODUCCIÓN

Las gallinas autóctonas se producen en un contexto de pequeñas producciones y granjas, sobre todo en el noroeste de Portugal. Este territorio presenta un preocupante envejecimiento poblacional, resultante de la gran ola de emigración de los años 60 y de la continua atracción por el litoral, que condiciona económica, social, cultural y paisajísticamente el mundo rural de nuestros tiempos.

A principios del siglo XXI, las razas de gallinas autóctonas portuguesas (presentes en este territorio durante tanto tiempo que podrían ser consideradas como originarias) se encontraban en una situación de abandono total, sin ningún estudio o trabajo de caracterización, acción de preservación o promoción que las valorizasen.

Hay pocos informes de la producción avícola en Portugal. Sin embargo, en los años 30 y 50 del siglo pasado, diferentes autores mencionaron la existencia de cuatro razas, siendo curioso notar que estaban ya completamente definidas: la gallina Preta Lusitánica como Transmontana; la gallina Amarela como Minhota, la Pedrês Portuguesa y la Branca.

El sistema de producción de las razas autóctonas prima por el equilibrio en el uso de recursos naturales (tierra y agua) ambientalmente "más amigable", particularmente ajustado en regiones más desfavorecidas, donde estos recursos son escasos y la sostenibilidad de las producciones empieza a ser cada vez más considerada como un argumento de los consumidores para la elección de los productores y de los productos que integran su dieta.

La comercialización y la promoción de los productos de estas razas son determinantes para una mejor valorización y atractivo de la producción, en particular mediante el reconocimiento del modo de producción y de las cualidades organolépticas del producto final. El objetivo principal de este estudio fue analizar el crecimiento de estas razas autóctonas, su curva de crecimiento y tasa máxima, alejándonos de una evaluación comparativa con otras razas. Si bien resultados obtenidos en otros estudios, bajo condiciones ligeramente diferentes, pueden ayudar a caracterizar su comportamiento productivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio y caracterización del crecimiento se basaron en la recogida y tratamiento de un número relevante de pesajes (24 por animal a lo largo del ciclo de crecimiento) y en los efectivos de tres razas autóctonas, Pedres Portuguesa (PP), Preta Lusitanica (PL) y Amarela (Am) en 50 granjas. Los animales (230 PP, 220PL, 195Am) tenían edades comprendidas entre 8 y 250 días, en el período entre 2006 y 2017.

Los pesajes se realizaron semanalmente hasta los 60 días de edad y quincenalmente, en fechas preestablecidas y siempre por la mañana, hasta el final del ensayo, a los 250 días.

Se utilizaron dos tipos de balanza, una de mayor precisión, OERTLING Model OC032-AOZA10A-A, (3,000gx0,01) para el pesaje de las primeras 3 semanas de vida, debido al reducido peso que presentaban los pollitos y para las fases siguientes, una balanza electrónica portátil EECTROSAMSON, Salter Brecknell (25Kgx20g).

Para la caracterización de la curva de crecimiento se optó por la función de Gompertz por ser la que más se adecua y la más utilizada para las especies avícolas (Goliomytis *et al.*, 2003; Freitas, 2005). La tasa de crecimiento en g / día fue calculada a través de la derivada de la función anterior.

La curva de Gompertz es una función usada para describir el crecimiento de animales y tejidos, expresando la masa en función de la edad del animal:

$$M=A \cdot e^{e \cdot B \cdot (t-C)}$$

M = masa corporal (g); t = edad (días); A = masa en la madurez (g); B = crecimiento relativo en el punto de inflexión (g/día); C = edad en el punto de inflexión (días); y = 2,718281828459.

Los cálculos de los parámetros de la función Gompertz se obtuvieron utilizando el procedimiento NLIB (SAS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La curva de crecimiento para hembras (Fig. 1) y machos (Fig. 2) representa el crecimiento de las tres razas autóctonas (Am, PP y PL) desde el nacimiento hasta 250 días de vida. Se concluyó que la población que presenta peso superior a los 250 días de vida es la PP (3138.24g machos y hembras 2908.17g). La raza PL alcanza valores ligeramente más bajos (3130.61g machos y 2826.22 g hembras) y, por otro lado, la raza Am, demuestra un peso vivo inferior (2716.39 g en machos y 2308.72 g en hembras).

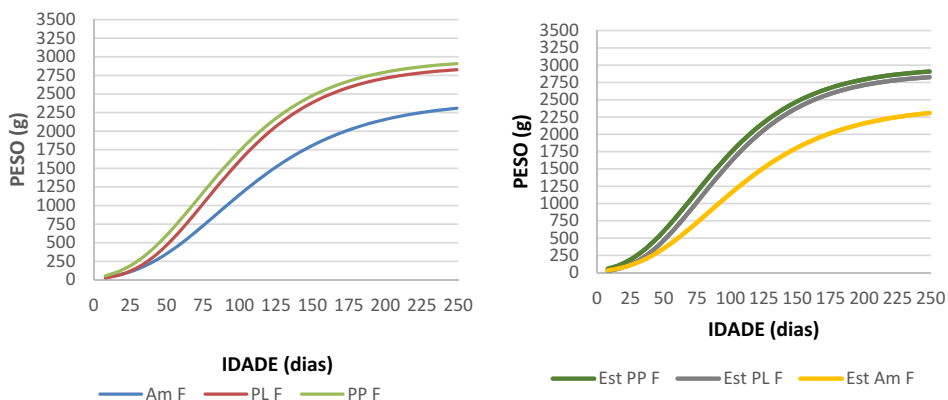


Figura 1. Valores medios (g) del peso (dir.) y peso simulado (izq.) de las Hembras de las razas Am, PL y PP, por un período de 250 días, entre los años 2006-2017.

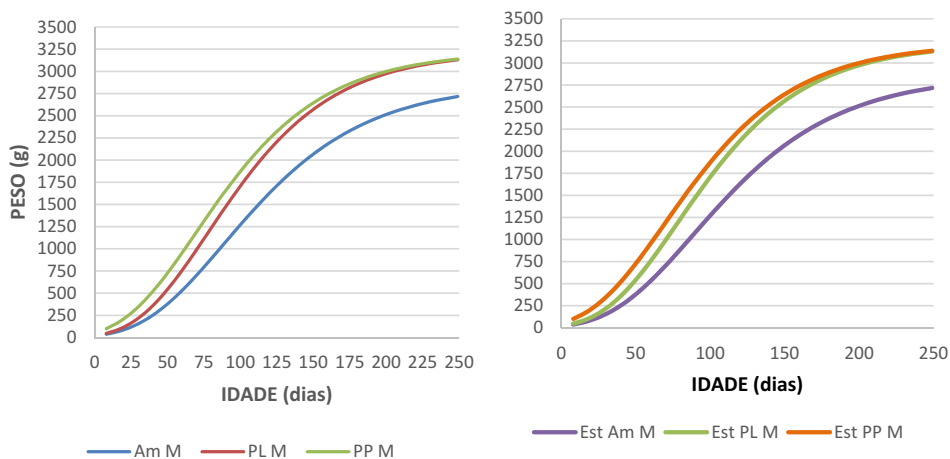


Figura 2. Valores medios (g) del peso (dir.) y peso simulado (izq.) de los Machos de las razas Am, PL y PP, por un período de 250 días, entre los años 2006-2017.

La diferencia de peso arriba mencionada se encuentra de acuerdo con los estudios de caracterización del crecimiento de las 3 razas autóctonas realizado por Sarrandão (2018), que estimaron pesos de 2851 ± 13.9 , 3048 ± 14.0 , 3244 ± 14.1 , respectivamente, para los machos de las razas Am, PP y PL. La diferencia varió, para los machos, de 168.6g a 354.7g, con la raza PP presentando pesos más altos y los machos de la raza Am más ligeros. Situación similar fue encontrada en las hembras, con variaciones entre 189.9g y 383.9g.

Este trabajo demostró que, en estas condiciones de producción tradicionales, las razas portuguesas pueden alcanzar pesos medios entre 3 y 3,2 kg para los machos y de 2 a 2,5 kg para las hembras, pero con un crecimiento lento, alcanzando el máximo de crecimiento tardíamente, entre los 71 y 83 días.

En España, estudios sobre razas autóctonas obtuvieron resultados similares a los encontrados en el presente trabajo. La raza autóctona española Gallina de Mós alcanzó, a los 270 días de vida, una media de 4572g (machos) y 3696g (hembras) (Sánchez *et al.*, 2000). La raza Menorca alcanzó pesos adultos inferiores, a las 72 semanas, de 2834g para los machos y 2210 g para las hembras (Villalba *et al.*, 2007). Miguel *et al.* (2008) estimaron pesos de machos de la raza española Castellana Negra de 2661g, a las 29 semanas. Como las razas portuguesas, estas razas estudiadas mostraron un elevado dimorfismo sexual, con relevantes diferencias de peso. Utilizando el modelo adaptado Gompertz-Laird, Miguel *et al.*, (2009) estimaron el peso corporal para machos de cuatro razas españolas mejoradas, Castellana Negra, Penedesenca Negra, Empordanesa Roja, Gallina de Mós y los resultados obtenidos en el presente estudio se muestran, curiosamente, más próximos a las razas autóctonas españolas, principalmente con la raza Penedesenca Negra.

Según la forma tradicional de explotación, las hembras se quedan de 2 a 4 años en la granja para producción de huevos, pero los machos son criados y comercializados para carne, siendo sacrificados entre los 10 y 12 meses. Los resultados evidencian que alrededor de los 300 días los machos de las tres razas tienen pesos próximos a los 3 Kg, peso aceptable para el sacrificio y económicamente más ventajoso para el productor.

Como conclusión de este estudio constatamos que las razas portuguesas son de crecimiento lento, siendo la PP la más productiva en términos de peso, de mayor crecimiento y rendimiento. Observamos un dimorfismo sexual bastante acentuado en estas razas, con superioridad evidente de los machos. Más estudios técnicos y científicos en distintas condiciones de producción son fundamentales para la caracterización y mejora de las razas de gallinas autóctonas portuguesas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brito, V.N., Gouveia, A., Leite, J., Ribeiro, V., Alves, M., A. & Dantas, R., 2018. 127pp. • Freitas, A.R., 2005. Curvas de crescimento na produção animal. Rev. Zoot., 354(3): 786-795. • Goliomytis, M., Panopoulou, E. & Rogdakis, E., 2003. Poultry Science 82: 1061-1068. • Miguel, J.A., Ciria, J., Asenjo, B. & Calvo, J.L., 2008. Animal 2: 305-311. • Miguel, J.A., Asenjo, B., Ciria, J. & Calvo, J.L., 2009. ITEA, 105(1): 7-16. • Sarrandão, M., 2018. ESA-IPVC. • SAS Institute, 1999. • Villaba, D., Francesh, A., Pons, A., Bustamante, J., Espadas, J., J.M. & Cubiló, D., 2007. Arch. Zootec. 56: 545-550.

PRODUCTIVE CHARACTERIZATION (GROWTH) IN THREE PORTUGUESE AUTOCHTHONOUS CHICKEN BREEDS

ABSTRACT: The Portuguese autochthonous poultry breeds have been forgotten over the years, having re-grown in small traditional productions, particularly in Northern Portugal. The first characterization studies of the four breeds were started, in order to develop Breeding Plans of the autochthonous breeds, to encourage the preservation of the breed and to promote, with the consumer, their products. In this initial study of population growth, in a significant sample, during 11 years, comprising different farms, accompanied by the breeders' association, it was observed as a result a slow growth of the animals and important differences between breed and sex. The breed that reveals weight over 250 days of life is Pedrês Portuguesa (3138.24g males and females 2908.17g), while the Preta Lusitânica reaches slightly lower values (3130.61g males and 2826.22 g females) and, on the other hand, Amarela breed, shows a live weight less than 250 days (2716.39g males and 2308.72 g females). Breeding programs of these breeds are decisive in view of their productive sustainability, particularly when there is good consumer acceptance of traditional products.

Keywords: growth, autochthonous, chicken, Portuguese.

ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO DE CORDEROS DE LAS RAZAS CHURRA-GALEGA-BRAGANÇANA Y BORDALEIRA-DE-ENTRE-DOURO-E-MINHO

Cruz¹, C.B., Cerqueira^{2,3}, J., Araújo³, J.P., Gonzales-Barron⁴, U. y Cadavez⁴, V.

¹Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, campus Rio Pomba, ²Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Ponte de Lima, ³Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, Vila Real, ⁴Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança; vcadavez@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

La industria ovina portuguesa se caracteriza por una gran diversidad de sistemas de producción, que se basan en el pastoreo que permite disfrutar de los pastos naturales y los residuos de cultivos agrícolas. En Portugal, la producción de carne ovina y caprina constituye el 2,8% de la producción de carne en el país y es capaz de suministrar aproximadamente el 82% de la demanda interna (INE, 2015). Por otro lado, las trece razas autóctonas de ovinos nacionales constituyen un importante patrimonio genético que se debe preservar.

Las razas Churra-Galega-Bragançana (CGB) y Bordaleira-entre-Douro-e-Minho (BEDM) son dos razas autóctonas del norte de Portugal, explotadas para la producción de carne, la primera en la bio-región del Atlántico y la segunda en la bio-región mediterránea.

Cuando se explotan para la producción de carne, los parámetros de crecimiento, como el peso al nacer y la ganancia de peso vivo, son indicadores importantes de la productividad de los rebaños y de los sistemas de producción. Su conocimiento ayuda en el proceso de toma de decisiones en aspectos como la selección de reproductores y el manejo que permita optimizar el crecimiento de los corderos y, de esta forma, los beneficios económicos para los productores. El crecimiento de los corderos puede verse afectado por diversos factores, tales como: el sistema de producción, la época de nacimiento, el tipo de nacimiento, el sexo, entre otros (Joy et al., 2008; Ekiz et al., 2013). Así, el objetivo de este estudio fue evaluar las características de crecimiento de corderos de las razas CGB y BEDM explotadas en régimen semi-intensivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio, se utilizaron 15 corderos de raza BEDM (11 machos y 4 hembras) y 15 de raza CGB (9 machos y 6 hembras). Los corderos de raza CGB procedieron de la explotación de la Escuela Superior Agraria de Bragança y los de raza BEDM de la explotación de la Escuela Superior Agraria de Ponte de Lima. En el conjunto de las dos razas, nacieron 16 corderos de parto simple y 14 de parto doble; si bien, separando por raza, la mayoría de los partos dobles (12) ocurrieron en el grupo de raza BEDM. Desde el nacimiento hasta los 3 meses de edad, los corderos permanecieron junto a las madres y tuvieron acceso *ad libitum* a heno de prado natural. Después del destete, que ocurrió al cabo de 3 meses, los corderos siguieron alimentándose con heno de prado natural, además de 300 g/día de alimento compuesto comercial suministrado en dos ingestas por día (9:00 y 17:00 horas). Los corderos fueron pesados al nacer (PN) y, a seguir, en intervalos de 15 días hasta los 4 meses de edad. Los datos de crecimiento se utilizaron para calcular: peso vivo a los 30 (P30), 60 (P60), 90 (P90) y 120 (P120) días de edad; ganancia de media diaria desde 0 a 30 (GMD30), desde 0 a 60 (GMD60), desde 0 a 90 (GMD90), desde 0 a 120 (GMD120), desde 30 a 60 (GMD3060), desde 30 a 90 (GMD3090) y desde 30 a 120 (GMD30120) días de edad. Las variables de peso vivo y GMD, estimadas a las edades estándar, se analizaron con un modelo lineal que contempló los efectos de raza, sexo y tipo de nacimiento. Las medias de los mínimos cuadrados fueron contrastadas usando la librería *lsmeans* (Russell y Lenth, 2016) implementada en el software R (R Core Team, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presenta la evolución del peso (kg) y de ganancia media diaria (kg/d) desde el nacimiento y a las edades estándar de 30, 60, 90 y 120 días de edad de corderos de las razas CGB y BEDM en sistema de manejo semi-intensivo. Los corderos de raza CGB presentaron valores de PN ~25% más altos ($P < 0,05$) que los de la raza BEDM (3,50 versus

2,62 kg). Esta tendencia se siguió manifestando, y a su vez acentuando, a lo largo del tiempo, en las edades estándar de 30, 60, 90 y 120 días. A los 120 días (Figura 1), esta diferencia alcanzó un valor máximo de 54% a favor de la raza CGB (28,2 versus 12,9 kg).

Tabla 1. Peso al nacimiento (PN), peso vivo a los 30 (P30), 60 (P60), 90 (P90) y 120 (P120) días de edad, ganancia de media diaria desde 0 a 30 (GMD30), desde 0 a 60 (GMD60), desde 0 a 90 (GMD90), desde 0 a 120 (GMD120), desde 30 a 60 (GMD3060), desde 30 a 90 (GMD3090) y desde 30 a 120 (GMD30120) días de edad de corderos de las razas CGB y BEDM en sistema de manejo semi-intensivo.

Parámetros	Raza		Sexo		Tipo de nacimiento	
	CGB (n=15)	BEDM (n=15)	Macho (n=20)	Hembra (n=10)	Simple (n=16)	Doble (n=14)
PN	3,5±0,151 ^a	2,6±0,142 ^b	3,0±0,105 ^a	3,1±0,152 ^a	3,1±0,137 ^a	2,1±0,159 ^a
P30	10,6±0,379 ^a	7,2±0,356 ^b	9,0±0,263 ^a	8,9±0,381 ^a	9,1±0,344 ^a	8,8±0,399 ^a
P60	17,9±0,504 ^a	10,1±0,474 ^b	14,3±0,350 ^a	13,7±0,507 ^a	13,8±0,458 ^a	14,2±0,222 ^a
P90	23,3±0,742 ^a	11,9±0,697 ^b	18,2±0,514 ^a	17,1±0,746 ^a	17,4±0,674 ^a	17,8±0,781 ^a
P120	28,2±1,091 ^a	12,9±1,025 ^b	21,7±0,757 ^a	19,4±1,097 ^a	20,4±0,991 ^a	20,7±1,148 ^a
GMD30	0,238±0,017 ^a	0,154±0,010 ^b	0,198±0,007 ^a	0,194±0,011 ^a	0,198±0,010 ^a	0,194±0,113 ^a
GMD60	0,241±0,008 ^a	0,124±0,007 ^b	0,188±0,005 ^a	0,177±0,008 ^a	0,178±0,007 ^a	0,187±0,008 ^a
GMD90	0,220±0,085 ^a	0,103±0,008 ^b	0,168±0,006 ^a	0,155±0,009 ^a	0,159±0,008 ^a	0,164±0,009 ^a
GMD120	0,206±0,009 ^a	0,086±0,009 ^b	0,155±0,006 ^a	0,136±0,009 ^a	0,144±0,008 ^a	0,148±0,010 ^a
GMD3060	0,243±0,011 ^a	0,094±0,012 ^b	0,178±0,008 ^a	0,159±0,011 ^a	0,157±0,010 ^a	0,181±0,011 ^a
GMD3090	0,212±0,010 ^a	0,077±0,010 ^b	0,154±0,007 ^a	0,136±0,010 ^a	0,140±0,009 ^a	0,150±0,020 ^a
GMD30120	0,195±0,011 ^a	0,063±0,010 ^b	0,141±0,008 ^a	0,117±0,011 ^a	0,126±0,010 ^a	0,132±0,012 ^a

Los superíndices a, b, c indican diferencias ($p < 0,05$) entre razas, sexo y tipo de nacimiento.

El mayor peso al nacimiento y a las edades estándar de los corderos de raza CGB reflejan el mayor peso vivo maduro de esta raza (50 kg en las hembras y 70 kg en los machos) en comparación con el peso vivo maduro de la raza BEDM (35 kg en las hembras y 55 kg en los machos). Por tanto, estas diferencias están de acuerdo con lo esperado, ya que la raza BEDM siendo una raza de menor peso vivo maduro es también una raza precoz; es decir, alcanza el peso vivo maduro más temprano que los corderos de raza CGB.

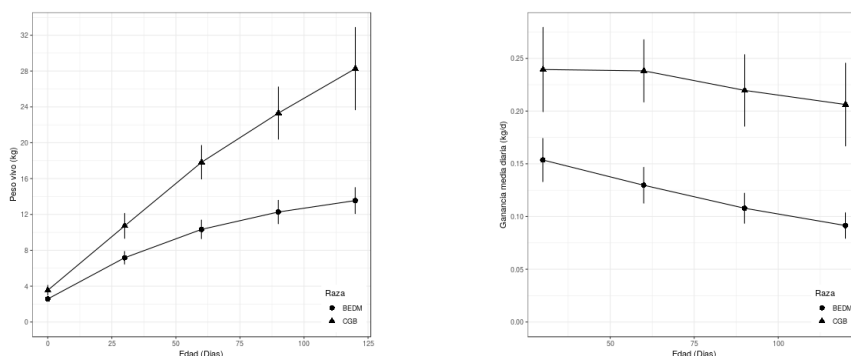


Figura 1. Curva de crecimiento (izquierda) y ganancia media diaria (derecha) de los corderos de razas Churra-Galega-Bragançana (CGB) y Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM).

Los efectos del sexo y tipo de nacimiento (Tabla 1) no se mostraron significativos ($P > 0,05$) en ninguna de las características de peso vivo y de ganancia media diaria. Estos resultados contradicen los obtenidos por Castel *et al.* (2000), los cuales identificaron como factores más influyentes en el crecimiento de corderos la explotación de procedencia y el tipo de nacimiento. En lo que se refiere al efecto del sexo, Alcade *et al.* (2000) tampoco encontraron diferencias en los parámetros de crecimiento de corderos machos y hembras de las razas Merinos y cruzados, lo que puede ser debido a la joven edad de los corderos, la cual no permite la manifestación de las diferencias de capacidad de crecimiento entre los corderos machos y hembras. Los resultados de nuestro estudio pueden deberse a la pequeña muestra (15 corderos) utilizada; los ensayos de crecimiento que desarrollamos actualmente pueden ayudar a aclarar estos resultados.

La GMD fue mayor ($P < 0,05$) en los corderos de raza CGB en todas las edades estándar consideradas (Tabla 1). Por otro lado, en la raza BEDM, el GMD bajó ~16,9% entre los 60 y 90 días de edad, mientras que, en los corderos de raza CGB, la reducción fue apenas de 8,7% (Figura 1). Una vez más, estos resultados muestran la mayor precocidad de la raza BEDM. Estos resultados demuestran que la edad de sacrificio de los corderos debe ajustarse a su precocidad, y los animales precoces deben ser sacrificados a edades más jóvenes. El valor medio de GMD desde el nacimiento hasta el sacrificio (120 días de edad) fue superior ($P < 0,05$) en los corderos CGB (210 g/d) que en los de raza BEDM (90 g/d).

Estas diferencias, además del efecto genético de las razas, resultan también de las diferencias ambientales a las que se sometieron los corderos. La reducción acentuada en el crecimiento de los corderos BEDM entre los 90 y 120 días de edad, puede haber estado asociada la ola de calor que ocurrió en julio de 2018, que coincidió con el último mes de crecimiento de los corderos de esta raza. Aun así, las dos razas presentan una gran diferencia en el peso vivo maduro, el cual es cerca de 60 kg en las ovejas CGB y de 45 kg en las ovejas BEDM. Por ello, la comparación del crecimiento de los corderos de las dos razas por el criterio de edad cronológica, no corrige los datos para el efecto de la madurez. Como se mencionó anteriormente, los ensayos de crecimiento que se desarrollan actualmente van ayudar a aclarar estos resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcade, M.J., et al. 2000. Prod. Ovina, XXV, 3.
- Castel, J.M., et al. 2000. Prod. Ovina, XXV, 2.
- Ekiz, B., et al. 2012. Meat Sci., 90: 465-471.
- INE, I. P. 2015. Estatísticas Agrícolas 2015, Edição de 2016, Lisboa-Portugal.
- Joy, M., et al. 2008. S. Rum. Res. 75: 24-35.
- Russell V.L. 2016. J. Stat. Soft., 69(1): 1-33.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto europeo ERANET: SusAn/0002/2016.

STUDY OF GROWTH PERFORMANCE OF CHURRA-GALEGA-BRAGANÇANA AND BORDALEIRA-DE-ENTRE-DOURO-E-MINHO LAMB BREEDS

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the growth characteristics of lambs of the Churra- Galega-Bragança (CGB) and Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM) breeds raised in semi-intensive regime. In the experiment, 15 BEDM lambs and 15 CGB lambs were used. From birth to 3 months of age, the lambs remained with their mothers, and had *ad libitum* access to natural meadow hay. After 3 months, apart from natural hay, they were nurtured with 300 g animal feed per day. The lambs were weighed at birth (PN) and at intervals of 15 days until 4 months of age. Lambs of the CGB breed had values of PN ~25% higher ($P < 0.05$) than those of the BEDM lambs (3.50 versus 2.62 kg). This trend continued to manifest, and in turn accentuated, over time, at the standard ages of 30, 60, 90 and 120 days. At 120 days, this difference reached a maximum value of 54% in favour of the CGB breed (28.2 versus 12.9 kg).

Keywords: Growth; lamb, Semi-intensive.

EFFECTO DE LA RAZA Y EDAD DE SACRIFICIO SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS, DE CANAL Y CALIDAD DE LA CARNE EN TERNEROS ALIMENTADOS CON DIETAS RICAS EN CONCENTRADO

Verdú¹, M., González², J., Font², M., Cucurull¹, J. y Devant³, M.

¹Alimentació Animal i Producció, CAGSA (Corporación Alimentaria Guissona, S.A.) - bonÀrea Agrupa, 25210 Guissona, España. ²Qualitat de Producte, IRTA, Finca Camps i Armet, 17121 Monells, España. ³Producció de Remugants, IRTA, Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España; marsal.verdu@bonarea.com

INTRODUCCIÓN

Uno de los retos actuales del sector de cebo de terneros es afrontar un cambio de preferencias del consumidor hacia productos de mayor calidad y/o con valor añadido en términos de calidad de la carne, bienestar animal, sostenibilidad ambiental o seguridad alimentaria (Grunert, 2006). Dicha mejoría en la calidad de la carne puede lograrse adecuando factores productivos del sistema de cebo de terneros como la raza, el peso y la edad de sacrificio (Monsón et al., 2004; Sañudo et al., 2004). El presente trabajo se contextualiza en el sistema productivo convencional del cebo intensivo de ternero Frisón, como raza predominante, sacrificado alrededor de los 11 meses de vida y con un peso vivo de 450 kg como requisitos establecidos por la industria cárnica. Asimismo, se quiere valorar el efecto asociado a la introducción de la raza (Angus cruzado) a una edad de sacrificio de 13 meses, como estrategia para la mejora de la calidad de la canal y de la carne. De este modo, el objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos de la raza (Frisón vs. Angus cruzado) y la edad de sacrificio (11 vs. 13 meses) sobre los parámetros productivos, de calidad de la canal y de la carne en terneros cebados intensivamente y alimentados con pienso y paja a libre disposición.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se evaluaron 62 terneros machos (32 Frisón-F y 30 Angus cruzados-A), de $181 \pm 7,8$ kg de peso vivo (PV) y $137 \pm 6,5$ días de edad al inicio del estudio, sacrificados a distintas edades (11 vs. 13 meses de vida) siguiendo un diseño experimental 2×2 factorial: F11, A11, F13 y A13. A su llegada, los terneros fueron alojados y distribuidos en 16 corrales de 4 terneros según raza, PV y edad, y en cada corral se le asignó uno de los 4 tratamientos. Los corrales de *slat* (4,8 m largo x 2,6 m ancho), cubiertos, disponían de dos comederos separados de pienso y paja, y un bebedero. Los terneros Frisón procedían de Alemania y los Angus cruzados de Lituania. La duración del cebo fue de 195 y 268 días según la edad de sacrificio prefijada a 11 o 13 meses de vida, con un periodo común de 112 días de crecimiento y de 83 y 156 días de acabado, respectivamente. A lo largo del cebo, todos los terneros fueron alimentados con pienso, paja y agua *ad libitum*. Se utilizaron dos formulaciones comerciales de pienso, una de crecimiento [1,00 unidades forrajeras de carne (UFC), 13,8% proteína bruta (PB) sobre materia fresca (MF)], y otra de acabado (1,05 UFC, 12,4% PB sobre MF). En cada corral se registró diariamente el estado de salud de los animales, y cada 14 días el consumo de pienso, paja y el PV de los animales hasta su sacrificio. En matadero se registró el peso y la clasificación de canal, y el pH a las 24 horas *post mortem* en el músculo *Longissimus thoracis*. Se obtuvieron muestras de la parte central del lomo para el análisis de calidad de la carne. Se determinó la evolución del color instrumental y la percepción visual de las muestras envasadas en atmósfera modificada (MAP) en tres tiempos de vida útil, la textura instrumental y la composición en grasa intramuscular. Las muestras MAP fueron enviadas hasta el IRTA (Monells, Girona) en condiciones de refrigeración, y se dispusieron en una cámara frigorífica (5 °C) con un sistema de luz fluorescente homogénea, activada durante 12 horas al día. El resto de muestras se envasaron al vacío y se congelaron para su envío hasta el IRTA. El color instrumental, definido por la luminosidad (L^*) y enrojecimiento (a^*), se evaluó mediante un espectrofotómetro Minolta CM600d, los días 2 (valor inicial), 6 y 9 después del despiece. La percepción del color se determinó diariamente por parte de observadores IRTA, valorando la percepción subjetiva del color en las muestras (desde 1: muy indeseable, hasta 5: muy deseable) hasta el día 9. La textura instrumental se determinó mediante un texturómetro (Stable Micro Systems, Reino Unido) utilizando una sonda Warner-Bratzler, como la media de 6 análisis realizados en una muestra de lomo de 2,5 cm de grosor, cocida al horno a 200°C hasta una temperatura interna de 71 °C. La composición

en grasa intramuscular se obtuvo mediante el equipo Foodscan (FOSS, Dinamarca), en lomo libre de tejido graso y conectivo, previamente homogeneizado mediante una picadora de carne convencional. La unidad experimental fue el corral y el animal la unidad de muestreo. Los datos productivos, de matadero y de calidad de la carne se analizaron usando un modelo mixto con medidas repetidas (Versión 9.4, SAS Inst., Inc., Cary, NC). El modelo estadístico incluyó el PV y edad inicial como covariables, la raza, edad de sacrificio y su interacción como efectos fijos, y el corral como efecto aleatorio. Las variables discretas de clasificación de canal se analizaron mediante un test Chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por separado, la raza y edad de sacrificio influyeron en los resultados productivos ($P < 0,01$; Tabla 1). Se observó una interacción ($P < 0,01$; Figura 1) entre raza y edad de sacrificio en la conformación y engrasamiento de canal. Los terneros A13 registraron mayor proporción de canales mejor conformadas que A11; sin embargo, esta mejoría no se observó en terneros Frisón, que registraron canales peor conformadas independientemente de la edad de sacrificio. En términos de engrasamiento de la canal, los F11 registraron peor valoración que F13; no obstante, los terneros Angus registraron una puntuación mayor independientemente de la edad de sacrificio. En el caso de los terneros sacrificados a 13 meses, estos mostraron ($P < 0,05$) valores superiores de pH (5,87 vs. 5,47 \pm 0,054) y grasa intramuscular (2,61 vs. 1,76 \pm 0,239%), mientras que la carne fue significativamente ($P < 0,01$) más oscura, ($L^* = 32,37$ vs. 35,29 \pm 0,639), en comparación a los animales de 11 meses. Respecto al efecto raza, únicamente en la luminosidad se observaron diferencias ($P < 0,01$), siendo los terneros Frisón los que presentaban una carne más oscura ($L^* = 32,47$ vs 35,19 \pm 0,639). Los efectos de la raza, edad y tiempo fueron significativos ($P < 0,05$; Figura 2) en las variables L^* y a^* para la evolución del color, y solo se observó una interacción significativa ($P < 0,01$) entre la edad y el tiempo en la variable a^* . A lo largo del estudio, el tratamiento F13 mantuvo los valores de L^* menores (30,7 a día 2, 31,3 día 6, y 31,5 día 9), seguido por F11 (34,2 a tiempo 2, 34,4 tiempo 6, y 34,6 tiempo 9) y A13 (33,9 a tiempo 2, 34,7 a tiempo 6, y 35,0 a tiempo 9), sin diferencias entre ellos, y A11 presentó la carne más pálida (36,4 a tiempo 2, 37,3 a tiempo 6, y 37,8 a tiempo 9). La variable a^* fue inferior en los terneros F13 (15,0) a tiempo 2 respecto a A13 (16,2) y A11 (16,2), mientras que los F11 no presentaron diferencias significativas (15,4). A tiempo 6, los A13 (15,2) presentaron valores de a^* superiores a los grupos A11 (14,0), F13 (14,0) y F11 (13,5), los cuales no mostraron diferencias entre ellos. A tiempo 9, los tratamientos A13 (14,9) y F13 (14,2) mantuvieron niveles de a^* superiores a los terneros A11 (12,8) y F11 (12,5). La evolución de la preferencia de color presentó una interacción significativa ($P < 0,01$; Figura 2) entre raza, edad y tiempo. Los tratamientos A11, F11 y A13 mostraron resultados similares hasta el día 7, en el cual los F11 mantuvieron valoraciones superiores al resto. Los A11 mostraron una pérdida de color intensa a partir del día 6. Los F13, a partir del día 5, mostraron valores inferiores al resto. Finalmente, en los días 8 y 9, los A11 mostraron valores similares a F13. En conclusión, se evidenció una mejoría de la conformación de canal en los terneros Angus cruzados cuando fueron sacrificados a mayor edad (13 meses), a diferencia de los terneros Frisón. En términos de calidad de la carne, a destacar el aumento de grasa intramuscular en los terneros sacrificados a 13 meses en lugar de 11 meses.

Tabla 1. Datos productivos de terneros según edad de sacrificio y raza.

	Edad de sacrificio				EEM ¹	P-valor	
	11 meses		13 meses			Raza	Edad
	Raza						
	Frisón	Angus	Frisón	Angus			
PV inicial, kg	173	188	174	188	0,6	<0,01	0,82
Edad inicial, días	130	141	133	143	1,8	<0,01	0,14
GMD ² , kg/día	1,5	1,6	1,5	1,4	0,05	0,61	0,02
PV final, kg	484	490	573	563	14,0	0,88	<0,01
Consumo total de pienso, kg	1.523	1.383	2.180	1.978	32,0	<0,01	<0,01
IC ³ , kg/kg	5,5	5,1	6,3	5,9	0,12	<0,01	<0,01

¹EEM: Error estándar de la media. ²GMD: Ganancia media diaria. ³IC: Índice de conversión.

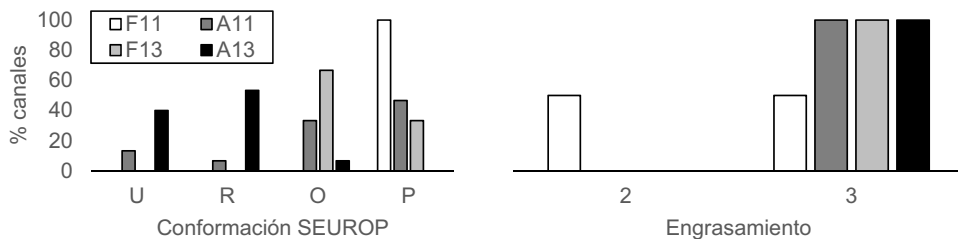


Figura 1. Interacción entre raza y edad de sacrificio en los parámetros de calidad de la canal.

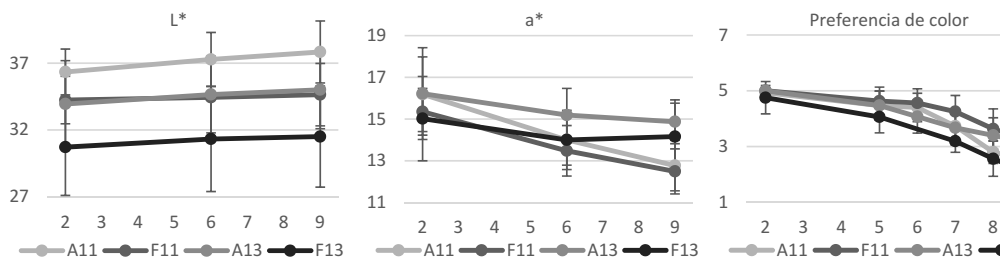


Figura 2. Evolución de los parámetros de color instrumental, luminosidad (L*) y enrojecimiento (a*), y preferencia de color en las muestras de lomo envasadas en atmosfera modificada (MAP) entre el día 2 y 9 de exposición según la raza y edad de sacrificio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Grunert, K. G. 2006. Meat Sci. 74:149-160.
- Monsón, F. 2004. Meat Sci. 68:595-602.
- Sañudo, C. 2004. Meat Sci. 66:925-932.

Agradecimientos: Este estudio fue parcialmente financiado por el programa CERCA de la Generalitat de Catalunya, y posible gracias a la colaboración del personal de Granja Nial, Corporación Alimentaria Guissona, S.A. (CAGSA) - bonÀrea Agrupa.

EFFECT OF BREED AND SLAUGHTER AGE ON PERFORMANCE, CARCASS TRAITS, AND MEAT QUALITY IN BULLS FED HIGH-CONCENTRATE DIETS

ABSTRACT: A total of 62 bulls (32 Holstein-F and 30 crossbred Angus-A), of $181 \pm 7,8$ kg of body weight (BW) and $137 \pm 6,5$ days of age at the onset of study, slaughtered at different ages (11 vs.13 months), were enrolled in a 2×2 factorial design: F11, A11, F13 y A13. Bulls were allocated in one of 16 pens of 4 animals according to breed, initial BW and age, and each pen was assigned to one of 4 treatments. Pens had two separate troughs for concentrate and straw, and a drinker. All bulls were fed same high-concentrate diets and straw for *ad libitum* intake. Pen concentrate and straw consumptions, and BW were registered fortnightly. Carcass weight, fat cover and conformation were registered. Meat quality was analyzed including determinations of meat pH at 24h, instrumental colour and texture, and intramuscular fat content (IMF) of *Longissimus thoracis*. An interaction ($P < 0.01$) between breed and slaughter age in carcass conformation was observed. Bulls A13 recorded better conformation than A11; however, no differences were detected in case of Holstein bulls. A slaughter age effect was observed ($P < 0.05$) in IMF being greater in bulls slaughtered at 13 months than 11.

Keywords: carcass traits, cattle breed, meat quality, slaughter age

CARACTERIZACIÓN DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA Y COMPORTAMIENTO ANIMAL SEGÚN EL SISTEMA PRODUCTIVO DE CEBO INTENSIVO DE TERNEROS ALIMENTADOS CON DIETAS RICAS EN CONCENTRADO

Verdú¹, M., Cucurull¹, J., Martí², S. y Devant², M.

¹Alimentació Animal i Producció, CAGSA (Corporación Alimentaria Guissona, S.A.) - bonÀrea Agrupa, 25210 Guissona, España. ²Producció de Remugants, IRTA, Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España; marsal.verdu@bonarea.com

INTRODUCCIÓN

El estudio de la conducta alimentaria y el comportamiento animal puede contribuir a la comprensión de los mecanismos que regulan el control de la ingesta (Dürst et al., 1993). La conducta alimentaria puede ser explicada por el tamaño de comida, la frecuencia de comidas, la velocidad de ingesta y distribución de la ingesta a lo largo del día (Nielsen, 1999; Tolkamp et al., 2000). Entender la regulación de la ingesta ofrece la posibilidad de optimizar el consumo de alimento del ganado (Wert-Lutz et al., 2006), ya que la conducta alimentaria tiene su impacto en la producción, salud y bienestar animal. Aunque, los efectos de la conducta alimentaria y comportamiento animal sobre la función gastrointestinal son bastante desconocidos y poca investigación se ha realizado (Galyean & Rivera, 2003), hay estudios que destacan la importancia del estudio de la conducta alimentaria para manejar los efectos negativos consecuencia de trastornos digestivos como la acidosis ruminal (González et al., 2012). En este contexto, el objetivo del presente trabajo es describir y caracterizar la conducta alimentaria y el comportamiento animal de distintos sistemas de producción de cebo intensivo de terneros dependiendo de los factores productivos que los definen, como el sexo y la raza, en terneros alimentados con pienso y paja a libre disposición, y criados en condiciones comerciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 120 animales (42 machos Frisón franceses, 41 hembras cruzadas francesas, de padre Limusín y madre Frisón, y 37 machos cruzados Angus lituanos, de padre Angus y madre Frisón) fueron utilizados en un estudio completamente aleatorizado. Los tratamientos experimentales fueron cada uno de los 3 sistemas productivos de cebo caracterizados por sus propios factores definidores como el sexo, raza, edad y peso vivo (PV) de sacrificio de los animales, así como los días en granja de durada del engorde: 1) machos Frisón sacrificados a 11,5 meses de vida y 209 días en granja (MF11), 2) hembras cruzadas sacrificadas a 10 meses de vida y 171 días en granja (HC10), y 3) machos cruzados Angus sacrificados a 12,5 meses de vida y 209 días en granja (MA12). La duración del estudio fue hasta los 171 días en granja, finalizándose cuando HC10 se sacrificaron. A su llegada, los animales fueron alojados y distribuidos en 6 corrales, 2 por tratamiento, con PV y edad inicial, y a cada corral se le asignó uno de los 3 tratamientos. Los corrales exteriores, cubiertos y con cama de paja (12 m largo x 6 m ancho), disponían de dos comederos separados, para pienso y paja, y un bebedero. A lo largo del cebo todos los terneros fueron alimentados con pienso, paja y agua *ad libitum*. En el caso de MF11 y MA12 se utilizaron dos formulaciones comerciales de pienso, una de crecimiento [(1,00 unidades forrajeras de carne (UFC), 13,8% proteína bruta (PB) sobre materia fresca (MF)] durante los primeros 148 días, y otra de acabado (1,05 UFC, 12,4% PB sobre MF) para los últimos 72 días de estudio. Para las HC10 se utilizó un pienso único durante todo el cebo (1,01 UFC, 12,9% PB sobre MF). La nave de cebo estaba equipada con un sistema de alimentación computerizado que registraba individualmente y a diario el consumo de pienso y la conducta alimentaria de los terneros (Verdú et al., 2016). La conducta alimentaria estuvo definida por el número diario de visitas al comedero o comidas, la duración de la comida, el tamaño de la comida, la duración total diaria de las comidas y la velocidad de ingestión (Nielsen, 1999). El comportamiento animal se evaluó cada 14 días utilizando el procedimiento de escaneo (Martí et al., 2010) y estuvo definido por la actividad general (de pie, tumbado, comiendo pienso o paja, bebiendo y rumiando), las interacciones sociales no agonistas (*self-grooming*, conducta social y oral), agonistas (lucha, desplazamiento y embestida) y sexuales (flehmen, intento de monta y monta), y la estereotipia *tongue rolling*. La unidad experimental fue el corral y el animal la unidad de muestreo. Los datos de conducta alimentaria y comportamiento animal se analizaron usando un ANOVA de efectos mixtos con medidas

repetidas (Versión 9.4, SAS Inst., Inc., Cary, NC). El modelo estadístico incluyó el sistema productivo y el período (cada 14 días de estudio), y su interacción, como efectos fijos, y el corral y animal anidado como efectos aleatorios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó una interacción ($P < 0,01$; Tabla 1) entre el sistema productivo y el período en todos los parámetros definidores de la conducta alimentaria. A partir del día 70 en adelante, la velocidad de ingestión se diferenció entre sistemas productivos (Figura 1), los machos (MF11 y MA12) registraron velocidades superiores en comparación con las hembras (HC10). Asimismo, el grupo HC10 registró menor número de visitas y mayor tiempo de ocupación del comedero de pienso que los machos a lo largo del estudio (Figura 1). En relación con comportamiento animal, se observó una interacción ($P < 0,01$) entre el sistema productivo y los días de estudio. A lo largo del estudio, se registró mayor ($P < 0,01$) proporción de animales tumbados y rumiando en HC10 que en MF11 y MA12 ($32,2$ vs. $22,7 \pm 0,85\%$ y $13,0$ vs. $10,0 \pm 0,59\%$, respectivamente). En cambio, en los registros de comportamiento social solo se observó el efecto del sistema productivo. El grupo HC10 tendió ($P = 0,10$) a exhibir mayor frecuencia de conductas *self-grooming* y social en comparación con MF11 y MA12 ($16,6$ vs. $10,2 \pm 1,14$ y $3,8$ vs. $2,8 \pm 0,39$ veces/15 min, respectivamente). Además, HC10 tendió ($P = 0,05$) a mostrar menor periodicidad de lucha, desplazamiento y embestida que MF11 y MA12 ($0,7$ vs. $2,5 \pm 0,65$, $0,16$ vs. $0,22 \pm 0,056$ y $0,5$ vs. $1,3 \pm 0,27$ veces/15 min, respectivamente). Por otro lado, HC10 tendió ($P = 0,06$) a registrar menor reiteración de conductas flehmen, intento de monta y monta que MF11 y MA12 ($0,1$ vs. $3,0 \pm 0,32$, $0,8$ vs. $2,9 \pm 0,61$ y $0,5$ vs. $2,5 \pm 0,72$ veces/15 min, respectivamente). Finalmente, el grupo HC10 registró más ($P < 0,01$) estereotipias que MF11 y MA12 ($1,5$ vs. $0,2 \pm 0,08$ veces/15 min) a lo largo de todo el estudio. Como era de esperar, las hembras exhibieron mayor frecuencia de interacciones no agonistas, menor de agonista y sexuales, y curiosamente más estereotipias que los machos. En conclusión, se evidenciaron diferencias significativas entre sistemas productivos en la conducta alimentaria y comportamiento animal según el sexo del ganado (terneras vs. terneros). En el caso de la conducta alimentaria, estos cambios se observaron alrededor de los 70 días de cebo en adelante (215 días de edad), y podrían estar relacionados con alteraciones hormonales del desarrollo de la pubertad. Por el contrario, las diferencias en comportamiento animal se exhibieron desde el inicio del estudio, independientemente de la edad de los animales. Estas divergencias en la conducta alimentaria y comportamiento animal en función del sexo del sistema productivo podrían tener implicaciones en el diseño de instalaciones e incidencia en patología digestiva. Un aspecto destacable es que no se hallaron diferencias conductuales entre razas (Frisón vs. Angus) de sistemas productivos con terneros macho.

Tabla 1. Datos de la conducta alimentaria de terneros según sistema productivo de cebo.

	Sistema			EEM ¹	P-valor
	MF11	HC10	MA12		Sistema
PV inicial, kg	176	165	192	5,5	<0,01
Edad inicial, días	142	141	154	3,3	<0,01
Consumo de pienso					
Media, kg MS/día	6,5	6,1	6,6	0,13	<0,01
CV, %	19,1	17,1	20,2	0,72	<0,01
Número visitas, n/día	8,0	7,5	8,1	0,23	0,15
Tamaño de comida, g MS	878,4	859,2	884,8	26,82	0,78
Duración de la comida, min	6,7	7,5	6,4	0,22	<0,01
Duración total de comida, min/día	48,8	52,7	48,1	1,26	0,02
Velocidad de ingestión, g MS/min	170,9	153,8	183,8	4,97	<0,01

¹EEM: Error estándar de la media.

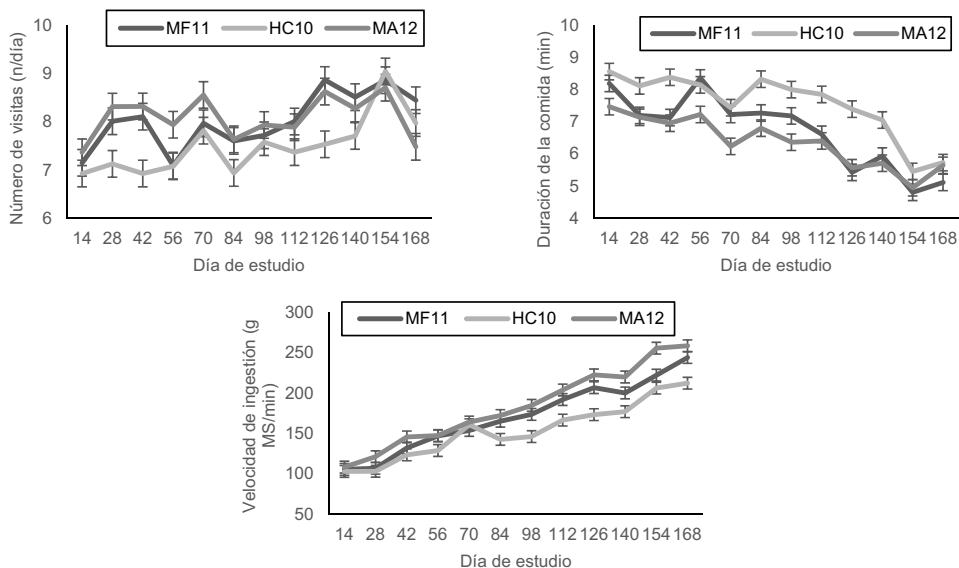


Figura 1. Evolución del número de visitas, duración de la comida y velocidad de ingestión según el sistema de producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dürst, B. et al. 1993. *Physiol. Behav.* 54: 625-631.
- Galyean, M. L., Rivera, J. D. 2003. *Can. J. Anim. Sci.* 83:13-20.
- González, L. A. et al. 2012. *Anim. Feed Sci. Technol.* 172: 66-79.
- Martí, S. et al. 2010. *J. Anim. Sci. Sci.* 88: 2789–2796.
- Nielsen, B. L. 1999. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 63: 79-91.
- Tolkamp, B. J. et al. 2000. *J. Dairy Sci.* 83: 2057-2068.
- Verdú, M. et al 2016. *Anim. Feed Sci. Technol.* 219:257-267.
- Wertz-Lutz et al. 2006. *J. Anim. Sci.* 84: 3285-3300.

Agradecimientos: Este estudio fue parcialmente financiado por el programa CERCA de la Generalitat de Catalunya, y posible gracias a la colaboración del personal de Agropecuaria Montgai, S.L.

CHARACTERIZATION OF EATING PATTERN AND ANIMAL BEHAVIOR ACCORDING TO PRODUCTIVE SYSTEM OF INTENSIVE BEEF FATTENING FED HIGH-CONCENTRATE DIETS

ABSTRACT: Eating pattern and animal behavior of three different intensive beef fattening systems were studied under the same commercial farming conditions. A total of 120 animals were randomly allocated in 6 pens (two per treatment), and for each pen was assigned to 1 of 3 treatments according to productive system: 1) Holstein bulls, slaughtered at 11.5 months of age (n=42), 2) crossbred heifers at 10 months (n=41), and, 3) crossbred Angus bulls at 12.5 months (n=37). Each pen had two separate feeders for concentrate and straw, and a drinker to guarantee *ad libitum* intake. High-concentrate diets were different for bulls and heifers. Concentrate consumption and eating pattern were recorded daily and for each animal, and animal behavior was analyzed fortnightly by scan sampling. There were differences ($P < 0.01$) in eating pattern parameters among productive systems, concretely, between heifers and bulls around 215 days of age coinciding with the onset of puberty hypothetically. Heifers recorded lesser meal visits and eating rate, and greater meal duration than bulls. In addition, differences in animal behavior were observed between genders from the beginning of the study; heifers exhibited more frequently non-agonistic behaviors, less agonistic and sexual, and more stereotypies compared with bulls.

Keywords: animal behaviour, eating pattern, intensive beef, productive system

Nutrición y alimentación

EFFECTO DEL SISTEMA DE ALIMENTACIÓN SOBRE LA CONDUCTA ALIMENTARIA, SELECCIÓN DE INGREDIENTES, COMPORTAMIENTO ANIMAL, PH Y SALUD RUMINAL EN TERNEROS ANGUS ALIMENTADOS CON DIETAS RICAS EN CONCENTRADO

Genís, S^{1,2}, Verdú, M¹, Cucurull, J¹, y Devant, M².

¹Alimentació Animal i Producció, CAGSA (Corporación Alimentaria Guissona, S.A.) - bonÀrea Agrupa, 25210 Guissona, España. ²Producció de Remugants, IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries), Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España; maria.devant@irta.cat

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de alimentación de vacuno de cebo intensivo mediterráneos se caracterizan por un elevado consumo de concentrado. El sistema de alimentación mayoritario se basa en ofrecer concentrado y paja *ad libitum* en comederos separados (Devant et al., 2000; Mach et al., 2009). Frecuentemente, se ha cuestionado si este sistema de alimentación frente al racionamiento unifeed puede aumentar el riesgo de padecer acidosis ruminal, en especial cuando el concentrado es granulado y supone un aumento de la disponibilidad de almidones en el rumen. Sin embargo, existen muy pocos estudios publicados que debatan dicha hipótesis. Iraira et al. (2012) contrastaron una mezcla unifeed vs. pienso/paja por separado, pero la paja suministrada no era paja entera a diferencia de cuando se suministra en condiciones comerciales. El tamaño del forraje es un factor crítico en la regulación de la rumia y pH ruminal (Allen, 1997). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del método de alimentación: pienso y paja (larga o corta) por separado vs. unifeed (mezcla de pienso y paja corta); sobre la conducta alimentaria, selección de ingredientes, comportamiento animal, pH y salud ruminal de terneros Angus alimentados con dietas ricas en concentrado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 21 terneros Angus ($497 \pm 7,7$ kg de peso vivo y $324 \pm 3,0$ días de edad) fueron alojados en corrales individuales y asignados aleatoriamente a uno de los 3 métodos de alimentación: mezcla unifeed (TMR, granulado + paja picada), granulado y paja picada por separado (SS), o granulado y paja entera por separado (LS). La mezcla unifeed se formuló para tener una ratio de paja:concentrado de 15:85. La paja picada tenía un tamaño medio de 5 cm, mientras que la paja entera media 15-20 cm de longitud. El granulado tenía un porcentaje de finos ($< 2,5$ mm) inferior al 10%, una dureza media de 10,9 kg y una densidad media de $62,0$ kg/m³. La oferta y rechazo fueron registrados diariamente durante los 57 días de estudio. Los animales fueron pesados cada 14 días, y se registró la consistencia de las heces (Heinrichs et al., 2003) y si los animales sufrían timpanismo (Johnson et al., 1958). Se realizaron rumenocentesis los días 28 y 42 de estudio, recolectando fluido ruminal para determinar el pH. Se observó el comportamiento animal cada 14 días utilizando el procedimiento de escaneo (Martí et al., 2010): actividades generales (si el animal estaba de pie, sentado, comiendo, bebiendo o rumiando), así como el comportamiento oral y social (*self-grooming*, social, oral no nutritivo y estereotipias). Por otro lado, se evaluó la digestibilidad de las diferentes dietas durante la segunda (del día 14 al 21) y quinta (del día 35 al 42) semana de estudio. Para ello, las dietas se mezclaron con óxido de cromo (1g/kg MS) y se ofrecieron *ad libitum* a todos los animales. Durante esos días, se recogió una muestra diaria de la oferta y rechazo de la ración. Muestras fecales fueron recogidas durante los 3 últimos días de cada periodo y secadas a 103°C durante 48h. Estas muestras fueron analizadas para determinar la composición nutricional: humedad, cenizas, proteína bruta, fibra neutra detergente, extracto etéreo y almidón. La concentración de cromo de las muestras fecales y de piensos se determinó siguiendo el procedimiento Le Du and Penning (1982) con algunas modificaciones. Se determinó la capacidad de selección de ingredientes por parte de los animales del grupo TMR durante 8 días a lo largo del estudio (días 2, 6, 17, 20, 34, 35, 44 y 49). Se analizó la distribución del tamaño de

partícula de la oferta y rechazo de cada animal por granulometría (4,00, 3,35, 2,50, 1,70, 1,00 y 0,50 mm) y se estimó la habilidad de selección según Miller-Cushon et al. (2013). La selección por tamaño de partícula se interpreta según el % ((%oferta en oferta-%rechazo en rechazo) / (%oferta en oferta - %oferta en rechazo)): valores iguales al 100% indican la no selección de tamaño, <100% seleccionar en contra, >100% seleccionar a favor de ciertos tamaños de partícula. A los 57 días de estudio los animales fueron sacrificados. Se analizó la presencia de lesiones macroscópicas en rumen, pulmón e hígado.

La unidad experimental fue el animal. Los datos de consumo, comportamiento, selección, digestibilidad y pH fueron analizados usando un ANOVA de efectos mixtos con medidas repetidas (Versión 9.3, SAS Inst., Inc., Cary, NC). El modelo estadístico incluye el PV inicial como covariable, el tratamiento y el tiempo y su interacción como efectos fijos, y el animal como efecto aleatorio. El tiempo se consideró como factor de repetición y para cada variable el animal anidado en el tratamiento (término de error) se sometió a una estructura simétrica o autoregresiva de varianza-covarianza. Los datos relativos al análisis macroscópico del hígado, el pulmón y el rumen de los animales se analizaron con un test Chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se retiró del estudio un animal del tratamiento SS por neumonía. No se hallaron diferencias significativas en el consumo de pienso y el estado sanitario de los animales. Sin embargo, los animales del grupo LS tendieron a tener un coeficiente de variación (CV) de consumo diario mayor a los alimentados con TMR (16,4 vs. 11,4 \pm 1,61%, $P = 0,06$; respectivamente). Esta variación ha sido observada anteriormente en animales alimentados con pienso y forraje separados, mientras que animales que consumían raciones TMR mostraban CV diarios del consumo más constantes (Atwood et al., 2001). Los animales alimentados con TMR presentaron un pH más elevado que los animales alimentados con SS o LS (6,5, 5,8, 6,0, \pm 0,15, $P = 0,01$, respectivamente). Cuando se estimó la ratio paja:concentrado resultante (en el caso del TMR se corrigió por el contenido de paja del rechazo), se observó que los animales TMR conservaron la ratio inicial de 15:85, pero que la ratio de los SS era 8:92 y la de los LS 7:93. Ello podría explicar que los terneros SS y LS tuvieran un pH ruminal menor que los TMR. Sin embargo, a pesar de tener un menor pH ruminal, SS y LS no tuvieron un pH menor a 5,6 que es el considerado el umbral para el diagnóstico de acidosis ruminal. Dicho resultado debe ser interpretado con cautela debido a las pocas muestras analizadas. No obstante, otros síntomas asociados a la acidosis ruminal (subclínica) como el descenso del consumo, lesiones en el ruminal y abscesos en el hígado, no fueron detectados en el presente estudio, por lo tanto, se puede concluir que los terneros independientemente del tratamiento no sufrieron acidosis ruminal. Respecto a la selección, se observó que los animales alimentados con TMR prefirieron partículas de tamaño entre 1,7 y 4,0 mm, mientras que dejaban partículas mayores a 4,0 mm o menores a 1,7 mm. Por lo que respecta al comportamiento animal, los diferentes tratamientos no mostraron diferencias. Por otro lado, los animales TMR mostraron más comportamientos orales no nutritivos que los del grupo SS (0,41 vs. 0,31 \pm 0,07%, $P = 0,03$), y los del grupo LS tendieron a tener más conductas sociales que los SS (0,33 vs 0,13 \pm 0,07%, $P = 0,06$). Finalmente, la digestibilidad de la materia seca fue mayor en los terneros alimentados con LS en comparación con los alimentados con TMR o SS (79,0, 74,3, 75,4 \pm 1,21%, $P = 0,03$), y se observó una mayor digestibilidad de la proteína en los terneros del grupo LS (75,8, 67,0, 70,5 \pm 1,6%, $P < 0,01$). Una posible explicación es que la paja larga aumentó el tiempo de retención en el rumen y con ello la degradabilidad y digestibilidad ruminal de la proteína. En consecuencia, se observó una reducción numérica de la proteína en las heces de los animales LS comparado con el grupo TMR y SS (0,3, 0,4, 0,4 \pm 0,02 kg/d, $P = 0,14$), la cual podría suponer que la dieta LS pudiera tener un menor impacto medioambiental por la reducción de excreción de nitrógeno. No se observaron diferencias en la digestibilidad del almidón entre

tratamientos como se esperaba, probablemente debido a la alta digestibilidad del almidón en todos tratamientos. También, se observó un consumo menor de fibra en los grupos SS y LS que TMR (2,1, 2,1, 2,8 ± 0,14 kg/d, $P = 0,01$) como consecuencia de las diferencias en la ratio de paja:concentrado y una tendencia a excretar menos fibra en los animales LS respecto a los TMR (1,2, 1,5 ± 0,12 kg/d, $P = 0,09$). La principal conclusión del presente estudio es que las dietas unifeed, a pesar de la selección de ingredientes que se observa, tienen una ratio paja:concentrado superior y un pH ruminal superior, sin que ello perjudique el consumo total o a otros indicadores de acidosis ruminal subclínica. Además, el suministro de paja en forma larga por separado del concentrado tiene un efecto beneficioso en la digestibilidad de la proteína y la excreción de nitrógeno en heces, circunstancia que podría ser utilizada como estrategia para reducir la excreción de nitrógeno al medio ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Devant, M. 2000. J. Anim. Sci. 78:1667–76. • Mach, N. 2009. J. Anim. Sci. 87:632–638. • Stock, RA. 1995. J. Anim. Sci. 73:39–44. • Owens, FN. 1998. J. Anim. Sci. 76:275–286. • Devant, M. 2015. J. Anim. Sci. 93:4903–4916. • Iruira, SP. 2012. Animal. 6:1483–1490 • Allen, MS. 1997. J. Dairy Sci. • Heinrichs, AJ. 2003. J. Dairy Sci. 86:4064–4069. • Johnson, RH. 1958. J. Anim. Sci. 17:893–902. • Martí, S. 2010. J. Anim. Sci. 88:2789–2796. • Le Du, YLP., Penning, PD. 1982. The British Grassland Society. • Miller-Cushon, EK. 2013. J. Dairy Sci. 96:3257–3264.

Agradecimientos: S.G. agradece la colaboración al personal de Agropecuària de Guissona, S. Coop. Ltda. y es fruto del marco de colaboración entre el grupo BonÀrea y el IRTA. Éste estudio fue parcialmente financiado por el programa CERCA (Generalitat de Catalunya).

EFFECT OF FEEDING METHOD ON EATING PATTERN, SORTING, ANIMAL BEHAVIOR, AND RUMEN PH AND HEALTH OF ANGUS FINISHING BULLS FED HIGH-CONCENTRATE DIETS.

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the effect of feeding method on eating pattern, sorting, animal behavior, and rumen pH and health of Angus bulls fed a high-concentrate finishing diet. Twenty-one Angus beef bulls (497 kg of initial BW, and 324 d of age) were housed individually in slat-surface adjacent pens. Three different experimental treatments were tested according to the feeding method of diet (free-choice vs. mixed-ration). Concentrate and forage (chopped barley straw) were offered according to feeding method: a free-choice with short straw (particle length 5 cm) (SS); a free-choice with long straw (15–20 cm, LS) or a mixed-ration (TMR). Orts, refusals, fecal and bloat scoring were recorded daily. Animals were weighted every 2wks. Ruminal pH was measured twice as well as total tract apparent digestibility. A scan sampling procedure was used to analyze the general activity and the social and oral behaviors every 2 weeks. Animals were sacrificed at d57. No differences intake, performance, and health status were observed. Animals fed TMR had greater pH than other treatments ($P < 0.01$), although it was higher than 5.6. Bulls fed LS had greater CP digestibility ($P < 0.01$). No differences were observed at starch digestibility.

Keywords: feeding method, ruminal acidosis, total tract digestibility.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE PULPA DE REMOLACHA EN LA RACIÓN DURANTE LA TRANSICIÓN AL CEBO EN TERNEROS DE CARNE

Yuste, S., Amanzougarene, Z., Fondevila, M. y de Vega, A.,
Departamento de Producción Animal- Universidad de Zaragoza. Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza; avega@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La transición de los terneros pasteros a dietas de cebo intensivo supone un riesgo de padecer alteraciones en la salud ruminal que pueden comprometer los rendimientos productivos a medio y largo plazo (Brown *et al.*, 2006). La formulación de dietas con ingredientes que posean distinta capacidad acidogénica (Gimeno *et al.*, 2015), y/o que promuevan un patrón de ingestión más homogéneo, una transición gradual, o el reemplazo de los cereales por otros ingredientes, son estrategias nutricionales que pueden resultar en una mejor salud ruminal. La pulpa de remolacha (PR) contiene un alto nivel de fibra soluble y pectinas, y posee una alta capacidad tampón que puede ayudar a aliviar la acidificación del rumen (Van Soest *et al.*, 1991). El objetivo fue determinar el efecto a corto y largo plazo de una transición abrupta o gradual, y de la inclusión de diferentes niveles de pulpa de remolacha, sobre los rendimientos productivos y la fermentación ruminal en terneros pasteros durante el periodo de transición a dietas de engorde.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 39 terneros pasteros cruce con Limousin recién destetados ($258 \pm 22,7$ kg) distribuidos en tres grupos ($n=13$) de acuerdo con las dietas recibidas durante el periodo de transición (14 d): dieta control (ingredientes principales en gr/kg MF: cebada, 590; maíz, 150; soja, 172; gluten feed, 57; C), y dos dietas en las que se reemplazó parcialmente la cebada por maíz, y se incluyó PR al 10% (PR10; cebada, 200; maíz, 466; PR, 100) o al 22% (PR22; cebada, 150, maíz, 333; PR, 220) con el fin de variar la fuente del almidón y la cantidad de FND. Cuatro animales de cada grupo fueron canulados en rumen. El experimento se dividió en tres fases: F1, desde el comienzo al d10 cada ternero recibió su dieta; F2, del d11 al d14 los grupos PR10 y PR22 recibieron una mezcla (50:50) de su dieta y la dieta C; F3, desde el d15 hasta el final del experimento los animales recibieron la dieta C hasta alcanzar de media 500 kg de peso vivo (PV). El pienso y paja de trigo se administraron diariamente (9:00 h) *ad libitum*, y se registró el consumo del primero diariamente, y de la segunda semanalmente. El consumo individual de paja sólo se registró durante la transición (F1 y F2). Los terneros se pesaron semanalmente y se calculó su ganancia media diaria (GMD) por regresión. La pauta de ingestión de los alimentos se registró durante un día de cada fase. Asimismo, al final de las primeras dos fases (d10 y d14) y en los días 21,35 y 42 en la F3, se tomaron muestras de líquido ruminal a las 0, 3, 6 y 9 h tras la oferta del alimento para determinar pH, ácidos grasos volátiles (AGV), ácido láctico, amoníaco y población protozoaria. El d20 del experimento se sacrificaron cuatro animales no canulados por tratamiento, y se tomaron muestras de epitelio ruminal para su análisis histopatológico. Los datos de cada fase se analizaron por separado debido al diferente número de animales tras el sacrificio inicial. El PV, GMD, índice de conversión (IC), rendimiento de canal (RC), e ingestión de pienso y paja se analizaron con PROC GLM (SAS, 9.4). Se utilizaron contrastes polinomiales para determinar la evolución de la ingestión de concentrado en el tiempo. La pauta de ingestión y los parámetros de fermentación ruminal y población protozoaria se analizaron con un modelo de medidas repetidas con PROC MIXED. En todos los casos el efecto animal se consideró aleatorio. Valores $P<0,05$ y $P<0,10$ se consideraron significativos o con tendencia a la significación, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución (cúbica; $P<0,001$) de la ingestión de concentrado a lo largo de los días no se vio afectada por la dieta en F1 ($P=0,51$). Las diferencias de ingestión entre días (desviación estándar) tendieron a ser mayores ($P=0,10$) en el grupo C. En F2, la ingestión evolucionó de forma cuadrática ($P=0,02$) con el tiempo, y el grupo PR22 tendió ($P=0,06$) a una menor ingestión de materia seca de concentrado. En la primera semana de la F3, la ingestión de

concentrado evolucionó de forma cúbica ($P=0,02$) y la variación entre días fue numéricamente menor en el grupo C sugiriendo una adaptación de estos animales. La fluctuación en la ingestión total se considera una respuesta a un aumento de la acidificación del rumen y es normal cuando los terneros cambian de dieta (Owens *et al.*, 1998). La transición brusca o gradual no afectó al rendimiento productivo ni durante la transición (F1 y F2, Tabla 1), ni durante el período de cebo (en promedio 496 kg PV final, RC 59%, IC =4,21). La tendencia a una mayor ingestión de paja en el grupo PR22 en F2 es posiblemente una respuesta de autorregulación ante la capacidad acidogénica de la nueva dieta. Aunque no se registraron diferencias en el patrón de ingestión ni entre dietas ($P=0,42$) ni entre días ($P=0,46$), sí que hubo un efecto de la hora de registro. Así, el grupo C presentó una menor ingesta de concentrado durante las primeras 4 h tras la oferta en F1 y F2, que coincidió con una mayor ingesta de paja. En F3 los animales PR10 y PR22 consumieron menos concentrado en el intervalo 4-6h tras la oferta, que no se vio acompañada por un aumento en la ingestión de paja. En ambos casos, esto puede indicar una autorregulación en respuesta a la acidificación del rumen.

Tabla 1. Efecto de la inclusión de la pulpa de remolacha (PR%) sobre la ingestión media de pienso y paja durante las distintas fases el período de adaptación de terneros de cebo.

	Dieta				P
	Control	PR10	PR22	EEM	Dieta
Fase 1 (0-10 d)					
Ingestión de pienso (kg MS/d)	4,71	4,90	4,76	0,278	0,74
Ingestión de paja (proporción del total/d)	0,24	0,24	0,22	0,016	0,62
Ganancia media diaria (kg/d)	0,63	0,56	0,67	0,113	0,45
Fase 2 (11-14 d)					
Ingestión de pienso (kg MS/d)	4,90	5,36	3,95	0,389	0,21
Ingestión de paja proporción del total/d)	0,15	0,14	0,24	0,019	0,09
Ganancia media diaria (kg/d)	0,75	0,74	0,69	0,103	0,60
Fase 3 (15 d-final a 500 kg PV)					
Ingestión de pienso (kg MS/d)	6,71	6,55	6,88	0,227	0,78
Ganancia media diaria (kg/d)	1,58	1,53	1,63	0,068	0,36

La fermentación ruminal no se vio afectada por la dieta (Tabla 2). El pH ruminal (medio, máximo y mínimo) no difirió entre dietas, y en ningún caso alcanzó valores por debajo de 5,5. El grupo PR22 presentó una menor variación entre días del pH en los dos muestreos en la transición, que puede ser atribuible a las propiedades de la PR y al mayor contenido en FND. La concentración de amoníaco se vio afectada por la interacción dieta x día ($P<0,001$), y el grupo PR10 presentó la menor y mayor en los días 10 y 21, respectivamente. Las concentraciones de ácido láctico y AGV fueron diferentes a lo largo de los días. En este sentido, hubo mayor producción de lactato al final de la transición, mientras que la concentración de AGV disminuyó a lo largo de los días de muestreo indicando un posible desarrollo en la capacidad de absorción del epitelio ruminal. Las proporciones molares de los principales AGV tampoco se vieron afectadas por la dieta, excepto por una tendencia a mayor butirato en PR10 (16, 20 y 17 mmol/mol en C, PR10 y PR 22, $P=0,09$). Los AGV ramificados se vieron afectados por la interacción dieta x día ($P<0,001$), con menor concentración en los grupos con PR en F1 y mayor en el grupo PR10 en F2. Esto puede deberse a una menor degradación de la proteína en el primer caso (Dennis *et al.*, 2018), y a una mayor ingestión en el segundo. La población protozoaria no difirió entre grupos ($P=0,92$) y se mantuvo estable a lo largo del tiempo (5,96 log cells/mL), aunque descendió en la diversidad. El examen histopatológico no reveló hallazgos relevantes ni diferencias entre dietas. A diferencia de los resultados encontrados en este experimento, otros estudios en los que se sustituyó parcialmente la cebada por PR en terneros (Mojtahedi y Danesh Mesgaran, 2011) y corderos (Bodas *et al.*, 2007) sí observaron un

aumento del pH ruminal y de la relación acético:propiónico, que redonda en una mejor salud ruminal. En conclusión, la inclusión de pulpa no reveló ningún efecto sobre el rendimiento productivo y la fermentación ruminal, lo que pudo verse influido por un alto consumo de paja.

Tabla 2. Efecto de la inclusión de pulpa de remolacha (PR%) sobre el pH ruminal, y las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV), ácido láctico y amoniac.

	Día*	Dieta (D)				Media	P				
		Control	PR10	PR22			EED ¹	EED ²	D	Día (d)	Dxd
pH ruminal	d 10	6,30	6,17	6,43	6,30	0,139	0,080	0,56	0,08	0,55	
	d 14	6,19	6,14	6,27	6,20						
	d 21	6,37	6,41	6,38	6,39						
	d 35	6,30	6,10	6,18	6,19						
	d 42	6,19	6,28	6,48	6,32						
Amoniac (mg/L)	d 10	136,5 ^{a,A}	67,3 ^{b,B}	108,2 ^{ab,AB}	104,0	21,19	10,72	0,63	0,80	0,001	
	d 14	85,7 ^B	127,5 ^A	99,2 ^{AB}	104,1						
	d 21	75,9 ^{b,B}	134,6 ^{a,A}	80,5 ^{b,B}	97,0						
	d 35	83,4 ^B	108,3 ^A	122,2 ^A	104,6						
	d 42	82,8 ^B	98,9 ^{AB}	101,9 ^{AB}	94,6						
Á. Láctico (mmol/L)	d 10	1,15	1,01	1,05	1,07 ^{BC}	0,716	0,411	0,20	0,001	0,60	
	d 14	3,58	2,27	2,93	2,93 ^A						
	d 21	2,76	1,58	0,90	1,75 ^B						
	d 35	0,54	0,42	0,50	0,49 ^C						
	d 42	1,21	1,26	1,00	1,16 ^{CB}						
AGV (mmol/L)	d 10	93,7	105,2	89,5	96,1 ^A	11,05	6,38	0,75	0,028	0,48	
	d 14	99,9	83,3	102,6	95,3 ^{AB}						
	d 21	80,4	82,2	87,9	83,5 ^{BC}						
	d 35	94,0	80,9	84,4	86,5 ^{ABC}						
	d 42	81,4	78,9	75,8	78,7 ^C						

*Día de muestreo. ^{1,2} errores estándar para la diferencias entre dietas y entre días. ^{a,b} indican diferencias significativas entre dietas (P<0,05). ^{A,B,C} indican diferencias significativas entre días (P<0,05).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Bodas, R. *et al.*, 2007. Small Rumin. Res. 71:250–254. •Brown, M.S. *et al.*, 2006. J Anim. Sci. 84 Suppl:E25-33. •Dennis, T.S. *et al.*, 2018. J. Dairy Sci. 101:408–412. •Gimeno, A. *et al.*, 2015. Anim. Feed Sci. Technol. 199 :113–126 •Mojthaedi, M. & Danesh Mesgaran, M. 2011. Livest. Sci. 141: 95–103. •Owens, F.N. *et al.*, 1998. J. Anim. Sci. 76:275-286. •Van Soest, P.J. *et al.*, 1991. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.

EFFECT OF BEET PULP INCLUSION IN THE DIET DURING THE TRANSITION OF BEEF CALVES TO A HIGH- CONCENTRATE RATION

ABSTRACT: The short- and long- term effects of an abrupt or gradual transition, and of the inclusion of beet pulp (BP) in the diet on animal performance and rumen fermentation were evaluated in thirty-nine weaned calves transitioned from a milk/grass regime to a fattening ration. The diets used were: a control barley-based fattening diet (C), and two adaptation diets in which barley was partly replaced with maize and 10% BP (BP10) or 22% BP (BP22). The trial was divided into three phases (Ph): in Ph1 (0-10d) each calf received its diet; in Ph2 (11-14d) animals in BP10 and BP22 received their diets in a 50:50 mixture with diet C; and in Ph3 all animals received the diet C until the end of the study. The abrupt transition or inclusion of BP did not affect animal performance during transition or in the fattening period. Scarce effects were found on rumen fermentation which could be attributable to the higher intake of straw.

Keywords: beef cattle, transition, beet pulp, ruminal acidosis.

EVOLUCIÓN DE LA POBLACION MICROBIANA RUMINAL DE TERNEROS PASTEROS DURANTE EL PERÍODO DE TRANSICIÓN AL CEBO INTENSIVO

Yuste, S.¹, Amanzougarene, Z.¹, de la Fuente, G.², Fondevila, M.¹ y de Vega, A.¹

¹Departamento de Producción Animal- Universidad de Zaragoza. Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. ²Dept. Ciència Animal, Universidad de Lleida; avega@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La población microbiana ruminal constituye un complejo ecosistema con unas funciones metabólicas de las que depende la nutrición del rumiante. La comunidad bacteriana puede verse influida por factores como el nivel de ingestión, el tipo de alimentación o el estado fisiológico del animal (Dehority y Orpin, 1988). El cambio de una dieta forrajera a otra alta en concentrado supone un aumento de la llegada de carbohidratos fermentables al rumen, lo que resulta en una importante modificación del ambiente ruminal y, como consecuencia, de la estructura de la comunidad bacteriana (Fernando *et al.*, 2010, Petri *et al.*, 2013). Se ha sugerido que una adaptación gradual proporciona el tiempo suficiente para que la flora bacteriana se adapte al nuevo ambiente, y así se evitan repercusiones fisiológicas como la acidosis ruminal. Sin embargo, este último aspecto no está claro, por lo que el objetivo fue estudiar la estructura de la comunidad bacteriana durante la transición, brusca o gradual, a una dieta alta en concentrado de terneros pasteros recién destetados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 39 terneros pasteros cruce con Limousin recién destetados ($258 \pm 22,7$ kg) distribuidos en tres grupos (n=13) de acuerdo con las dietas recibidas durante el período de transición (14 d): dieta control (ingredientes principales en gr/kg MF: cebada, 590; maíz, 150; soja, 172; gluten feed, 57; C), y dos dietas en las que se reemplazó parcialmente la cebada por maíz, y se incluyó PR al 10% (PR10; cebada, 200; maíz, 466; PR, 100) o al 22% (PR22; cebada, 150, maíz, 333; PR, 220) con el fin de variar la fuente del almidón y la cantidad de fibra neutro detergente (FND). Cuatro animales de cada grupo fueron canulados en rumen. Desde el d0 al d10 cada grupo recibió su dieta; del d11 al d14 los grupos PR10 y PR22 recibieron una mezcla (50:50) de su dieta y la dieta C; y desde el d15 hasta el final del experimento recibieron la dieta C. El pienso se ofreció con paja *ad libitum* representando un 0,88 y 0,12 de la ración, respectivamente. Los días 0, 10, 14, 21 y 30 se tomaron muestras de líquido ruminal antes de la oferta de alimento para caracterizar la población bacteriana. El ADN genómico se extrajo mediante un kit comercial (QIAamp® DNA Mini Kit), y la región V1-V3 del ARN16S se secuenció mediante la tecnología Ion Torrent. Las secuencias generadas fueron procesadas siguiendo la metodología descrita por de la Fuente *et al.* (2014). El análisis de las lecturas obtenidas se realizó con el software Ion Reporter™ (Thermo Fisher Scientific). Las secuencias fueron agrupadas en unidades taxonómicas operativas asignadas al 97% de similitud. La información taxonómica se obtuvo por comparación de las secuencias con la base de datos de GenBank (NCBI). La abundancia relativa a nivel taxonómico de filo y género se calculó tras la normalización de los resultados obtenidos. El análisis de datos multivariante (dendrograma, ADONIS) se basó en la aplicación del algoritmo UPGMA sobre la matriz de distancias previamente obtenidas con el método Bray-Curtis, utilizando el paquete “vegan” del programa estadístico R (v3.4.3). Los índices de biodiversidad calculados (Shannon y riqueza), así como la abundancia relativa a nivel de filos y género se analizaron estadísticamente con un modelo de medias repetidas utilizando el procedimiento PROC MIXED (SAS v.9.4), tomando el día como medida repetida. Valores de $P < 0,05$ y $P < 0,10$ se consideraron significativos o con tendencia a la significación, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La estructura bacteriana no se vio afectada por la dieta (C, PR10 o PR22; $P=0,47$), aunque sí por la transición de forraje a concentrado ($P=0,001$). La población bacteriana de los terneros no se agrupó por dieta, sino por día de muestreo (Figura 1).

Un 89% de las bacterias pertenecieron a los fila *Firmicutes* (43%) y *Bacteroidetes* (46%), seguido de *Actinobacteria* (5,90%), *Proteobacteria* (3,47%), *Fibrobacteres* (0,54%) y *Tenericutes* (0,50%, Tabla 1). *Bacteroidetes* (B) aumentó a lo largo de la transición ($P=0,02$), en línea con lo observado por otros autores (Jami *et al.*, 2013). Al contrario, *Firmicutes* (F) descendió con la inclusión del concentrado ($P=0,006$) hasta el final de la transición. La relación F/B osciló a lo largo de los días con valores de 1,63 en el d0 a 0,89 en el d30. Como resultado del cambio de dieta, en el día 30 se observó una composición bacteriana significativamente diferente respecto al día 0. Esta modificación de la comunidad bacteriana es habitual y ha sido reportada por varios autores tras la inclusión de concentrado en animales previamente alimentados con heno (Fernando *et al.*, 2010; Petri *et al.*, 2013), ya que supone un aumento de las bacterias más ácido tolerantes, un descenso de las bacterias celulolíticas, y un aumento de aquéllas que fermentan almidón.

En todo el estudio se identificaron 96 géneros, de los cuales 33 estuvieron presentes en todos los animales. En general, tras la inclusión del concentrado en el período de transición hubo un aumento de *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Ruminobacter*, *Succinivibrio* y *Selenomonas*, y una disminución de los grupos *Butyrivibrio* y *Fibrobacter* (Tabla 2). Este último, tendió a ser superior en los animales que fueron alimentados con PR ($P=0,07$), probablemente debido al mayor contenido en fibra de la dieta. *Eubacterium* se mantuvo constante y *Lactobacillus* tendió a incrementar ($P=0,09$) a lo largo del tiempo. Aunque no fue significativa la interacción dieta x día, el grupo C presentó numéricamente una mayor abundancia de *Ruminococcus* en el d10, aunque es un género mayoritariamente fibrolítico; también se observó una mayor abundancia de *Ruminobacter* y *Succinivibrio* en el d14. La diversidad bacteriana se vio reducida especialmente durante los primeros 10 días, con una posterior recuperación, sugiriendo una adaptación de la microbiota a la nueva dieta (Tabla 2); no obstante, la diversidad a nivel de género descendió paulatinamente hasta el día 30 ($P<0,001$; Figura 2).

Independientemente de la transición gradual o abrupta y de la dieta utilizada en el período de transición, tanto la estructura como la composición de la comunidad bacteriana se vieron afectadas por el cambio de leche/forraje a una dieta alta en concentrado. Los resultados indican que, a pesar de la disminución de la riqueza microbiana, hubo una adaptación a las condiciones ambientales. Las distintas dietas usadas en el período de transición no modificaron la estructura bacteriana a pesar de su distinto contenido en almidón y FND, lo que pudo ser debido a la gran variabilidad individual en la estructura microbiana y también a la falta de efecto de las diferentes dietas sobre las variables de fermentación ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Dehority, B. A. & Orpin C. G. 1988. En: The Rumen Microbial Ecosystem. (P. N. Hobson, ed.) pp151–183. •de la Fuente, G. *et al.*, 2014. PLoS One. 22:e101435. •Fernando, S. C. *et al.*, 2010. Appl Environ Microbiol.76: 7482-7490. •Jami *et al.*, 2013. ISME J. 7:1069-1079. •Petri, R. *et al.*, 2013. PLoS One. 12: e83424

Tabla 1. Abundancia relativa (% del total de secuencias) de los filos identificados a lo largo del período de transición de terneros pasteros de forraje al cebo intensivo.

Filo	Día 0	Día 10	Día 14	Día 21	Día 30	SEM	P-Día
<i>Firmicutes</i>	54,67 ^a	41,82 ^{bc}	33,10 ^c	46,05 ^{ab}	39,15 ^{bc}	3,114	0,006
<i>Bacteroidetes</i>	35,28 ^b	48,88 ^a	53,52 ^a	43,08 ^{ab}	48,06 ^a	3,876	0,020
<i>Actinobacteria</i>	2,65	6,64	5,00	5,35	9,87	3,101	0,557
<i>Proteobacteria</i>	2,45	1,83	7,21	4,21	1,66	1,688	0,151
<i>Fibrobacteres</i>	1,08 ^a	0,40 ^{bc}	0,79 ^{ab}	0,18 ^c	0,29 ^{bc}	0,204	0,024
<i>Tenericutes</i>	1,27 ^a	0,16 ^c	0,12 ^c	0,55 ^b	0,40 ^{bc}	0,107	0,001
Otros	2,61 ^a	0,27 ^b	0,26 ^b	0,56 ^b	0,57 ^b	0,213	0,001

^{a,b,c} indican diferencias significativas entre días ($P<0,05$).

Tabla 2. Abundancia relativa (% del total de secuencias) de los géneros más abundantes a lo largo del período de transición de terneros pasteros de forraje al cebo intensivo.

Género x10 ⁻³ (%)	Día 0	Día 10	Día 14	Día 21	Día 35	SEM	P-Día
<i>Prevotella</i>	9,3 ^b	163,7 ^a	39,7 ^b	7,6 ^b	17,4 ^b	20,49	0,001
<i>Butyrivibrio</i>	23,4 ^a	4,5 ^b	3,0 ^b	1,5 ^b	2,1 ^b	1,50	0,001
<i>Ruminococcus</i>	13,3 ^b	45,4 ^a	16,4 ^b	24,0 ^b	3,8 ^b	7,39	0,003
<i>Eubacterium</i>	5,2	3,4	5,7	1,7	1,8	2,07	0,514
<i>Ruminobacter</i>	0,1	4,1	38,1	1,7	0,2	15,19	0,337
<i>Fibrobacter</i>	8,4 ^a	3,0 ^b	5,4 ^{ab}	1,4 ^b	2,5 ^b	1,72	0,047
<i>Succinivibrio</i>	0,4	1,3	11,8	6,2	0,2	4,02	0,182
<i>Selenomonas</i>	0,7 ^c	12,0 ^a	7,8 ^{ab}	6,7 ^b	0,3 ^c	1,83	0,001
<i>Lactobacillus</i>	0,04	5,9	1,5	7,2	8,0	2,77	0,088
Índice de Shannon	2,51 ^a	1,85 ^c	2,02 ^{cb}	2,20 ^b	2,17 ^b	0,109	0,001

^{a,b,c} indican diferencias significativas entre días (P<0,05).

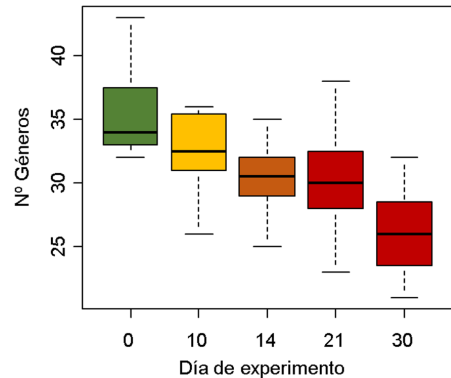
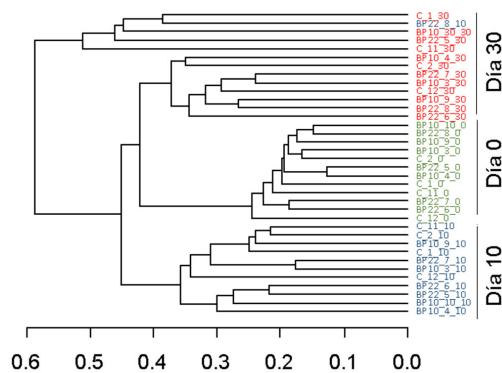


Figura 1. Dendrograma construido con la matriz de distancias de disimilitud de Bray-Curtis con las muestras de los días 0, 10 y 30 del período de transición al cebo.

Figura 2. Riqueza bacteriana a lo largo de del período de transición de terneros de cebo.

TEMPORAL DYNAMICS IN THE BACTERIAL COMMUNITY OF NEWLY WEANED BEEF CALVES DURING THE TRANSITION PERIOD TO A HIGH-CONCENTRATE DIET

ABSTRACT: Bacterial population dynamics during the transition period of beef calves to a high-concentrate diet was studied. Three diets were used: a barley-based diet (C); and two adaptation diets in which barley was partly replaced with maize and 10% BP (BP10) or 22% of beet pulp (BP22). From d0 to d10 all animals consumed their diets; from d11-14d, BP10 and BP22 groups received a 50:50 mixture with diet C, and from d15 to the end, all animals received C diet. Irrespectively of the diet, there was a significant decrease of *Firmicutes* and *Fibrobacteres*, and an increase of *Bacteroidetes* at d14. In addition, by the end of transition the genera *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Ruminobacter*, *Succinivibrio* and *Selenomonas* increased, and *Butyrivibrio* and *Fibrobacter* decreased. Dietary shift from a milk/grass regime to a fattening concentrate changed the structure of the bacterial community and decreased richness and diversity, although the calves harbored eventually a stable population.

Keywords: beef cattle, transition, bacteria, microbiome.

IMPACTO DEL NIVEL DE PROTEÍNA Y DEL TIPO DE FORRAJE SOBRE LA MICROBIOTA RUMINAL EN TERNEROS DE ENGORDE

Costa¹, S., de la Fuente¹, G., Llanes², N., Balcells¹, J., Mora¹, J. y Villalba¹, D.

¹ Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Lleida, Agrotecnio Center, 25198 Lleida;

² Cooperativa d'Ivars d'Urgell SCCL, 25260 Ivars d'Urgell; scosta@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

Los sistemas ganaderos intensivos, como es el engorde de terneros, se enfrentan actualmente a diversos retos (Dumont *et al.*, 2014), entre los que destacan minimizar su impacto ambiental y reducir la competencia por alimentos de consumo humano. La optimización del nivel de proteína bruta (PB) de la ración puede tener beneficios ambientales, como la menor excreción de compuestos contaminantes al suelo y a la atmosfera. La sustitución de la paja por un forraje de mayor calidad puede mejorar las condiciones de fermentación, disminuir el consumo de cereales que pueden ser empleados para la alimentación humana y explotar la capacidad del animal rumiante de degradar alimentos fibrosos. En este trabajo, se analiza el impacto de la reducción del nivel de proteína de la ración y de la utilización de un forraje de calidad sobre la microbiota ruminal, en terneros sometidos a un régimen de engorde intensivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se utilizaron 30 terneros machos de raza Frisona. El muestreo inicial consistió en nueve animales (**PRE**, 77 [±5] días de vida y ~105 kg de peso vivo [PV]) alimentados con una ración a base de concentrado *starter* y paja de cebada. A los 119 (±5) días de edad y 166 (±15) kg de PV, los animales se distribuyeron en tres lotes experimentales (los terneros muestreados en PRE se distribuyeron a razón de 3 por lote), alimentados con tres raciones experimentales distintas: concentrado de baja proteína (10% PB sobre materia fresca [MF]) y paja de cebada (**LP**) o concentrado control (12% PB sobre MF) y uno de los siguientes forrajes: paja de cebada (**CTR**) o ensilado de avena (**OATS**). Todos los alimentos fueron administrados *ad libitum*. Se procedió a muestrear el líquido ruminal en dos fases: (**GRO**, 160 [±5] días de edad y 222 [±22] kg de PV) y acabado (**FIN**, 281 [±5] días de edad y 445 [±31] kg de PV).

Durante la totalidad del período experimental, se controlaron diariamente de forma automática el PV y el consumo de concentrado de los animales. Las muestras de líquido ruminal (100 mL) se extrajeron mediante sonda esofágica y se congelaron inmediatamente (15 mL) en nieve carbónica. El ADN genómico de dichas muestras se extrajo y se determinaron las poblaciones de bacterias y arqueas mediante la secuenciación de las regiones V3 y V4 del ARN ribosómico 16S.

El estudio de la microbiota ruminal se realizó sobre los 9 terneros que fueron muestreados tres veces durante el período experimental. Se procedió al análisis multivariante (ANOSIM, NMDS) utilizando la herramienta R Core Team (2018). La identificación de los taxones causantes de las diferencias entre períodos experimentales se realizó mediante un análisis discriminante lineal (LEfSe) utilizando la plataforma online Galaxy (Afgan *et al.*, 2018). Con los datos de los 30 animales en GRO y FIN, se cuantificó el desarrollo de su microbiota ruminal mediante la función *procrustes* (R Core Team [2018]). Dicha información se incluyó como efecto en un análisis de varianza de los datos de consumo de concentrado y crecimiento utilizando la herramienta JMP® (2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La secuenciación del ARN ribosómico y la posterior normalización de los datos permitió obtener una media de 22 643 secuencias por muestra y un total de 611 350 secuencias en las 27 muestras analizadas. Las secuencias obtenidas se clasificaron en 541 OTUs, con un umbral de similitud del 98%. El promedio de OTUs obtenidos por muestra fue de 111, con un valor mínimo de 56 y un valor máximo de 203. Respecto a nuestros datos, en un estudio con animales Holstein desde el período neonatal hasta los 2 años de edad, Jami *et al.*, (2013) aislaron un menor número de secuencias que fueron clasificadas en un mayor número de OTUs. El cálculo del índice de Shannon (1,40±0,40 en PRE, 1,21±0,52 en GRO y 1,91±0,51 en FIN) también resultó en valores muy bajos comparados con el mencionado estudio. En todos los períodos analizados, el porcentaje de secuencias comunes entre los animales de

los tres tratamientos fue muy alto (99,61% en PRE, 98,67% en GRO y 97,95% en FIN); no obstante, el ANOSIM detectó diferencias significativas en la estructura de la microbiota ruminal entre tratamientos durante las fases de crecimiento y acabado, pero no en la fase previa ($P=0,008$, $P=0,026$ y $P=0,800$, respectivamente). Por ello, se puede deducir que la ración que consumieron los animales modificó determinadas poblaciones microbianas que, aunque minoritarias, permitieron clasificar a los animales en función de su dieta (Figura 1).

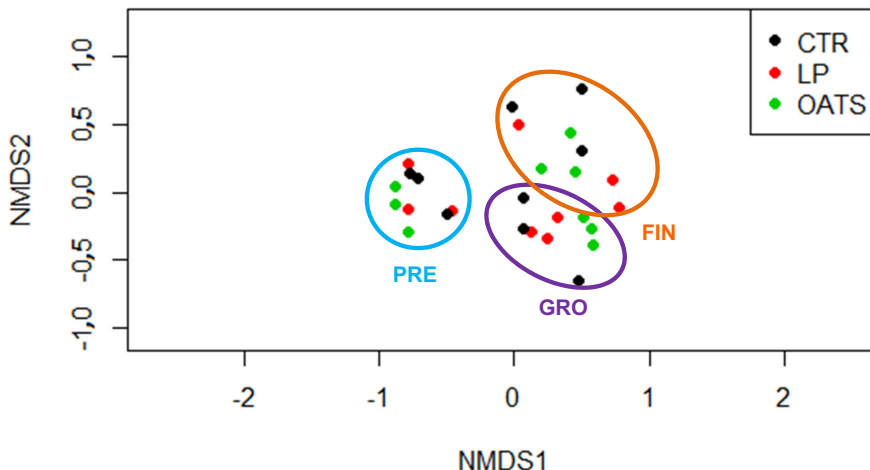


Figura 1. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) realizado en muestras de la microbiota ruminal, en los tres periodos: previo (PRE), crecimiento (GRO) y acabado (FIN).

Mediante el análisis LEfSe (Figura 2), se identificaron los taxones que sufrieron una variación más intensa en su abundancia desde antes del inicio del periodo experimental (PRE) hasta la fase de acabado (FIN). En dicho periodo, disminuyó la abundancia relativa del género *Bifidobacterium*, conocido por ser predominante en individuos jóvenes debido a que determinados oligosacáridos y glicoproteínas de la leche favorecen su proliferación (Pacheco *et al.*, 2015). En general, los géneros que más aumentaron su riqueza fueron: *Prevotella*, conocido por su versatilidad nutricional ya que puede utilizar como sustrato diversos azúcares simples, aminoácidos y también pequeños péptidos (Stevenson y Weimer, 2007), *Roseburia* y *Agathobacter*, ambos productores de butirato (Rosero *et al.*, 2016) y también *Sharpea*, productor de lactato (Morita *et al.*, 2008). Cabe destacar que, a diferencia del resto de grupos, en los terneros del grupo OATS aumentó la abundancia de poblaciones microbianas relacionadas con la degradación de la fibra (i.e. *Ruminococcus flavefaciens* y *Pseudobutyrvibrio xylanivorans*).

La evolución de la microbiota ruminal en el período crecimiento-acabado no tuvo efectos ni sobre el consumo de concentrado ($P=0,426$ en GRO y $P=0,526$ en FIN) ni tampoco sobre la ganancia media diaria de los animales ($P=0,737$ en GRO y $P=0,931$ en FIN).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afgan, E. *et al.* 2018. *Nucleic Acids Res.* 46, W537–W544, doi:10.1093/nar/gky379. • Dumont, B. *et al.* 2014. *Animal* 8, 1382–1393, doi:10.1017/S1751731114001281. • Jami, E., *et al.* 2013. *ISME J.* 7, 1069–1079, doi:10.1038/ismej.2013.2. • JMP®, Versión 14.0.0. 2018. SAS Institute Inc, EUA. • Morita, H. *et al.* 2008. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58, 2682–2686, doi:10.1099/ijs.0.65543-0. • Pacheco, A. R. *et al.* 2015. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 3, 419–445, doi:10.1146/annurev-animal-022114-111112. • R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Austria. • Rosero, J. A. *et al.* 2016. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 768–773, doi:10.1099/ijs.0.000788. • Stevenson, D. M. & Weimer, P. J. 2007. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75, 165–174, doi:10.1007/s00253-006-0802-y.

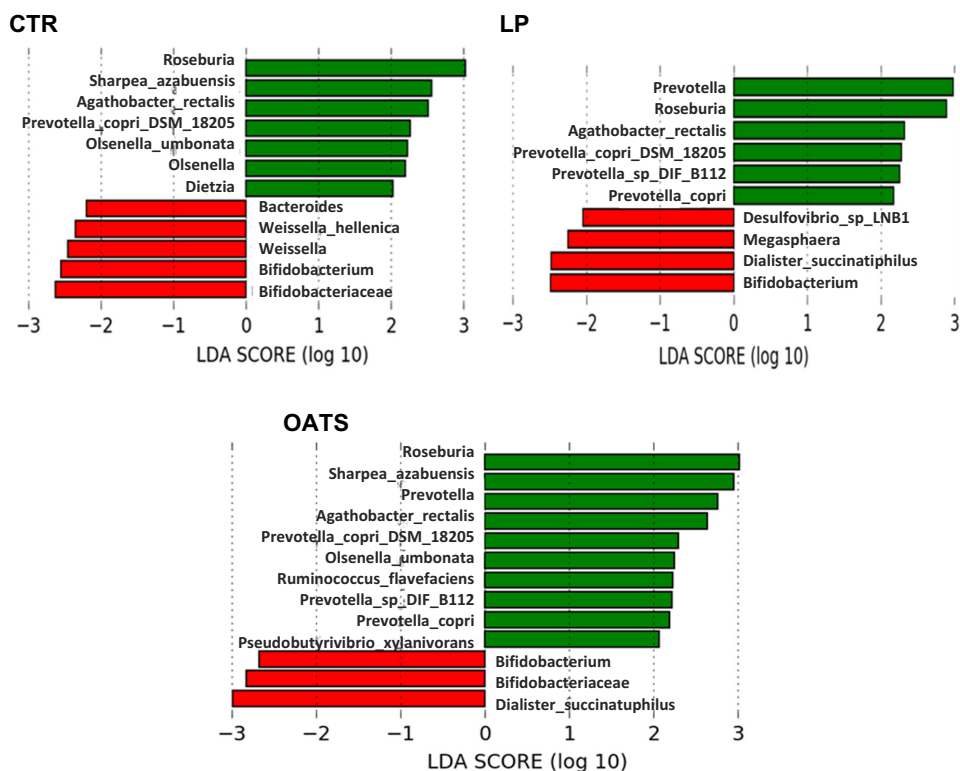


Figura 2. Taxones microbianos responsables de las diferencias en la composición de la microbiota entre el periodo previo (PRE, rojo) y el periodo de acabado (FIN, verde).

Agradecimientos: A la Cooperativa d'Ivars d'Urgell. Financiado por el proyecto europeo GENTORE y RTA-14-0.38-C02. Sandra Costa Roura disfruta de una beca FPU2016/03761.

EFFECTS OF PROTEIN RESTRICTION AND FORAGE TYPE ON RUMINAL MICROBIOTA IN INTENSIVELY REARED CALVES

The aim of this work was to study the impact of crude protein (CP) restriction and forage type on the evolution of ruminal microbiota in 30 intensively reared Holstein calves. Animals were assigned to three dietary treatments: low protein concentrate (10% CP) plus barley straw (LP) or control concentrate (12% CP) plus either barley straw (CTR) or oats silage (OATS). Three animals per treatment were sampled once before starting the experimental period (PRE) to determine the initial microbiota composition. All animals were sampled twice during the experimental period, corresponding to the growing phase (GRO) and the finishing phase (FIN). Rumen bacterial and archaeal composition was analysed by taxonomic profiling of 16S ribosomal RNA variable regions. Live weight and concentrate intake were automatically registered. Results showed biodiversity levels in calves' rumen were low. More than 97% of sequences were shared between groups, however, significant differences were found in microbiota composition in GRO ($P=0,008$) and in FIN ($P=0,026$). The highest increase in relative abundance was detected in *Prevotella*, *Roseburia*, *Agathobacter* and *Sharpea* genera. Differences in concentrate intake and daily gain could not be explained by ruminal microbiota evolution either in GRO ($P=0,426$ and $P=0,737$, respectively) or in FIN ($P=0,526$ and $P=0,931$, respectively).

Keywords: microbiota, calves, protein, forage.

EFFECTO DEL NIVEL DE FIBRA INSOLUBLE Y SOLUBLE SOBRE LA CANTIDAD DE FIBRA FERMENTADA A NIVEL ILEAL, CECAL Y FECAL EN GAZAPOS EN CRECIMIENTO

Farias, C., Feijoo, D., Gratta, F., Brambillasca, S., Ocasio-Vega, C., Nicodemus, N., Carabaño, R. y García, J.

Dpto. Producción Agraria, ETSI Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid. E-mail: javier.garcia@upm.es

INTRODUCCIÓN

La inclusión de fibra soluble (12%) en el pienso disminuye la mortalidad y mejora los rendimientos productivos de gazapos afectados de enteropatía epizoótica (Trocino *et al.*, 2013), lo que puede estar relacionado con la mayor digestibilidad de la fibra en el íleon y en el ciego (Abad-Guamán *et al.*, 2015), y a la mayor concentración ileal y cecal de ácidos grasos volátiles (Ocasio-Vega *et al.*, 2018). Sin embargo, no está claro si la magnitud de este efecto positivo de la fibra soluble depende del nivel de fibra insoluble del pienso, dado que un incremento de la fibra insoluble aumentó la mortalidad de los gazapos (Gutiérrez *et al.*, 2002). Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar si la cantidad de fibra fermentada en el intestino delgado y grueso al aumentar el nivel de fibra soluble depende del nivel de fibra insoluble.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñaron cuatro piensos organizados factorialmente (2×2), con dos niveles de fibra insoluble (FI) (31,4 vs. 39,3% de materia seca-MS para baja y alta fibra insoluble; BFI y AFI), y dos niveles de fibra soluble (FS) (8,7 vs. 12,8 % MS para baja y alta fibra soluble; BFS y AFS) (Tabla 1). Se tomaron 176 gazapos destetados a los 25 d de edad (419 ± 71,9 g), procedentes de madres alimentadas con estos mismos piensos, se alojaron individualmente y se les ofreció el mismo pienso que a su madre (44/tratamiento) hasta los 39 d de edad. Se determinó la digestibilidad fecal (36-39 d de edad) en 40 gazapos (10/tratamiento), elegidos al azar entre los animales que formaban parte del experimento. A los 39 d de edad, todos los animales fueron sacrificados entre las 19:00 y las 21:00 h. Para determinar la digestibilidad ileal, se recogió el contenido ileal de los últimos 20 cm de íleon. La digesta de varios gazapos (2-8) se mezcló con el fin de disponer de suficiente cantidad para los análisis, obteniéndose 8-13 mezclas de cada tratamiento donde se midió la concentración de iterbio para determinar la digestibilidad ileal de la MS, nitrógeno y almidón. Para cuantificar las distintas fracciones de la fibra, así como las mucinas en la digesta ileal se preparó una única mezcla por tratamiento a partir de las mezclas disponibles. El contenido en fibra dietética total del íleon se corrigió por su contenido en mucinas, mientras que esta corrección no se hizo a nivel fecal debido a su menor relevancia (Abad *et al.*, 2013; Abad-Guamán *et al.*, 2015). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza que incluyó como factores fijos el nivel de FI y FS y su interacción. La cantidad de fibra fermentada a nivel cecal se obtuvo como diferencia de las medias de la cantidad fermentada a nivel fecal e ileal y la variabilidad se consideró aditiva. Para comparar las medias a nivel cecal se determinó el intervalo de confianza de cada media.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El coeficiente de digestibilidad ileal y fecal de la MS se redujo al aumentar el nivel de fibra insoluble del pienso (41,8 vs. 34,6% y 67,3 vs. 58,4%, respectivamente; $P < 0,001$). Además, la digestibilidad fecal de la MS mejoró al aumentar el nivel de fibra soluble del pienso (61,0 vs. 64,3%; $P < 0,001$), si bien, este efecto no se observó a nivel ileal. La cantidad de fibra dietética total fermentada a nivel fecal aumentó un 53% con el nivel de fibra soluble ($P < 0,001$. Figura 1A), sin verse afectada por el nivel de fibra insoluble. Entre un 51 y un 81% de la misma fue fermentada a nivel ileal (BFI_BFS y AFI_AFS, respectivamente). Si bien, estos valores podrían estar algo sobreestimados de acuerdo con lo hipotetizado por Abad-Guamán *et al.* (2015), pues podrían no recoger la fibra dietética hidrolizada pero no fermentada a nivel ileal. La cantidad de fibra dietética total fermentada a nivel ileal aumentó

tanto con el nivel de fibra soluble como insoluble ($P < 0,001$). Estos resultados implicaron que la cantidad de fibra dietética total fermentada a nivel cecal tendió a reducirse al aumentar el nivel de fibra insoluble del pienso. Los tratamientos afectaron de distinta manera las cantidades de fibra insoluble y soluble fermentadas en el tracto digestivo. Mientras que la cantidad de fibra insoluble fermentada a nivel ileal y fecal aumentó tanto con el nivel de fibra insoluble y soluble del pienso, la cantidad de fibra soluble fermentada a nivel ileal y fecal aumentó especialmente con el nivel de fibra soluble del pienso (Figuras 1B y 1C). En este último caso se observó que la cantidad de fibra soluble fermentada por los gazapos del grupo AFI_AFS aumentó respecto a los del grupo AFI_BFS, resultando en una interacción fibra insoluble \times fibra soluble. El flujo ileal de mucinas aumentó tanto con el nivel de fibra insoluble como soluble ($P < 0,001$. Figura 1D), esto último ya observado por Abad-Guamán *et al.* (2015). En este periodo se observó un efecto negativo del incremento de fibra insoluble sobre la mortalidad (5,7 vs. 17,0%; $P = 0,009$), lo que es similar al efecto observado por Gutiérrez *et al.* (2002). Sin embargo, no se observó efecto alguno de la fibra soluble.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los piensos experimentales.

	BFI BFS	BFI AFS	AFI BFS	AFI AFS
Ingredientes, % materia seca				
Cebada	15,0	14,1	7,0	7,0
Trigo	15,0	14,1	7,0	7,0
Pulpa de remolacha	-	17,0	-	17,0
Paja	8,4	6,3	16,93	14,67
Granilla desengrasada de uva	3,6	2,7	7,26	6,28
Alfalfa deshidratada	10,18	10,18	15,4	15,4
Gluten feed	9,35	3,05	7,13	0,5
Salvado	17,65	6,0	13,38	1,0
Torta de girasol	11,0	17,1	13,0	18,5
Manteca	-	-	3,5	3,5
Otros ¹	9,82	9,47	9,40	9,15
Composición química, % materia seca				
Proteína bruta	19,7	19,8	18,7	18,3
Fibra dietética total (FDT) ²	39,8	44,4	48,4	51,9
Fibra neutro detergente (FND) ²	31,1	31,7	39,6	39,0
Fibra ácido detergente	16,2	17,9	23,0	24,7
Lignina ácido detergente	3,66	3,83	6,64	6,52
Fibra soluble (FDT – FND)	8,67	12,75	8,81	12,90
Almidón	21,2	18,1	11,7	8,63

¹Otros: H. soja, lisina, metionina, treonina, triptófano, carbonato y fosfato cálcico, cloruro sódico, corrector. BFI_BFS: Pienso con bajo nivel de fibra insoluble y fibra soluble. BFI_AFS: Pienso con bajo nivel de fibra insoluble y alto de fibra soluble. AFI_BFS: Pienso con alto nivel de fibra insoluble y bajo de fibra soluble. AFI_AFS: Pienso con alto nivel de fibra insoluble y fibra soluble. ² Libres de cenizas y proteína.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, R., *et al.* 2013. Anim. Feed Sci. Technol. 182: 61-70.
- Abad-Guamán, R., *et al.* 2015. J. Anim. Sci. 93: 2860–2871.
- Gutiérrez, I., *et al.* 2002. J. Anim. Sci. 80: 1029-1037.
- Ocasio-Vega, C., *et al.* 2018. J. Anim. Sci. 96: 1806-1817.
- Trocino, A. *et al.* 2013. World Rabbit Sci. 21: 1-15.

Agradecimientos: Proyecto AGL2015-66485-R y a Pilar Cachaldora (COREN SCL) por su colaboración.

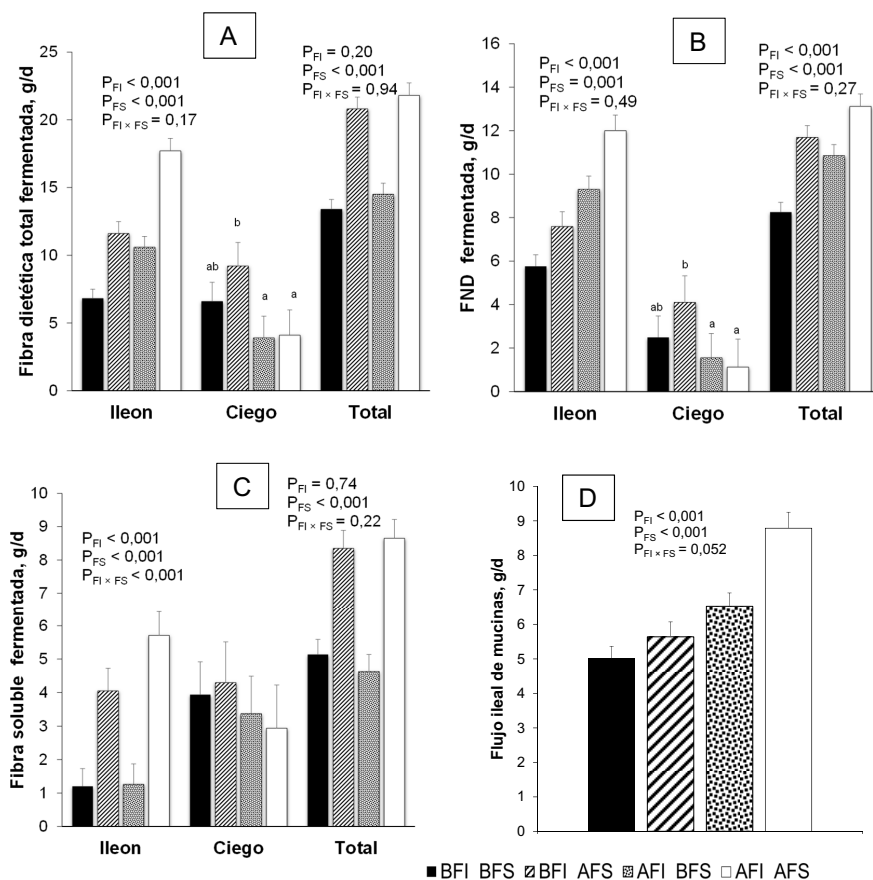


Figura 1. Efecto del nivel de fibra insoluble y fibra soluble del pienso sobre la cantidad de fibra dietética total (A), fibra neutro detergente (B), fibra soluble (C) fermentadas a nivel ileal, cecal, y total, y flujo de mucinas a nivel ileal (D). (media \pm error estándar).

EFFECT OF LEVEL OF INSOLUBLE AND SOLUBLE FIBRE ON FERMENTED FIBRE AT ILEAL, CAECAL AND FAECAL LEVEL IN RABBITS

ABSTRACT: The aim of this work was to study whether the positive effect of soluble fibre (SF: 8.7 vs.12.8 % DM) on fibre digestibility depends on the level of insoluble fibre (IF: 31.4 vs. 39.3% DM). Four diets (LI_LS, LI_HS, HI_LS, HI_HS) were offered to 176 rabbits/treatment (25-d old, 419 \pm 72 g BW). They were slaughtered at 39 d of age and distal ileum digesta collected to determine ileal digestibility of fibre fractions (total, IF and SF), and faecal digestibility (36-39 d of age) in 40 rabbits. The amount of TDF fermented at the fecal level increased by 53% with the level of SF ($P < 0.001$), with no effect of dietary IF. The amount of TDF fermented at ileal level increased with dietary SF and IF ($P < 0.001$). The amount of IF fermented at ileal and fecal levels increased with dietary IF and SF, whereas the amount of SF fermented at the ileal and fecal level increased especially with the dietary SF. The ileal flow of mucins increased with both the level of IF and SF ($P < 0.001$). A negative effect of the IF on mortality was observed (5.7 vs. 17.0%, $P = 0.009$), but no effect of SF was observed.

Keywords: insoluble fibre, soluble fibre, ileal and faecal digestibility, rabbits.

OPTIMIZACIÓN PROTEICA USANDO EL CONEJO COMO MODELO: HACIA UNA PRODUCCIÓN MÁS SOSTENIBLE EN LA CONTAMINACIÓN POR NITRÓGENO

Marín-García P.J., López M.C., Ródenas L., Martínez-Paredes, E., Blas E. y Pascual J.J. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera, 46022, Valencia, España. Email: pabmarg2@doctor.upv.es

INTRODUCCIÓN

La ganadería es una de las principales fuentes de contaminación por N a nivel mundial (FAOSTAT, 2016). Un correcto ajuste de los aminoácidos (AA) maximiza la retención proteica y reduce su excreción, de ahí la importancia de la revisión de las necesidades nutricionales de los principales AA limitantes [para conejos, lisina (Lys), AA azufrados (sAA) y treonina (Thr)]. La reducción de los valores de N ureico plasmático (PUN), el cual corresponde con la urea circulante por el torrente sanguíneo, puede ser un buen indicador del grado de aprovechamiento proteico, habiéndose establecido como una metodología apropiada para esta especie por Marín-García (2017). Este mayor aprovechamiento proteico debería de ir acompañado de una mejora en los parámetros productivos de los animales, aunque es necesario comprobar que éstos no se vean afectados.

Las necesidades de AA en conejos se suelen proporcionar en valores totales, o digestibles a nivel fecal, aunque lo recomendable es disponerlas digestibles a nivel ileal. Optimizar y formular los piensos acorde a las exigencias digestibles a nivel ileal, permitiría reducir la excreción de N al ajustarse mejor a las exigencias por parte del animal (Marín-García *et al.*, 2018).

Por todo ello, el objetivo del presente trabajo será el de proponer un modelo basado en el PUN para optimizar la nutrición proteica, utilizando al conejo como modelo, y así ir hacia una producción más sostenible.

MATERIAL Y MÉTODOS

Experimento 1 (Exp1): El objetivo fue encontrar la mejor combinación de AA totales que minimicen el PUN. Se formularon y fabricaron 27 dietas experimentales a partir de una misma dieta basal que cumplía con las actuales recomendaciones para todos los nutrientes, excepto de Lys, sAA y Thr donde se establecieron tres niveles diferentes [M, acorde con las actuales recomendaciones totales (de Blas y González-Mateos, 2010); A, +15% y B, -15% de las mismas], lo que dio lugar a un diseño factorial 3x3x3. Un total de 918 conejos (machos y hembras, de diferentes líneas, con el propósito de presentar una amplia velocidad de crecimiento) de engorde fueron alimentados con un pienso comercial hasta el día 46 de vida cuando, de manera aleatoria, fueron asignados a uno de los 27 piensos. El día 49 de vida, siguiendo el método descrito por Marín-García (2017), se determinó el PUN. Los datos se analizaron utilizando un procedimiento GLM de SAS (SAS, 2009) en un modelo incluyendo como efectos los niveles de AA, sus interacciones y el lote.

Experimento 2 (Exp2): El objetivo fue estudiar el efecto de una combinación que minimiza el PUN sobre los parámetros productivos y la digestibilidad ileal. Se realizó una prueba de cebo (de 28 a 63 días de vida) a 116 animales (machos y hembras, de diferentes líneas, con el propósito de presentar una amplia velocidad de crecimiento), asignándose aleatoriamente a uno de los dos piensos experimentales (actuales recomendaciones y aquel que minimizó los niveles de PUN en el Exp1). Se controló la ingestión y la velocidad de crecimiento, y se calculó el índice de conversión. Finalmente, tras marcar los piensos con yterbio, se obtuvieron muestras del contenido ileal el día 63 de vida. Se determinó el contenido en AA en pienso y contenido ileal (Bosch *et al.*, 2006). Los datos de digestibilidad y parámetros productivos fueron analizados utilizando un procedimiento GLM (SAS, 2009) en un modelo con el pienso y el lote como efectos fijos, y el peso inicial como covariable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Exp1. De los 27 piensos, la combinación que minimizó los niveles de PUN fue aquella que presentaba niveles totales de Lys iguales a las recomendaciones actuales, un 15% más de

sAA y un 15% menos de Thr (MAB), siendo su nivel de PUN significativamente menor al del pienso con las recomendaciones actuales (MMM). La reducción en Thr podría explicarse por su mayor contribución por la cecotofia (Nicodemus *et al.*, 1999), mientras que la necesidad de aumentar los sAA a la presencia de los mismos como los primeros AAs limitantes. Esta menor concentración de PUN podría llevar a una menor contaminación por N.

Exp2. Los animales con la dieta MAB tuvieron mejor ganancia media diaria e índice de conversión con respecto a la dieta MMM ($P < 0,05$), lo que podría indicar mejor aprovechamiento proteico. Las dos dietas experimentales obtuvieron una similar digestibilidad ileal aparente para todos los AA, aunque se observó una tendencia a mostrar mayor digestibilidad cuando los niveles de AA eran altos, que puede ser debido a la mayor digestibilidad de los AA sintéticos (Taboada *et al.*, 1996). Aplicando los coeficientes de digestibilidad ileal aparente se obtuvieron las cantidades de AA digestibles aparentes a nivel ileal para cada dieta (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles de aminoácidos [totales e ileal aparente], nitrógeno ureico plasmático (PUN) y parámetros productivos con las recomendaciones actuales (Actual) y con la que minimiza el PUN (Propuesta).

	Actual	Propuesta	P-valor
Lisina total (g/Kg)	8,1	8,1	
Lisina ileal aparente (g/Kg)	5,2	5,2	
Azufrados totales (g/Kg)	5,7	6,6	
Azufrados ileal aparente (g/Kg)	3,6	4,7	
Treonina total (g/Kg)	6,8	5,7	
Treonina ileal aparente (g/Kg)	4,3	3,0	
PUN (mg/dL)	14,72 ± 0,66	18,72 ± 0,64	<0,05
Velocidad de crecimiento (g/d)	56,0 ± 0,70	53,4 ± 0,75	<0,05
Ingestión (g/d)	151 ± 2,2	149 ± 2,4	>0,05
Índice de conversión	2,7 ± 0,03	2,79 ± 0,03	<0,05

Podemos concluir que el método de la optimización proteica de las dietas mediante la determinación del PUN puede ser válido para optimizar el desarrollo de los animales y reducir la proteína de los piensos y la contaminación por N.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bosch, L., Alegría, A., Farré, R. 2006. J Chromatography B. 831: 176-183.
- de Blas, J.C., González-Mateos, G. 2010. Feed Formulation. pp. 222-232.
- FAOSTAT. 2016. Statistic data: food and agriculture organization.
- Marín-García, P.J. 2017. Curso Especialización FEDNA. 1: 167.
- Marín-García, P.J, Blas Ferrer, E., Pascual Amorós, J.J. 2018. Boletín de Cunicultura. 189: 16 - 19.
- Nicodemus, N., Mateos, J., de Blas, J.C., Carabaño, R., Fraga, M., 1999. J. Anim. Sci. 69: 167–170.
- Taboada, E., Méndez, J., de Blas, J.C. 1996. Reproduction, Nutrition, Development. 36: 191–203.
- SAS. 2009. User's Guide (release 9.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, EEUU.

DIETARY PROTEIN OPTIMIZATION USING A RABBIT MODEL: TOWARDS A MORE SUSTAINABLE PRODUCTION IN NITROGEN CONTAMINATION

ABSTRACT: Livestock is one of the main sources of N pollution worldwide. Formulating feed according to the requirements of animals at the ileal real level would greatly reduce the excretion of this contaminant. Plasma urea N level (PUN) could be a good indicator of the protein optimization in the diet. The objective of this work will be to propose a model (using growing rabbits) to optimize protein nutrition stepwise. In the first experiment (Exp1), using 918 animals, was evaluated which of the 27 combinations –3 levels of inclusion [M, medium (current); H, high (+ 15%); L, low (-15%)] for the first 3 limiting amino acids (AA) in rabbits (lysine, sulphur AA and threonine), at faecal apparent level– minimized the PUN. In the second experiment (Exp 2), using 116 animals, the productive parameters obtained from the best combination of Exp1 were compared with the current recommendations, and apparent ileal digestibility of feeds was determined. From the results of Exp1, it was observed that the combination of AA that minimized the PUN values was MAB (for lysine, sulfur and threonine, respectively). In addition, in the Exp2 it was found that, with the MAB feed, both the growth rate and the feed conversion ratio were improved ($P < 0.05$). Therefore, in growing rabbits it is recommended 5.2, 4.7 and 3.0 g/Kg of lysine, sulfur and threonine digestible at the ileal level, respectively. This model can be used to optimize the diets of other zootechnical species and reduce N contamination.

Keywords: amino acid, nitrogen, rabbit, model.

VALORACIÓN DE LA CAPACIDAD DE CIERTOS ADSORBENTES DE MICOTOXINAS DE SECUESTRAR AMINOÁCIDOS

Kihal, A., Rodríguez-Prado, M. y Calsamiglia, S.
Servei de Nutrició i Benestar Animal; Facultat de Veterinària.
Universitat Autònoma de Barcelona, 08913 Bellaterra, Barcelona, España
Email: Sergio.calsamiglia@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son contaminantes importantes en alimentos para el consumo animal y un riesgo para la salud animal y humana. Los adsorbentes de micotoxinas se utilizan por su capacidad de secuestrar micotoxinas y limitar su absorción en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, algunos de estos adsorbentes también secuestran otros nutrientes en el tracto gastrointestinal, como vitaminas y minerales, reduciendo su biodisponibilidad (Vekiru *et al.*, 2007; Barrientos-Velázquez *et al.*, 2016). Sin embargo, existe poca información sobre la interacción de estos compuestos en la biodisponibilidad de aminoácidos (AA).

El objetivo de este estudio fue valorar la capacidad de 6 tipos distintos de adsorbentes de micotoxinas de secuestrar algunos AA esenciales (Lisina-Lys, Metionina-Met, Treonina-Thr y Triptófano-Trp) en un sistema *in vitro* de simulación del tracto gastrointestinal.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento *in vitro* fue adaptado de la técnica descrita por Lemke *et al.* (2001) y Gallo & Masoero (2010). Las incubaciones se realizaron en tubos de 100 ml, por triplicado y en dos periodos consecutivos. El experimento se realizó en dos estudios. El diseño experimental del estudio 1 fue un factorial 6x4, con 6 tipos de adsorbentes y 4 AA por separado. Se preparó un medio de incubación que simula la digestión gástrica con 1,25 g/l de pepsina (Sigma 77160, Sigma, St. Louis, MO), 0,5 g/l de ácido málico, 42 µl/l de ácido láctico, 0,5 g/l de ácido cítrico y 50 µl/l de ácido acético, y se ajustó a pH 3. La dosis de los adsorbentes de micotoxinas se calculó según su uso en condiciones de campo (2 kg/tonelada), y las dosis de AA se calculó proporcionalmente a las recomendaciones de monogástricos según Barroeta *et al.* (2012). Se pesaron en cada tubo 100 mg de cada adsorbente (bentonita, clinoptilolita, sepiolita, montmorillonita, carbón activo y paredes celulares de levaduras); 100 mg de Lys, Met y Thr; y 50 mg de Trp, por separado. Se añadieron 50 ml por tubo del medio de incubación gástrico. Los tubos se incubaron en un baño María a 37°C durante 2 h y se agitaron con un vortex al inicio de la incubación y cada hora. Después de 2 h, el pH se neutralizó a 6,5 con 2 ml de bicarbonato sódico (8,8 g/100 ml) y 2 ml de un segundo medio para simular la digestión intestinal (3,5 g/100 ml de sales biliares y 1 g/100 ml de pancreatina (Sigma P7545, Sigma, St. Louis, MO)). La incubación continuó en las mismas condiciones durante 2 h más. Al final de la segunda incubación, una submuestra se centrifugó a 7000 x g durante 15 min a 5°C, y el sobrenadante se congeló a -20°C hasta el análisis de AA mediante cromatografía líquida (HPLC). El segundo estudio se realizó en las mismas condiciones de incubación y las mismas dosis de los adsorbentes y AA, pero cada adsorbente se incubó con los 4 AA juntos.

Los datos de adsorción de AA fueron analizados por el procedimiento MIXED del SAS (v.9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC). El modelo utilizado incluyó como efectos fijos el estudio (1 y 2), los adsorbentes (6), los AA en estudio y sus interacciones. El periodo experimental se consideró como efecto aleatorio. Los resultados se presentan como las medias ajustadas por mínimos cuadrados (LSMEANS) y su error estándar. Cuando la diferencia entre medias resultó significativa ($P < 0,05$), la comparación de medias se hizo mediante el test de Tukey y se separaron mediante la opción SLICEBY del PROC PLM del SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos del estudio, adsorbentes, AA y la interacción adsorbente x AA fueron significativos ($P < 0,05$). El índice de adsorción medio de los AA en el estudio 1 (incubados por separado) fue elevado (media de 49%) y mayor en la clinoptilolita (57%) que en la

sepiolita (44%, $P < 0,05$). El Trp (63%) tuvo una adsorción mayor que la Lys (36%), siendo intermedio para la Met (47%) y la Thr (49%, $P < 0,05$).

La Tabla 1 muestra los valores medios del porcentaje de adsorción de cada AA en cada adsorbente para el estudio 1. El porcentaje de adsorción de los 6 adsorbentes fue distinto de un AA a otro con diferencias significativas entre el Trp vs. la Lys en la bentonita y la clinoptiolita; y entre el Trp vs. la Lys y la Thr en el carbón activo. La adsorción de la Lys y la Met fue similar entre adsorbentes, pero la Thr se adsorbió menos en el carbón activo y más en los otros adsorbentes, mientras que el Trp se adsorbió menos en la montmorillonita y más en la clinoptiolita y el carbón activo.

El índice de adsorción medio de los AA en el estudio 2 (incubados juntos) fue inferior al estudio 1 (media de 19%), siendo la sepiolita (14%) mayor que la clinoptiolita (5%) y menor que el carbón activo (24%, $P < 0,05$). La capacidad de adsorción de las paredes celulares de levaduras (32%) fue mayor que la del carbón activo (24%, $P < 0,05$). Asimismo, la Thr (22%) fue más adsorbida que la Met (16%), mientras que la Lys (21%) y el Trp (17%) presentaron valores intermedios ($P < 0,05$).

Tabla 1. Índice de adsorción de los 6 adsorbentes con los 4 aminoácidos incubados por separado (Estudio 1).

Adsorbentes	Aminoácido				SEM
	Lisina	Metionina	Treonina	Triptófano	
Bentonita	28,4 ^w	51,9 ^{wx}	53,6 ^{wx,b}	68,4 ^{x,ab}	6,02
Clinoptiolita	36,1 ^w	50,8 ^{wx}	62,4 ^{wx,b}	78,6 ^{x,b}	6,20
Sepiolita	31,2	41,4	48,1 ^{ab}	57,5 ^{ab}	5,57
Montmorillonita	47,0	40,1	53,1 ^b	40,3 ^a	6,02
Carbón activo	38,4 ^w	50,4 ^{wx}	20,0 ^{w,a}	77,4 ^{x,b}	6,20
Paredes celulares de levaduras	38,7	47,9	58,4 ^b	57,7 ^{ab}	5,87

(x,w) Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas entre aminoácidos.

(a,b) Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas entre adsorbentes.

La Tabla 2 muestra los valores medios del porcentaje de adsorción de cada AA en cada adsorbente cuando se incubaron juntos.

Tabla 2. Índice de adsorción de los 6 adsorbentes con los 4 aminoácidos incubados juntos (Estudio 2).

Adsorbentes	Aminoácido				SEM
	Lisina	Metionina	Treonina	Triptófano	
Bentonita	15,7	9,9 ^{ab}	17,1	2,8 ^b	4,11
Clinoptiolita	18,9 ^x	5,6 ^{x,a}	13,6 ^x	0,0 ^{w,a}	3,86
Sepiolita	14,6	11,8 ^{ab}	18,9	10,9 ^{bc}	3,20
Montmorillonita	28,8	24,9 ^b	29,2	32,5 ^{ed}	3,21
Carbón activo	24,5	20,0 ^{ab}	25,6	26,4 ^{dc}	3,36
Paredes celulares de levaduras	25,7 ^w	23,6 ^{w,ab}	29,8 ^w	49,2 ^{x,e}	3,28

(x,w) Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas entre aminoácidos.

(a,b,c,d,e) Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas entre adsorbentes.

El índice de adsorción de los 6 adsorbentes fue distinto de un AA a otro con diferencias significativas para el Trp con la clinoptiolita y las paredes celulares de levaduras. La adsorción de la Lys y la Thr fue similar entre adsorbentes, pero el Trp se adsorbió menos en la clinoptiolita, bentonita y sepiolita, y más en las paredes celulares de levaduras, mientras que la Met se adsorbió menos en la clinoptiolita y más en la montmorillonita.

Varios estudios previos observaron que algunos adsorbentes de micotoxinas también secuestraban vitaminas y minerales a niveles similares a los observados en el presente estudio (Vekiru *et al.*, 2007; Ghanshyam *et al.*, 2009; Barrientos-Velázquez *et al.*, 2016). Sin embargo, no se han encontrado referencias científicas que demuestren el secuestro de AA por parte de los adsorbentes de micotoxinas. Además, Barrientos-Velázquez *et al.* (2016) ya sugirieron la existencia de competencia por las cargas negativas de los adsorbentes entre la vitamina B1 y la pepsina, un efecto similar observado al comparar los resultados de adsorción entre el estudio 1 y 2.

Los resultados indican que los adsorbentes de micotoxinas probados tienen un grado de adsorción de AA alto, lo que puede limitar su biodisponibilidad. Además, los resultados del segundo experimento sugieren que esta adsorción es competitiva entre AA por los sitios de adsorción en cada adsorbente.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Barrientos-Velázquez, A.L., Arteaga, S., Dixon, J.B. & Deng, Y. 2016. The effects of pH, pepsin, exchange cation, and vitamins on aflatoxin adsorption on smectite in simulated gastric fluids. *App. Clay Sci.* 120: 17-23.
- Barroeta, A., Calsamiglia, S., Cepero, R., Lopez-Bote, C. & Hernandez, J.M. 2012. Optima nutrición vitamínica de los animales para la producción de alimentos de calidad. 5M Publishing, London, UK.
- Ghanshyam, V., Joshi, G.V., Patel, H.A., Kevadiya, B.D. & Bajaj, H.C. 2009. Montmorillonite intercalated with vitamin B1 as drug carrier. *App. Clay Sci.* 45: 248-253.
- Lemke, S.L., Ottinger, S.E., Mayura, K., Ake, C.L., Pimpukdee, K., Wang, N. & Phillips, T.D. 2001. Development of a multi-tiered approach to the in vitro prescreening of clay-based enterosorbents. *Anim. Feed Sci. Technol.* 93: 17-29.
- Gallo, A. & Masoero, F. 2010. In vitro models to evaluate the capacity of different sequestering agents to adsorb aflatoxins. *Italian. J. Anim. Sci.* 9:21
- Vekiru, E., Fruhauf, S., Sahin, M., Ottner, F., Schatzmayr, G. & Krska, R. 2007. Investigation of various adsorbents for their ability to bind aflatoxin B1. *Myc. Res.* 23: 27-33.

ASSESSMENT OF THE CAPACITY OF CERTAIN MYCOTOXIN BINDERS TO ADSORB AMINO ACIDS

ABSTRACT: The objective of the study was to evaluate the capacity of 6 mycotoxin binders (bentonite, clinoptiolite, sepiolite, montmorillonite, active carbon and yeast cell walls) to adsorb 4 different amino acids (Lysine, Methionine, Threonine and Tryptophan). The experiment was conducted in in vitro conditions to simulate a monogastric digestion model. The experiment was divided in 2 studies to show if mycotoxin binders adsorbed the amino acids when incubated separately (Study 1) or together (Study 2) at the same doses. Results show that the average adsorption in the Study 1 was high (49%), with highest adsorption for clinoptiolite (56%) and lowest for sepiolite (44%). For the adsorption of amino acids, Tryptophan (63%) was adsorbed the highest and Lysine (36%) the lowest. In the Study 2, the average adsorption was lower (19%), being the yeast cell wall the highest (22%) and clinoptiolite the lowest (4%). For the adsorption of amino acids, Threonine (22%) was the highest and Methionine (16%) the lowest. Mycotoxin binders have a high grade of adsorption of amino acids, which can limit their availability. This adsorption is competitive among them.

Keywords: mycotoxin binders, amino acids, adsorption.

VALORACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ALGUNOS ADSORBENTES DE MICOTOXINAS DE SECUESTRAR VITAMINAS HIDROSOLUBLES Y LIPOSOLUBLES

Kihal, A., Rodríguez-Prado, M. y Calsamiglia, S.

Servei de Nutrició i Benestar Animal; Facultat de Veterinària.

Universitat Autònoma de Barcelona, 08913 Bellaterra, Barcelona, España.

Email: Sergio.calsamiglia@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La contaminación de los piensos con micotoxinas representa un problema global para la industria de producción animal. El método más utilizado para proteger a los animales, frente a micotoxinas, es la utilización de adsorbentes. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que los adsorbentes de micotoxinas tienen la capacidad de secuestrar algunas vitaminas y minerales (Ghanshyam *et al.*, 2009; Barrientos-Velázquez *et al.*, 2016). El objetivo de este estudio fue valorar la capacidad de 6 tipos distintos de adsorbentes de micotoxinas de secuestrar ciertas vitaminas liposolubles (D y E) e hidrosolubles (B2, B3 y B6) en un sistema *in vitro* que simula las condiciones del tracto gastrointestinal.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento *in vitro* se realizó mediante una adaptación de la técnica descrita por Lemke *et al.* (2001) y Gallo & Masoero (2010). Las incubaciones se realizaron en tubos de 100 ml, por triplicado y en dos periodos consecutivos. Las incubaciones se realizaron por grupos de vitaminas: hidrosolubles y liposolubles. Para cada grupo de vitaminas se realizaron dos estudios. El diseño experimental del estudio 1, para las vitaminas hidrosolubles, fue un factorial 6x3, con 6 tipos de adsorbentes y tres vitaminas (B2, B3 y B6). Para el caso de las vitaminas liposolubles, el arreglo factorial fue un 6x2, con los mismos adsorbentes y dos vitaminas (D y E). En este primer estudio, las vitaminas se incubaron por separado. Se preparó un medio de incubación que simula la digestión gástrica con 1,25 g/l de pepsina (Sigma 77160, Sigma, St. Louis, MO), 0,5 g/l de ácido málico, 42 µl/l de ácido láctico, 0,5 g/l de ácido cítrico y 50 µl/l de ácido acético, y se ajustó a pH 3. La dosis de los adsorbentes de micotoxinas se calculó según su uso en condiciones de campo (2 kg/tonelada), y las dosis de vitaminas se calcularon en base a las recomendaciones para especies monogástricas, según lo especifica Barroeta *et al.* (2012). Se pesaron en cada tubo 100 mg de cada adsorbente (bentonita, clinoptiolita, sepiolita, montmorillonita, carbón activo y paredes celulares de levaduras (LEV)). Las dosis de vitaminas hidrosolubles fueron: 0,50 mg de B2, 4,0 mg de B3 y 0,25 mg de B6; y para las vitaminas liposolubles fueron: 0,0075 mg de D y 7,45 mg de E. Se añadieron 50 ml por tubo del medio de incubación que simula las condiciones gástricas del animal. Los tubos se incubaron en un baño María a 37°C durante 2 h y se agitaron con un vortex al inicio de la incubación y a intervalos de 1 h hasta el final de la incubación. Después de 2 h, el pH se neutralizó a 6,5 con 2 ml de bicarbonato sódico (8,8 g/100 ml) y 2 ml de un segundo medio para simular la digestión intestinal (3,5 g/100 ml de sales biliares y 1 g/100 ml de pancreatina (Sigma P7545, Sigma, St. Louis, MO)). La incubación continuó en las mismas condiciones durante 2 h más. Al final de la segunda incubación, se tomó sub-muestra que se centrifugó a 7000 x g durante 15 min a 5°C, y el sobrenadante resultante se congeló a -20°C hasta el análisis de la concentración de vitamina mediante cromatografía líquida (HPLC). El estudio 2 se realizó en las mismas condiciones de incubación, y las mismas dosis de los adsorbentes y vitaminas, pero cada adsorbente se incubó con el grupo de vitaminas liposolubles juntas y el grupo de las vitaminas hidrosolubles juntas. Los datos de adsorción de vitaminas fueron analizados por el procedimiento MIXED del SAS (v.9.4). El modelo utilizado incluyó como efectos fijos el estudio (1 y 2), los adsorbentes (6), las vitaminas en estudio y sus interacciones. El periodo experimental se consideró como efecto aleatorio. Los resultados se presentan como las medias ajustadas por mínimos cuadrados (LSMEANS) y su error estándar. Cuando la diferencia entre medias resultó significativa ($P < 0,05$), la comparación de medias se hizo mediante el test de Tukey y se separaron mediante la opción SLICEBY del PROC PLM del SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos del estudio, adsorbentes, vitaminas y la interacción adsorbente x vitamina fueron significativos ($P < 0,05$). En el estudio 1 (incubaciones por separado) el índice de adsorción medio de las vitaminas hidrosolubles (B2, B3, B6) fue de 28%. La montmorillonita fue el adsorbente que mostró mayor capacidad de adsorción (45%) de este tipo de vitaminas, seguido por la bentonita (36%) y la sepiolita (27%), mientras el carbón activo fue el que mostró menor afinidad (17%, $P < 0,05$). Con respecto a las vitaminas liposolubles, la B6 fue adsorbida en mayor proporción (45%) comparado con la B2 (33%), mientras que la B3 fue la menos adsorbida (6%, $P < 0,05$). Para las vitaminas liposolubles, el índice de adsorción medio fue del 20%. La E tuvo una media de adsorción del 33% y la D del 7% ($P < 0,05$). Respecto a los adsorbentes, la montmorillonita (25%) y la bentonita (25%) tuvieron la mayor adsorción entre los 6 adsorbentes, mientras la sepiolita y el carbón activo tuvieron la menor adsorción (13%, $P < 0,05$). En la Tabla 1 se presentan los resultados del estudio 1, donde están indicados los valores medios del porcentaje de adsorción de cada vitamina según el adsorbente utilizado. El porcentaje de adsorción difirió entre vitaminas del grupo de las hidrosolubles, con diferencias significativa entre la B3 vs. B6 y B2 para la bentonita, la sepiolita y la montmorillonita; y entre las B6 vs. B3 y B2 para el carbón activo y las LEV, y entre la B2 vs. B3 vs. B6 en la clinoptilolita. La adsorción de la B3 fue similar entre adsorbentes, pero la adsorción de la B2 y la B6 fue mayor en la montmorillonita y menor en los otros adsorbentes. En el caso de las vitaminas liposolubles, el porcentaje de adsorción fue distinto ($P < 0,05$) entre la D y la E en la bentonita, la clinoptilolita y la montmorillonita. La adsorción de la D fue mayor en LEV y menor en la bentonita. Asimismo, la adsorción de la E fue mayor en la bentonita y la montmorillonita, y menor en la sepiolita y el carbón activo.

Tabla 1. Índice de adsorción de los 6 adsorbentes con las vitaminas hidrosolubles y liposolubles incubados por separado (Estudio 1).

Vitaminas	Adsorbentes					
	Bentonita	Clinoptilolita	Sepiolita	Montmorillonita	Carbón activo	LEV
Hidrosolubles						
B2	52,7 ^{w,b}	18,0 ^{x,d}	32,9 ^{w,c}	67,7 ^{w,a}	8,6 ^{x,d}	18,3 ^{x,d}
B3	8,0 ^x	4,3 ^y	6,1 ^x	4,7 ^x	6,2 ^x	5,6 ^x
B6	48,2 ^{w,b}	34,7 ^{w,b}	43,4 ^{w,b}	63,4 ^{w,a}	36,6 ^{w,b}	45,7 ^{w,b}
SEM	7,05	7,05	6,87	6,87	7,18	6,96
Liposoluble						
D	0 ^{x,c}	2,9 ^{x,bc}	8,6 ^b	3,9 ^{x,bc}	8,5 ^b	20,2 ^a
E	54,5 ^{w,a}	34,1 ^{w,b}	16,6 ^c	46,3 ^{w,a}	18,5 ^c	30,0 ^b
SEM	5,88	5,88	5,88	5,98	5,88	5,88

(x,w,y) Letras distintas en la misma columna indican diferencias ($P < 0,05$) entre vitaminas.

(a,b,c,d) Letras distintas en una misma fila indican diferencias ($P < 0,05$) entre adsorbentes.

(LEV) paredes celulares de levaduras.

El índice de adsorción medio en el estudio 2 (incubados juntos) fue en general mayor que en el estudio 1 para las vitaminas hidrosolubles (media 35%), siendo mayor en la B6 (66%) comparado con la B2 (35%) y la B3 (6%, $P < 0,05$). Dentro de los adsorbentes, la montmorillonita (48%) tuvo una adsorción mayor que la bentonita (38%) y la sepiolita (34%, $P < 0,05$), y el carbón activo tuvo la adsorción menor (18%, $P < 0,05$). El índice de adsorción medio de las vitaminas liposolubles fue inferior al estudio 1 (17%). La montmorillonita y la bentonita (29%) tuvieron mayor capacidad de adsorción que la sepiolita (8%), que fue la que tuvo la menor capacidad de adsorción. En la Tabla 2 se muestran los valores medios del porcentaje de adsorción de cada vitamina en cada adsorbente cuando se incubaron juntos. Las vitaminas hidrosolubles mostraron un patrón de adsorción diferente según el adsorbente utilizado. El índice de adsorción fue distinto ($P < 0,05$) en la B3 con la bentonita y la

montmorillonita; en la B6 con el carbón activo y las LEV; y entre las 3 vitaminas en la clinoptiolita y la sepiolita. La adsorción de la B3 fue similar entre adsorbentes, al igual que en el estudio 1. Sin embargo, la adsorción de la B2 fue mayor en la montmorillonita que en la sepiolita y la clinoptiolita, mientras el carbón activo y las LEV tuvieron la adsorción menor. La adsorción de la B6 fue mayor en la montmorillonita y menor en el carbón activo. El índice de adsorción de las vitaminas liposolubles fue distinto ($P < 0.05$) para la D y la E entre adsorbentes. La D se adsorbió sólo en presencia de montmorillonita, mientras la E se adsorbió más en presencia de bentonita y montmorillonita, y menos cuando se incubó con clinoptiolita y sepiolita.

Los resultados indican que los adsorbentes de micotoxinas probados tienen un grado de adsorción alto para la B2 y B6, lo que coincide con los resultados de Barrientos-Velázquez *et al.* (2016), pero no es el caso de la E. Según este mismo autor, los adsorbente de micotoxinas tienen menor afinidad por las vitaminas liposolubles. En general, la B3 y la D tuvieron un índice de adsorción muy bajo. Al contrario de lo observado con los aminoácidos estudios previos en nuestro laboratorio, el porcentaje de adsorción no difirió en gran medida cuando las vitaminas se incubaron juntas o por separado.

Tabla 2. índice de adsorción de los 6 adsorbentes con las vitaminas hidrosolubles y liposolubles incubados juntos (Estudio 2).

Vitaminas	Adsorbentes					
	Bentonita	Clinoptiolita	Sepiolita	Montmorillonita	Carbón activo	LEV
Hidrosolubles						
VB2	55,2 ^{w,ab}	35,3 ^{x,c}	51,0 ^{x,b}	65,8 ^{w,a}	0 ^{x,e}	9,3 ^{x,d}
VB3	0 ^x	0,9 ^y	8,3 ^y	7,0 ^x	4,3 ^{x,e}	4,2 ^x
VB6	62,2 ^{w,ab}	66,7 ^{w,ab}	67,1 ^{w,ab}	72,1 ^{w,a}	59,2 ^{w,b}	66,9 ^{w,ab}
SEM	4,8	4,9	4,8	4,7	4,6	4,6
Liposolubles						
VD	0 ^{x,ab}	0 ^{x,ab}	0 ^{x,ab}	7,4 ^{x,a}	0 ^{x,b}	0 ^{x,ab}
VE	61,8 ^{w,a}	38,3 ^{w,c}	15,4 ^{w,e}	50,7 ^{w,b}	28,5 ^{w,cd}	28,5 ^{w,cd}
SEM	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,69

(x,w,y) Letras distintas en la misma columna indican diferencias ($P < 0,05$) entre vitaminas.

(a,b,c,d,e) Letras distintas en una misma fila indican diferencias ($P < 0,05$) entre adsorbentes.

(LEV) paredes celulares de levaduras.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Barrientos-Velázquez *et al.*, 2016. App. Clay Sci. 120: 17-23
- Barroeta *et al.*, 2012. 5M Publishing, London, UK.
- Ghanshyam *et al.*, 2009. App. Clay Sci. 45: 248-253
- Lemke *et al.*, 2001. Anim. Feed Sci. Technol. 93: 17-29
- Gallo, A. & Masoero, F. 2010. Italian J. Anim. Sci. 9: 21.

ASSESSMENT OF THE CAPACITY OF CERTAIN MYCOTOXIN BINDERS TO ADSORB VITAMINS

ABSTRACT: The objective of the study was to evaluate the capacity of 6 mycotoxin binders to adsorb vitamins. The experiment was conducted in vitro to simulate digestion modes in 2 phases: gastric and intestinal digestion. The experiment used 2 groups of vitamins, liposoluble (VL) and hidrosoluble (VH) and divided in 2 studies (incubated separately and together). Results show that the adsorption average between study 1 and 2 was nearly the same (about 30%) with the highest adsorption for montmorillonite for VL and VH in both studies, and lowest for active charcoal. The B6 and D were adsorbed in a small proportion, and the B6 and E were highly adsorbed. Mycotoxin binders may affect bioavailability of some hydro- and lipo- soluble vitamins.

Keywords: mycotoxin binders, vitamins, adsorption.

IMPACTO DE DISTINTOS ADITIVOS (ÁCIDOS + PREBIÓTICO) SOBRE EL RENDIMIENTO DE LECHONES DURANTE LA FASE DE TRANSICIÓN

De Mercado¹, E., Ciruelos¹, J.J., Tepstad², J., Ruiz², I., Mereu², A., Ipharraguerre³, I.R. y Gómez-Izquierdo¹, E.

¹Centro de pruebas de porcino ITACYL (Hontalbilla), Segovia. ²YARA Iberian S.A.U. Madrid.

³Institute of Human Nutrition and Food Science. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Alemania. E-mail: gomizqem@itacyl.es

INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos es un grave problema de la ganadería porcina y se debe, en gran medida, a un uso indiscriminado de los mismos (Aarestrup, 2015). Los datos evidencian que España es el país de la UE que más consumo hace de este tipo de productos, principalmente en la fase de transición (EMA, 2016). Se han puesto en marcha diferentes estrategias que, apoyadas por organismos públicos (AEMPS, 2015; UE, 2015; FAO, 2016; OIE, 2016) y empresas privadas (MAPA, 2017) pretenden fomentar un uso más sensato de los antibióticos y la búsqueda de alternativas mediante diferente tipo de aditivos. La valoración de aditivos es algo recurrente, desde hace años, y necesaria en la situación actual, ya que pueden favorecer la disminución del empleo de antimicrobianos.

En el presente trabajo se ha evaluado el efecto productivo y sanitario de una mezcla de prebióticos y ácidos orgánicos, en distintas proporciones, administrado en un pienso sin antimicrobianos en una prueba de lechones en transición (periodos prestárter y estárter).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 192 lechones, híbridos comerciales (Large White-Pietrain x Landrace-Large White) procedentes de una granja de producción de Pedrajas de San Esteban (Valladolid), mitad machos y mitad hembras, con una edad de 24 días y peso medio de $6,7 \pm 0,67$ kg y $6,4 \pm 0,91$ kg, machos y hembras, respectivamente. Los lechones se identificaron individualmente antes de comenzar el ensayo y se distribuyeron según sexo y peso en 4 salas (dos de animales grandes y dos de pequeños; sexos por separados) con 8 celdas (réplicas) en cada una, de $3,78$ m²/celda, comedero de 6 bocas y un bebedero de chupete. El diseño experimental fue en bloques completos al azar con 4 tratamientos: A); AB1 (ácido fosfórico + ácido cítrico); B) AB2 (50% de AB1 y 50% de prebiótico fúngico); C) AB3 (prebiótico fúngico); y D) Control, sin aditivos. Hubo 32 celdas en total, 8 por tratamiento (2 en cada sala) de 6 lechones. Se controló la ganancia media diaria (GMD), el consumo medio diario (CMD) y el índice de conversión (IC) a los 19, 33 y 41 días del inicio y se monitorizó durante todo el ensayo la temperatura, humedad, ventilación y el estado sanitario.

Los piensos experimentales fueron isonutritivos (Tabla 1), sin medicar, sin aditivos añadidos (pro-prebióticos, ácidos orgánicos, aceites esenciales), variando exclusivamente en el aditivo experimental añadido en los tratamientos A, B, C (D control, sin aditivos).

Tabla 1. Composición química estimada de los piensos.

Nutrientes (%)	Prestárter	Estárter
Energía neta (kcal/kg)	2.549	2.450
Proteína Bruta	18,5	17
Grasa Bruta	4,7	4,38
Fibra Bruta	2,57	3,34
Lisina	1,4	1,3
Met+cis	0,85	0,80
Treonina	0,86	0,8
Triptófano	0,25	0,24

Los datos se analizaron mediante los procedimientos GLM y REG (test de Cook para datos fuera de rango) del SAS® 9.1 (2004), siendo el pienso y el sexo los efectos principales y el peso inicial (P0) la covariable. Las medias se compararon con un test-*t* ajustándose por

mínimos cuadrados. Para la significación se tuvieron en cuenta valores de $P < 0,05$ y de $0,05 > P < 0,10$ en el caso de la tendencia. El modelo fue el siguiente: $Y_{ij} = \mu + \text{pienso}_i + \alpha P_0 + \varepsilon_{ij}$; donde: Y: variables dependientes (GMD, CMD, IC); μ : media; pienso: aditivos; α : coeficiente de regresión parcial entre peso inicial (P0) e Y; P0: covariable; ε : error residual. El sexo y las posibles interacciones de tamaño, sexo y pienso (aditivos) se retiraron del modelo al no ser significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de los aditivos en los datos productivos se muestra en la Tabla 2. En la fase preáster (de 24 a 43 días de edad) se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en GMD e IC, siendo el tratamiento A el que mejores resultados presentó seguido del C y B; los peores correspondieron al D (control). El CMD mostró diferencias numéricas (tendencia) proporcionales a la GMD. Durante la fase áster (de 43 a 65 días de edad) las diferencias observadas en la fase preáster se anularon en gran medida. De hecho, se puede observar como el tratamiento D mejoró sustancialmente en la primera parte de áster (de 43 a 57 días de edad) el crecimiento, igualando el peso de B y C, y con diferencias significativas en el IC ($P < 0,05$). Durante la segunda parte del áster (de 57 a 65 días de edad) no se manifestaron diferencias significativas en GMD, CMD ó IC. La conversión durante todo el áster (de 43 a 65 días de edad) fue mejor en D y A. Globalmente (de 24 a 65 días de edad) hubo diferencias significativas a favor del tratamiento A en crecimiento y peso final. Los animales que consumieron los piensos B, C y D mostraron similares resultados en todas las variables analizadas.

Tabla 2. Resultados según tratamientos en las distintas fases productivas.

Variables ^a	Tratamientos ^b				EEM ^c	P ^d
	A	B	C	D		
Peso inicial (a 24 d de edad)	6,6	6,61	6,6	6,58	-	Cov
Peso a 43 d de edad	13,03 ^a	11,91 ^{bc}	12,50 ^{ab}	11,46 ^c	0,259	0,001
Peso a 57 d de edad	17,85 ^a	16,52 ^b	16,92 ^{ab}	16,50 ^b	0,335	0,026
Peso final (65 d de edad)	22,61 ^a	20,83 ^b	21,55 ^{ab}	20,81 ^b	0,476	0,041
Periodo preáster (24-43 d de edad)						
CMD	0,411	0,364	0,375	0,356	0,014	0,056
GMD	0,338 ^a	0,280 ^{bc}	0,311 ^{ab}	0,262 ^c	0,012	0,001
IC	1,22 ^a	1,30 ^{ab}	1,21 ^a	1,37 ^b	0,034	0,007
Periodo áster (43-65 d de edad)						
CMD (43-57 d)	0,473	0,466	0,453	0,433	0,016	0,316
GMD (43-57 d)	0,344	0,329	0,314	0,351	0,013	0,248
IC12 (43-57 d)	1,38 ^a	1,42 ^a	1,46 ^a	1,24 ^b	0,036	0,001
CMD (57-65 d)	0,518	0,492	0,525	0,465	0,024	0,285
GMD (57-65 d)	0,340	0,308	0,331	0,308	0,014	0,313
IC (57-65 d)	1,52	1,60	1,61	1,50	0,062	0,508
CMD (43-65 d)	0,631	0,610	0,623	0,571	0,020	0,188
GMD (43-65 d)	0,435	0,406	0,411	0,419	0,015	0,496
IC (43-65 d)	1,45 ^{ab}	1,51 ^a	1,48 ^a	1,36 ^b	0,035	0,033
Periodo global (24-65 días de edad)						
CMD	0,529	0,495	0,508	0,471	0,015	0,080
GMD	0,391 ^a	0,347 ^b	0,364 ^{ab}	0,347 ^b	0,012	0,048
IC	1,35	1,43	1,37	1,35	0,023	0,077

^aCMD: consumo medio diario (kg/d); GMD: ganancia media diaria (kg/d); IC: índice de conversión (kg/kg). ^bA: Aditivo AB1; B: Aditivo AB2; C: Aditivo AB3; D: Control sin aditivos. ^cEEM: error estándar de la media. ^dP: significación. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

El efecto de los aditivos empleados más habitualmente en producción porcina: enzimas, probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y aceites esenciales (Fernández *et al.*, 2005; de Mercado *et al.*, 2013) está íntimamente ligado al estado sanitario de los animales, y en gran medida este es el motivo por el que los resultados difieren de forma acusada (de Mercado *et al.*, 2011; Pérez-Martínez *et al.*, 2018). En presencia de patologías digestivas es preciso aplicar tratamientos con antimicrobianos para evitar bajas o malos rendimientos, sin embargo, añadir aditivos puede contribuir a una recuperación más efectiva de los lechones, bien sea por la protección a nivel intestinal de las vellosidades o por cambios de la microbiota que mantienen una absorción adecuada de nutrientes (Keimer *et al.*, 2018; Zhou, *et al.*, 2018). Actualmente, se sigue trabajando de una manera notable con nuevos productos, valorando las dosis adecuadas y los posibles beneficios de mezclas entre ellos, como sucede en el presente trabajo. Evitar la antibiorresistencia obliga a disminuir el empleo masivo de antimicrobianos, y se debe apoyar en un manejo adecuado del ganado, ajustando las dietas y, desde luego, con el uso de aditivos adaptados a cada situación (Yan *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2018).

Podemos concluir que los aditivos AB1 y AB3 tuvieron un efecto más beneficioso en el periodo productivo prestarter, en relación con un pienso Control sin aditivos, siendo el AB1 el que mejores resultados mostró tanto en crecimiento como en conversión alimenticia. Del mismo modo, y globalmente, el aditivo AB1 mejoró la GMD de los lechones, debido, principalmente, a las diferencias que obtuvo en la fase prestarter.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarestrup, F.M. 2015. *Prev. Vet. Med.* 108, 334-341.
- AEMPS, 2015. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Plan estratégico de antimicrobianos.
- de Mercado *et al.*, 2011. XIV Jornadas ITEA. 282-284.
- de Mercado *et al.*, 2013. XV Jornadas ITEA. 168-170.
- EMA, 2016. *European Medicines Agency/231573/2016*.
- UE. 2015/C 299/04.
- Keimer, B., *et al.*, 2018. *J. Anim. Sci.* 96: 194-205.
- FAO, 2016. Drivers, dynamics and epidemiology of antimicrobial resistance in animal production.
- Fernández, C. *et al.*, 2005. Ed. Agrícola Española S.A. Aditivos zootécnicos.
- MAPA, 2017. Programa Reduce Colistina: informe 2017.
- OIE (World Organisation for Animal Health), 2016. Strategy on the antimicrobial Resistance.
- Pérez-Martínez, G. *et al.*, 2018. 9º Congreso de la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos. 22-29.
- Rodríguez, J.M. *et al.*, 2018. 9º Congreso de la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos. 15-21.
- SAS, 2004. SAS Institute, 9.1.
- Yan, L. *et al.*, 2010. *Liv. Sci.* 128: 115-122.
- Zhou, P., *et al.*, 2018. *J. Anim. Sci.* 96:181-193.

IMPACT OF DIFFERENT ADDITIVES (ACIDS + PREBIOTIC) ON THE PERFORMANCE OF PIGLETS DURING THE TRANSITION PHASE

ABSTRACT: A total of hundred ninety-two crossbred piglets LW-Pietrain x LD-LW (barrows and gilts) with 24 ± 2 days of age and 6.52 kg BW, were used to investigate the effect of three mix of additives on the productive performance. There were four dietary treatments with additives and the same energetic and protein levels, in a design of complete randomized blocks (four blocks of 8 pens, 6 piglets/pen): A) phosphoric acid + citric acid; B) 50% A and 50% fungal prebiotic; C) fungal prebiotic; D) Control, without additives. During the prestarter phase (24-43 days of age) the piglets of treatments A and C grew more (338, 311 vs 262 g/d; A, C, D respectively, $P < 0.05$) and had a better rate of conversion (1.22, 1.21 vs 1.31 g/g; A, C, D respectively, $P < 0.05$). In the starter phase (43-65 days of age) the animals of treatment D compensated the results of the previous phase, equaling those of treatments B and C. In overall period (24-65 days of age) treatment A obtained the best final weight (22.61 vs 21.55 vs 20.83, 20.81 kg; A, C, B, D, respectively, $P < 0.05$) with the same conversion rate. We conclude that the additive of diet A (phosphoric acid + citric acid) improves the growth of piglets in the transition period in relation to a feed without additives.

Keywords: piglet, additive, antimicrobial.

Removed article

This article was not presented at the Congress

Artículo eliminado

Este artículo no fue presentado a las Jornadas

EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE ÓXIDO DE ZINC POR UNA COMBINACIÓN DE MONOGLICÉRIDOS DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA MEDIA Y ÁCIDOS ORGÁNICOS

Miranda¹, L., Fuentetaja², A., González³, V. y García³, M.

¹Universidad Católica Santa Teresa de Jesús, Ávila, ²COPESE, Segovia, España, ³F Feed and Food, S.L., Ávila, España. Email: mario@3ftec.com

INTRODUCCIÓN

Las dosis altas (3.000 mg/kg) de óxido de zinc (ZnO) se han usado intensivamente para el control de la diarrea en el período post destete en lechones. Sin embargo, debido a la resistencia antibacteriana y a los problemas ambientales, el uso de premezclas veterinarias basados en ZnO está prohibido en la UE, aunque la prohibición se hará efectiva en 2022. Por lo tanto, es necesario encontrar alternativas para reemplazar estos productos en la cría de lechones. Para abordar esta problemática, será necesario un enfoque holístico que cubra la bioseguridad, el manejo y la nutrición. Con respecto a las medidas nutricionales, probablemente será necesario reducir el nivel y aumentar la calidad de la proteína bruta, en combinación con el uso de productos que contribuyan a reducir la necesidad de usar antibióticos. Dado que es un proceso complicado en las condiciones españolas, y que el mayor consumo de ZnO se produce cuando el animal arranca a comer tras el destete, se puede establecer una estrategia intermedia retirando el ZnO tras una semana únicamente. Los monoglicéridos (MG) de los ácidos grasos de cadena media (MCFA) son ésteres de MCFA con glicerina, en un enlace muy estable que evita el sabor desagradable de los MCFA. Los MG-MCFA tienen una gran capacidad para controlar una amplia gama de microorganismos (Kabara *et al.*, 1972, Batovska *et al.*, 2009). Además, a diferencia de los ácidos orgánicos, la capacidad de regulación de la flora de los MG-MCFA no depende del pH, lo que permite mantener su actividad en todo el tracto gastrointestinal, alcanzando las partes distales del mismo. Por otro lado, la monobutirina es una fuente de ácido butírico, que ha demostrado ser un potenciador de la fisiología digestiva (Wen *et al.*, 2012). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la sustitución del ZnO en dietas de lechones postdestete por dos combinaciones de MG-MCFA con o sin ácidos orgánicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 480 lechones Duroc x (Landarce x Large white) (50% machos/hembras) de un solo lote, destetados a 28 días con $6,93 \pm 0,72$ kg. Durante los primeros 7 días post destete todos los animales comieron una dieta común basada en trigo, cebada y arroz extrusionados, haba extrusionada, suero, plasma porcino y harina de pescado (2.640 kcal de energía neta (EN)/kg, 18,4% de proteína bruta (PB) y 1,21% de Lisina digestible ileal real (Lys DIR)), con 3.100 ppm de ZnO. A los 7 días post destete, con $7,56 \pm 0,84$ kg, se distribuyeron en los tratamientos experimentales, cuyas dietas se presentaron en forma de pellet, y estaban basadas en cebada, trigo, harina de galleta y harina de soja, y contenían 2.411 kcal EN/kg, 17,8% PB y 1,18% Lys DIR.

Hubo cuatro tratamientos, i) ZnO (3.100 ppm), ii) mezcla de ácidos orgánicos tamponados (fórmico y propiónico) y MG-MCFA (C3, C4, C8, C10) a 8,5 kg/t (SEN), iii) MG-MCFA basado en monolaurina (ENM12) a 3kg/t, y iv) SEN+ENM12. La unidad experimental fue un box de 30 lechones, y hubo 4 réplicas/tratamiento. El alimento y el agua se suministraron *ad libitum*. Los animales se pesaron conjuntamente por corral a los 49, 63 y 76 días, momentos en los que se controló el consumo de alimento, para calcular el crecimiento y consumo medios diarios y la eficacia alimentaria por réplica a 35-49, 49-63, 63-76 y 35-76 días. La incidencia de mortalidad y de diarrea fue controlada diariamente.

Los datos se analizaron con un ANOVA, con el peso inicial (BW0) como covariable, y el tratamiento como efecto principal.

$$Y_{ij} = \mu + BW0_i + \text{Tratamiento}_j + e_{ij}$$

Los datos se presentan como medias corregidas por mínimos cuadrados, que se compararon mediante comparaciones por pares corregidas por Bonferroni. El límite de significación fue $P < 0,05$, y se consideró una tendencia los valores $0,10 < P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del tratamiento sobre la evolución del peso se muestra en la Tabla 1. El peso inicial fue significativo para el peso a los diferentes días de control, y para el crecimiento y el consumo de pienso en todos los intervalos estudiados. A los 47 días de vida, 12 días después del inicio de suministro de los piensos experimentales, se detectaron síntomas de diarrea en todos los tratamientos experimentales (incluyendo los del tratamiento con ZnO), y tuvieron que ser tratados con 1 cm³ de FORCYL SWINE (Marbofloxacin). El tratamiento no afectó al peso a 49, 63 ó 76 días de vida (12,00, 11,42, 11,48 y 11,32 kg, P=0,271; 19,56, 18,71, 18,62, 18,67 kg, P=0,586; y 26,27, 25,46, 25,26 y 25,35 kg, P=0,770 para ZnO, SEN, ENM12 y SEN+ENM12 a 49, 63 y 76 días, respectivamente).

El efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo medio diario y la eficacia alimentaria del periodo global se muestra en la Tabla 2. De 35 a 49 días, no hubo diferencias significativas entre tratamientos, aunque los lechones alimentados con ZnO tendieron a comer más que los de los otros tratamientos (0,490, 0,439, 0,436 y 0,452 kg/d P=0,067 para ZnO, SEN, ENM12 y SEN+ENM12, respectivamente). De 49 a 63 y de 63 a 76 días, no hubo diferencias entre tratamientos. Para el periodo global, tampoco se observaron diferencias significativas entre tratamientos (0,456, 0,437, 0,432 y 0,434 kg/d, P=0,770 para crecimiento; 0,719, 0,684, 0,672 y 0,680 kg/d, P=0,473 para consumo; y 0,634, 0,638, 0,641 y 0,637 kg/kg, P=0,978 para eficacia alimentaria, para ZnO, SEN, ENM12 y SEN+ENM12, respectivamente). La mortalidad fue de 7,6, 5,1, 4,1 y 6,7% para ZnO, SEN, ENM12 y SEN+ENM12, respectivamente.

Tabla 1. Efecto de la sustitución dietaria del ZnO por dos combinaciones de monoglicéridos de ácidos grasos de cadena media sobre la evolución del peso en lechones postdestete (el peso inicial fue utilizado como covariable).

Tratamiento*	Peso a 49 d (kg)	Peso a 63 d (kg)	Peso a 76 d (kg)
ZnO	12,00	19,56	26,27
SEN	11,42	18,71	25,46
ENM12	11,48	18,62	25,26
SEN+ENM12	11,32	18,67	25,35
EEM (n=4)	0,250	0,544	0,753
Covariable (peso a 36 días)	<0,001	<0,001	<0,001
P del tratamiento	0,271	0,586	0,770

*Tratamientos: i) ZnO (3.100 ppm), ii) mezcla de ácidos orgánicos tamponados (fórmico y propiónico) y MG-MCFA (C3, C4, C8, C10) a 8,5 kg/t (SEN), iii) MG-MCFA basado en monolaurina (ENM12) a 3kg/t, y iv) SEN+ENM12.

Tabla 2. Efecto de la sustitución dietaria del ZnO por dos combinaciones de monoglicéridos de ácidos grasos de cadena media sobre la productividad de lechones en el periodo global (35-76 días).

Tratamiento*	Crecimiento 35-76 d (kg/d)	Consumo 35-76 d (kg/d)	Eficiencia alimentaria 35-76 d (kg/kg)
ZnO	0,456	0,719	0,634
SEN	0,437	0,684	0,638
ENM12	0,432	0,672	0,641
SEN+ENM12	0,434	0,680	0,637
EEM (n=4)	0,018	0,022	0,010
Covariable (peso a 36 días)	0,0019	0,0002	0,9633
P del tratamiento	0,770	0,473	0,978

*Tratamientos: i) ZnO (3.100 ppm), ii) mezcla de ácidos orgánicos tamponados (fórmico y propiónico) y MG-MCFA (C3, C4, C8, C10) a 8,5 kg/t (SEN), iii) MG-MCFA basado en monolaurina (ENM12) a 3kg/t, y iv) SEN+ENM12.

Miranda *et al.* (2018) obtuvieron un resultado similar, mostrando un resultado equiparable al ZnO una combinación de ácidos orgánicos y MG-MCFA en dietas normales en proteína, a partir del séptimo día post destete. En este experimento, justo antes del primer control, hubo un brote de diarrea que pudo homogeneizar a los animales, pero el brote de diarrea saltó en todos los tratamientos, y los animales respondieron perfectamente al tratamiento antibiótico. Se concluye que la inclusión de diferentes mezclas de ácidos orgánicos con MG-MCFA puede ayudar a reemplazar el ZnO de las dietas a partir de 7 días post destete. No hubo diferencias entre las dos formulaciones de MG-MCFA utilizados, ni una sinergia en su uso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

▪ Batovska D.I., Todorova T., Tsvetkova I. V. & Najdenski H.M., 2009. Antibacterial Study of the Medium Chain Fatty Acids and Their 1-Monoglycerides: Individual Effects and Synergistic Relationships. *Polish Journal of Microbiology* 58: 43-47. ▪ Kabara J.J., Swieczkowski D.M., Conley A.J. & Truant J.P., 1972. Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2: 23–28. ▪ Miranda, L., Serrano, C., García, M., González, V., Medel, P., 2018. Effect of substitution of ZnO by organic acids, medium chain fatty acids monoglycerides and essential oils in high or low protein diets in piglets. *American Society of Animal Science annual Meeting, Vancouver, Canadá, Julio 8-12*: 154. ▪ Wen, Z., Lu, J., Zou, X., 2012. Effects of sodium butyrate on the intestinal morphology and DNA-binding activity on intestinal factor-kB in weaning pigs. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11: 814-821.

Agradecimientos: Este ensayo se ha realizado en el marco del proyecto Desarrollo de aditivos nutricionales para la reducción del uso de antibióticos en lechones recién destetados (ANSALUD, expediente 04 16 AV 0007) co-financiado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) de la Unión Europea y la Junta de Castilla y León, a través del Instituto para la Competitividad Empresarial de Castilla y León (ICE), con el objetivo de promover el impulso y promoción de actividades de I+D+i lideradas por las empresas y apoyo a la creación y consolidación de empresas innovadoras.

EFFECT OF THE REPLACEMENT OF ZINC OXIDE BY A COMBINATION OF MONOGLYCERIDES OF FAT ACIDS OF AVERAGE CHAIN AND ORGANIC ACIDS

ABSTRACT: A total of 480 piglets Duroc x (Landrace x Large white) weaned at 28 days were used for analyze the effect of the replacement of zinc oxide by a combination of medium chain fatty acids monoglycerides (MG-MCFA) and organic acids. During the first 7 days post weaning all the animals ate a common diet with 3,100ppm of ZnO, at then they were distributed in four experimental treatments, i) ZnO (3,100 ppm), ii) mixture of buffered organic acids (formic and propionic) and MG-MCFA (C3, C4, C8, C10) at 8.5 kg/t (SEN), iii) MG-MCFA based on monolaurin (ENM12) at 3 kg/t, and iv) SEN+ENM12. The experimental unit was a box of 30 piglets, and there were 4 replicates/treatment. The data were analyzed with an ANOVA, with the initial weight as a covariate. Piglets were treated with antibiotics at 47d of age after diarrhea symptoms (1cm3 FORCYL, 1d of treatment). No differences were observed for any of the parameters analyzed. From 35 to 49 days, piglets fed ZnO tended to eat more than the other treatments (P=0.067). It is concluded that the inclusion of different mixtures of organic acids with MG-MCFA can help to replace the ZnO of the diets from 7d after weaning.

Keywords: ZnO, piglets, monoglycerides, organic acids.

EFFECTO DE LA FUENTE Y NIVEL DE COBRE EN EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y ESTATUS MINERAL EN LECHONES DESTETADOS

Villagómez-Estrada¹, S., Solà-Oriol¹, D., van Kuijk², S., Melo-Durán¹, D. y Pérez¹, J.F.

¹Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNI BA), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

²Trouw Nutrition R&D, 3800 AG Amersfoort, Utrecht, Holanda

Email: sandra.villagomez@outlook.es

INTRODUCCIÓN

Los minerales traza, como el cobre (Cu) y el zinc (Zn), son esenciales en todas las formas de vida debido a su participación en varios procesos fisiológicos como la activación enzimática, la respuesta endocrina e inmune, y el metabolismo de carbohidratos y grasas (Olivares & Uauy, 1996; Suttle, 2010). El NRC (2012) sitúa los requerimientos mínimos, de Cu y Zn en lechones destetados, en 6 mg/kg y 100 mg/kg, respectivamente. Sin embargo, tradicionalmente, las dietas de lechones han incluido dosis más elevadas de Cu (200-250 mg/kg) y Zn (2.000-3.000 mg/kg) por sus efectos positivos en el crecimiento (Jongbloed *et al.*, 2011), control de microbiota intestinal (Pieper *et al.*, 2012) e integridad intestinal (Fry *et al.*, 2012). No obstante, esta inclusión excesiva puede reducir la disponibilidad de otros nutrientes en la dieta (Pang & Applegate, 2007), incrementar su excreción al medio ambiente y generar co-resistencia hacia otros antimicrobianos (EFSA FEEDAP Panel, 2016). Actualmente, el nivel máximo permitido de Cu para lechones hasta las 4 semanas posterior al destete es de 150 mg/kg, con una subsecuente reducción a 100 mg/kg (5-8 semanas) (EUR-Lex, 2018). En este contexto, resulta interesante evaluar fuentes minerales alternativas que permitan mantener niveles productivos aceptables pero sin afectar al medio ambiente y al estado nutricional animal. El sulfato de Cu y Zn es la fuente más utilizada en dietas para cerdos. Se caracteriza por una alta solubilidad en agua y soluciones ácidas (Park & Kim, 2016) que posiblemente incrementen su interacción con fitatos y otros minerales. Por otra parte, los hidroximinerales tienen una estructura cristalina formada por enlaces covalentes y una lenta solubilidad en el tracto gastrointestinal (Cohen & Steward, 2014). El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de dos niveles de cobre, a través de la inclusión de sulfato de cobre pentahidratado y de hidroxiclورو de cobre, en el rendimiento de los lechones post destete y la concentración mineral en órganos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Al destete, un total de 528 lechones ([Large White x Landrace] x Pietrain) de 21 días de edad y peso promedio de 5,8 kg (DS = 1,15 kg) fueron distribuidos, en base a su peso inicial, en 48 corrales (11 lechones/corral). Los corrales fueron asignados a 4 tratamientos en un diseño factorial de 2 x 2, con bloques al azar. Los factores principales comprendieron dos fuentes minerales: sulfato de Cu pentahidratado e hidroxiclورو de Cu, con dos niveles de inclusión: 15 ppm y 160 ppm. La inclusión de Zn en cada tratamiento se mantuvo en concordancia con la respectiva fuente. Como desafío, los animales fueron alojados en corrales sucios, provenientes de una crianza anterior. Durante el estudio se registraron los parámetros productivos y a su finalización un animal de cada corral fue sacrificado para evaluar la concentración mineral en hígado y tibia. La unidad experimental fue el corral y cada tratamiento estuvo representado en 12 réplicas. El periodo experimental comprendió dos fases de alimentación: pre-inicial (0-14 días) e inicial (14-42 días). El análisis de la varianza de los datos fue efectuado mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS® (versión 9.4, SAS Institute; Cary, EEUU). La normalidad y homogeneidad de los datos fueron examinados a través de los test estadísticos Shapiro-Wilk y Hovtest de SAS®. La concentración de Cu en hígado exhibió heterogeneidad, por lo que fue transformada logarítmicamente. La significación estadística fue declarada a una probabilidad $P \leq 0,05$ y la tendencia a $P \leq 0,10$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La interacción entre la fuente y el nivel mineral utilizado no afectó los parámetros de peso corporal (Tabla 1), consumo y ganancia diaria de peso en las dos etapas estudiadas (datos

no mostrados). Únicamente, el índice de conversión (IC) durante la fase inicial (14-42 d; $P=0,01$) y en la totalidad del estudio (0-42 d; $P=0,004$) fue significativamente diferente (Tabla 1). Considerando la totalidad del ensayo, el IC de los animales alimentados con sulfato a alto nivel no fue diferente del mostrado por los animales alimentados con hidroxiclورو a ambos niveles. En cuanto al análisis de factores principales, no hubo diferencias significativas entre fuentes utilizadas. No obstante, el ensayo mostró que alimentar con una dosis alta de cobre aumenta el peso corporal de los animales (16,57 vs 17,72 kg). Otras fuentes minerales han demostrado ser igual de eficientes que el sulfato (Quelatos: Coffey *et al.*, 1994; Bunch *et al.*, 1965).

Tabla 1. Efecto de la fuente y nivel de cobre en el peso corporal e índice de conversión en lechones destetados¹.

Fuente	Nivel Cu (mg/kg)	Peso corporal (kg)		Índice de conversión		
		d 14	d 42	d 0-14	d 14-42	d 0-42
Sulfato	15	7,0	16,6	1,70	1,41 ^{ab}	1,45 ^b
	160	7,4	18,0	1,38	1,30 ^a	1,31 ^a
Hidroxiclورو	15	7,1	16,5	1,51	1,36 ^{ab}	1,38 ^{ab}
	160	7,4	17,5	1,30	1,45 ^b	1,41 ^{ab}
<i>SEM</i> ²		0,074	0,282	0,095	0,037	0,029
Sulfato		7,2	17,3	1,54	1,35	1,38
Hidroxiclورو		7,2	17,0	1,40	1,40	1,39
<i>SEM</i>		0,052	0,199	0,067	0,026	0,020
	15	7,0 ^b	16,6 ^b	1,60 ^b	1,38	1,41 ^b
	160	7,4 ^a	17,7 ^a	1,34 ^a	1,37	1,35 ^a
<i>SEM</i>		0,052	0,199	0,067	0,026	0,020
<i>P-valor</i> ³						
Fuente		0,398	0,256	0,165	0,192	0,643
Nivel		<,0001	0,0002	0,008	0,676	0,045
Fuente*nivel		0,311	0,441	0,542	0,011	0,004

¹ Valor medio de 12 corrales. ² Error estándar de la media. ³ a-b: Valores dentro de la misma columna con distinta letra difieren significativamente ($P < 0,05$).

Con respecto a la concentración de Cu y Zn en el hígado (Tabla 2) no se evidenció el efecto de la interacción de los factores principales. Sin embargo, la concentración de Zn en la tibia fue significativamente mayor en los animales alimentados con hidroxiclورو a dosis alta que en aquellos alimentados con sulfato a la misma dosis (277,4 vs 256,1 mg/kg; $P=0,044$). Las concentraciones de Cu en hígado fueron más elevadas para los tratamientos con hidroxiclورو que con sulfato, con independencia del nivel añadido. Las mayores concentraciones del hidroxiclورو podrían respaldar los efectos positivos de sus características moleculares, como se ha evidenciado en otras especies animales (Spears *et al.*, 2004; Olukosi *et al.*, 2018).

En conclusión, la alimentación de lechones destetados con niveles de 160 ppm de Cu, con independencia de la fuente utilizada, resultó en un aumento significativo de peso y concentraciones minerales en los tejidos. Estos resultados van en concordancia con los niveles recientemente aprobados por la Comisión Europea, permitiendo disminuir los residuos minerales en el purín con niveles productivos aceptables.

Tabla 2. Efecto de la fuente y nivel de cobre en la concentración de cobre y zinc en tejidos de lechones destetados.

Fuente	Nivel Cu (mg/kg)	Hígado (mg/kg)		Tibia (mg/kg)
		Cu ¹	Zn	Zn
Sulfato	15	1,52 (29,6)	193,6	258,4 ^{ab}
	160	1,81 (66,5)	230,8	256,1 ^b
Hidroxiclورو	15	1,63 (46,2)	203,4	258,7 ^{ab}
	160	1,97 (98,5)	238,3	277,4 ^a
SEM ²		0,058	14,425	5,507
Sulfato		1,67 ^b (48,0)	212,2	257,2 ^b
Hidroxiclورو		1,80 ^a (72,3)	220,8	268,0 ^a
SEM		0,039	9,892	3,561
<i>P</i> valor ³				
Fuente		0,024	0,532	0,040
Nivel		<,0001	0,012	0,115
Fuente*nivel		0,676	0,935	0,044

¹ Transformación logarítmica 10 de la concentración de Cu en hígado. Valores en paréntesis muestran datos no transformados. ² Error estándar de la media. ³a-b: Valores dentro de la misma columna con distinta letra difieren significativamente ($P < 0,05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bunch, R. *et al.* 1965. J. Anim. Sci. 24: 995-999. • Coffey, R. *et al.* 1994. J Anim Sci. 72: 2880-2886. • Cohen, J. & Steward, F.A. 2014. AFMA Matrix. 23: 45-49. • EFSA FEEDAP Panel. 2016. EFSA J. 14(8): 4563. • Fry, R. *et al.* 2012. J Anim Sci. 90: 3112-3119. • Jongbloed, A.W. *et al.* 2011. Wageningen UR Lives Res Report 483: 4-12. • NRC 2012. Nutrient Requirements of Swine: 11th Revised Ed. 6: 226-227. • Olivares, M., & Uauy, R. 1996. Am J Clin Nutr. 63: 791-796. • Olukosi, O. *et al.* 2018. Poult Sci. 97: 3891-3898. • Pang, Y. & Applegate, T.J. 2007. Poult Sci. 86: 531-537. • Park, C., & Kim, B. 2016. J Anim Sci. 29: 1608-1615. • Pieper, R.W. *et al.* 2012. J Anim Physiol Anim. Nutr. 96: 825-833. • Spears, J.W. *et al.* 2004. Anim Feed Sci Tech. 116: 1-13. • Suttle, N.F. 2010. Mineral Nutrition of Livestock, 4th Edition. 255: 293.

EFFECT OF SOURCE AND COPPER LEVEL ON PRODUCTIVE PERFORMANCE AND MINERAL STATUS ON WEANED PIGLETS

ABSTRACT: Trace minerals such as copper (Cu) and zinc (Zn) are essential in all forms of life. Traditionally, pig diets include excessive levels of Cu (200-250 ppm) and Zn (2000-3000 ppm). However, due to its negative effects, the maximum level of 150 ppm was approved in Europe. The present study evaluated the inclusion of Cu, as sulfate and hydroxychloride, at levels of 15 and 160 ppm in the performance and mineral concentration in tissues of weaned piglets. The data showed that feeding piglets with high dose of Cu produced a significant increase in body weight (16.6 vs 17.7 kg; $P=0.0002$), regardless of the source used. Similarly, the mineral concentrations in the tissues increased when the added dose was increased. In the performance parameters, no significant effect of the source was observed. However, animals fed with hydroxychloride source had highest concentrations of Cu in liver and Zn in tibia. In conclusion, feeding weaned piglets at 160 ppm of Cu, regardless of the source, resulted in a significant increase in weight and tissue mineral concentrations. These results are in accordance with the levels recently approved by the European Commission, allowing reducing the mineral residues in the slurry with acceptable production levels.

Keywords: copper, sulfate, hydroxychloride, piglets.

UN AMBIENTE ENRIQUECIDO DURANTE EL PERIODO DE LACTACIÓN ES CAPAZ DE MODIFICAR LA MICROBIOTA DEL LECHÓN TRAS EL DESTETE

Saladrigas-García, M., Heng-Lun, K., Llonch, P., Pérez, JF. y Martín-Orúe, S.M.
Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments,
Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. Email: mireia.saladrigas@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Las causas y consecuencias del síndrome post-destete en lechones en la práctica comercial son bien conocidas. El conjunto de cambios ambientales, dietéticos y sociales a los que son sometidos los lechones en el momento del destete, junto con su inmadurez, tanto intestinal como inmunitaria, producen alteraciones en la función y estructura intestinal que con frecuencia se asocian con la aparición de diarreas (Lallès *et al.*, 2004; Moeser *et al.*, 2007). Para controlar dichas patologías es común el uso de antibióticos y ZnO; sin embargo, la futura abolición del uso farmacológico del ZnO (EMA, 2016), así como la necesidad de reducir el uso de antibióticos para preservar su efectividad, tanto en medicina animal como humana, hacen necesario buscar alternativas. Entre ellas, modificar el manejo de las camadas durante el periodo de lactación está siendo objeto de estudio. En ese sentido, aplicar prácticas de socialización de los lechones durante el periodo de lactancia ha mostrado resultados prometedores mejorando la adaptación social del lechón en el momento del destete (Figueroa *et al.*, 2012; Morgan *et al.*, 2014; de Ruyter *et al.*, 2017; Salazar *et al.*, 2018). Así pues, el objetivo del presente estudio fue el de determinar el posible impacto de ciertas prácticas de enriquecimiento ambiental y social, durante el periodo de lactancia, sobre el patrón de colonización microbiana intestinal del lechón con la finalidad de mejorar su respuesta al destete.

MATERIAL Y MÉTODOS

En una granja comercial, se asignaron aleatoriamente 14 cerdas lactantes y sus camadas a dos tratamientos: un tratamiento de control (CTR), con el manejo habitual, es decir sin contacto entre las camadas, y un tratamiento enriquecido (ENR) en el que se permitió que los lechones de dos camadas se relacionaran 14 días después del parto mediante la eliminación de las vallas de separación entre dos boxes. En estas camadas también se introdujeron objetos colgantes en los boxes de maternidad desde el momento del parto como enriquecimiento ambiental. Tras el destete (a los 28 días) los lechones de diferentes camadas se mezclaron siguiendo la rutina de la granja, pero respetando en la nueva distribución los tratamientos experimentales. A lo largo del estudio se realizaron dos muestreos de heces; el primero durante la lactación a día 26 de vida; y el segundo tras el destete, a día 31 de vida y 3 post-destete. Se recogieron muestras de un lechón por cerda (el animal macho de peso intermedio) (n = 14) mediante estimulación rectal. La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el kit comercial QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, West Sussex, Reino Unido). El análisis de microbiota se llevó a cabo mediante secuenciación masiva de la región V3-V4 del gen 16S RNA (Illumina MiSeq®). El análisis bioinformático incluyó el procesado de los datos primarios mediante QIIME (Caporaso *et al.*, 2010) y el análisis bioestadístico, con el programa R v3.5.2. empleando, entre otros, los paquetes phyloseq, vegan y metagenomeSeq (McMurdie & Holmes, 2013; Paulson *et al.*, 2013). La significación se estableció en $\alpha < 0,05$ y la tendencia en $\alpha < 0,10$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias ni en el número de unidades taxonómicas operativas (OTU) ni en el número de lecturas por muestra (riqueza) relacionadas con el manejo diferencial ni tampoco con el destete ($P > 0,1$). Tampoco se observaron diferencias en los índices de diversidad *alfa* (Shannon-Wiener (Shannon, 1948), Simpson y Simpson inverso (Simpson, 1949)) en relación al manejo diferencial, pero sí se observó una tendencia a incrementar tras el destete (4,5 vs. 4,7, $P = 0,09$; 0,97 vs. 0,98, $P = 0,13$; y 38,7 vs. 53,8, $P = 0,06$; para los índices de Shannon, Simpson y Simpson inverso, respectivamente). En cuanto a la

diversidad *beta* (índice de Whittaker (Whittaker, 1960)) no se observaron diferencias en ningún caso.

En relación a la estructura del ecosistema (índice de disimilitud de Bray-Curtis) no se apreciaron diferencias entre los dos grupos experimentales durante la lactación ($P_{\text{envfit}} > 0,1$) pero sí tras el destete ($P_{\text{envfit}} = 0,04$). Asimismo, y como cabría esperar, también se observó una tendencia al cambio promovido por el destete ($P_{\text{envfit}} = 0,08$) (Figura 1). El análisis de similitud o ANOSIM, muestra unos resultados muy similares: no se detecta desemejanza entre los dos tratamientos durante la lactación ($P > 0,1$), pero sí se observa una tendencia significativa en la dispersión de las OTU tras el destete ($P = 0,06$) y como resultado del efecto principal del destete ($P = 0,03$).

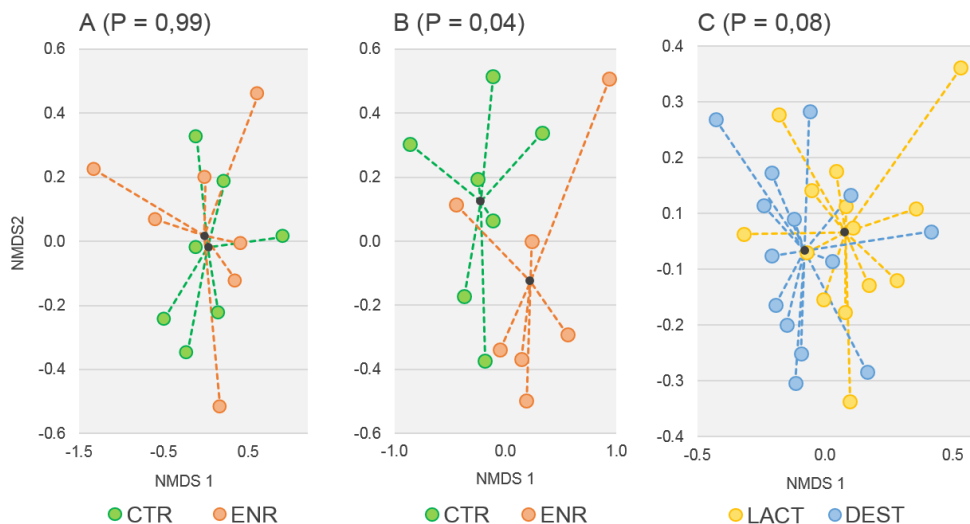


Figura 1. Gráficos de la estructura de la microbiota fecal basados en el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) de las abundancias relativas de unidades taxonómicas operativas (OTU) agrupadas por tratamiento experimental (CTR: grupo control; ENR: grupo enriquecido) o etapa de los lechones (LACT: día 26 de lactación; DEST: día 3 post-destete). Los gráficos se corresponden a la disimilitud entre los tratamientos experimentales en lactación (A), tras el destete (B), y con el destete como efecto principal (C).

En relación a los posibles cambios promovidos por el manejo diferencial en grupos microbianos concretos, en lactación no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa para ningún nivel taxonómico ($P > 0,1$). Tras el destete, tampoco se detectó ninguna diferencia significativa entre grupos a nivel de filo o familia ($P > 0,1$) aunque merece destacarse la mayor abundancia numérica del filo Proteobacteria registrada en los animales del grupo ENR (13,30% vs. 4,86%). Añadir también la tendencia observada para una mayor abundancia relativa del género *Odoribacter* en el grupo ENR (0,26% vs. 0,04%; $P = 0,06$).

En relación al posible impacto del destete, a nivel taxonómico, se encontraron tendencias estadísticas en algunas familias ($P < 0,1$). Así la familia *Lactobacillaceae* disminuyó drásticamente tras el destete (2,28% vs. 0,74%) y las familias *Erysipelotrichaceae* (1,72% vs. 3,55%) y *Coriobacteriaceae* (0,20% vs. 0,38%) incrementaron. A pesar de no detectarse diferencias significativas a nivel de género ($P > 0,1$), cabe destacarse la menor abundancia relativa en términos numéricos de *Lactobacillus* en los lechones tras el destete (2,28% vs. 0,74%) y el incremento del género *Roseburia* (0,73% vs. 2,14%).

En conclusión, el enriquecimiento de los boxes de maternidad y el manejo diferencial de las camadas no alteró la microbiota intestinal de los lechones durante la lactación, pero sí que generó la aparición de cambios en la estructura de ecosistema del intestino tras el destete, aunque dichos cambios no pudieron relacionarse con cambios significativos en taxones concretos. Estos cambios observados podrían estar relacionados en mayor medida con una mejor adaptación al estrés social del destete y no tanto al cambio en la exposición ambiental durante la lactación. Por otro lado, el efecto del destete *per se* fue evidente con incrementos en la diversidad alfa, y cambios en la estructura del ecosistema que, a nivel taxonómico, se reflejó en un claro descenso en la familia *Lactobacillaceae* tras el destete.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Caporaso, J.G. *et al.* 2010. *Nat. Methods.* 7(5), 335-336. • de Ruyter, E.M. *et al.* 2017. *Appl Anim Behav Sci.* 193: 43-50 • EMA (2016). Meeting CVMP 6-8 December 2016. EMA/794393/2016 • Figueroa *et al.* 2012. Proceedings of the 46th Congress of the International Society for Applied Ethology. 31 July – 4 August 2012. pp.116 • Lallès J-P. *et al.* 2004. *Anim. Res.* 53(4): 301–16 • McMurdie, P.J. & Holmes, S. 2013. *PLoS One.* 8(4), e61217 • Moeser A.J. *et al.* 2007. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 292(1): G173–G181. • Morgan, T. *et al.* 2014. *Appl Anim Behav Sci.* 158, 23-33 • Paulson, J.N. *et al.* 2013. Bioconductor package 1.0 • Salazar, L.C. *et al.* 2018. *Appl Anim Behav Sci.* 206: 25-31. • Shannon, C.E. 1948. *Bell Syst. Tech. J.* 27: 379–423. • Simpson, E.H. 1949. *Nature.* 163, 688. • Whittaker, R.H. 1960. *Ecol Monogr.* 30: 279-338.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (proyecto AGL2016-75463-R).

ENVIRONMENTAL ENRICHMENT DURING LACTATION: AN OPPORTUNITY TO MODULATE PIGLETS' GUT HEALTH AFTER WEANING

ABSTRACT: Hypothesis: changes in the handling of piglets during lactation could modulate the maturation of intestinal microbiota at weaning. In a commercial farm, 48 maternity sows and their litters were allotted to two treatments: a control treatment (CTR) with no contact between litters; and an enriched treatment (ENR) in which piglets from two litters were mixed 14 days post-partum by removing the separating fences. Moreover the farrowing pen was fitted with hanging objects. Piglets from different litters were mixed after weaning (28 days) as in commercial practice, being experimental treatments respected. Faecal samples were collected from 7 piglets/treatment before (d26) and after (d31) weaning. Faecal microbiome was analyzed by sequencing the 16S RNA gene (Illumina MiSeq®) and data analysis performed with QIIME and R program. No significant changes promoted by treatments were found in microbiota during lactation. However, dissimilarities were observed after weaning ($P_{\text{envfit}} = 0.04$) although no significant changes were detected in particular taxa. Weaning had an evident impact in the microbiota structure with increases in α -diversity and a clear decrease in *Lactobacillaceae* family. These results confirm that differential handling during lactation is able to modulate the piglets' gut ecology after weaning most probably by an improvement coping social stress.

Keywords: Weaning, microbiota, social stress, piglets.

EVALUACION A LARGO PLAZO DE LA ADMINISTRACION DE DOS CEPAS PROBIÓTICAS DE *BACILLUS SP.* EN EL RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE CERDAS COMERCIALES Y SU MICROBIOTA INTESTINAL

Saladrigas-García¹, M., Solà-Oriol¹, D., López-Vergé¹, S., Nielsen², B., Pérez¹, J.F. y Martín-Orúe¹, S.M.

¹Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. ²Chr. Hansen A/S, Boege Allé 10-12, 2970 Hoersholm, Dinamarca. Email: mireia.saladrigas@uab.cat

INTRODUCCIÓN

En los sistemas actuales de producción intensiva, la cerda reproductora debe alcanzar elevados índices reproductivos lo que supone en ocasiones un reto difícil de lograr. Los probióticos se han propuesto como una herramienta útil para mejorar su rendimiento, incrementando el consumo en lactación, reduciendo la movilización de reservas, promoviendo una mayor calidad en la producción de leche y un mayor peso de camada al destete (Alexopoulos *et al.*, 2004; Böhmer *et al.*, 2006; Stamati *et al.*, 2006; Hayakawa *et al.*, 2016). Algunas cepas de *Bacillus* spp. han demostrado además ser capaces de promover la salud digestiva (Sun *et al.*, 2010; Novak *et al.*, 2012), evidenciando actividad inhibitoria contra bacterias patógenas (Guo *et al.*, 2006; Larsen *et al.*, 2014). El objetivo del presente estudio fue evaluar, en cerdas reproductoras, el efecto de administrar, durante tres ciclos consecutivos, una de dos cepas probióticas: *Bacillus subtilis* 25841 o *Bacillus amyloliquefaciens* 25840. Particularmente se analizó su impacto sobre su rendimiento reproductivo y sobre la microbiota intestinal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 90 cerdas reproductoras comerciales (Landrace x Yorkshire) similares en términos de paridad ($2,83 \pm 0,14$) y peso corporal ($211,8 \pm 1,10$ kg). Al inicio del estudio (primer ciclo), las cerdas fueron distribuidas al azar en tres tratamientos dietéticos ($n = 30$): (i) grupo control con dieta estándar (CON); (ii) dieta control suplementada con 5×10^8 cfu/kg *B. subtilis* 25841 (PR1); y (iii) dieta control suplementada con 5×10^8 cfu/kg *B. amyloliquefaciens* 25840 (PR2). Los tratamientos se administraron durante la totalidad del período experimental. Las cerdas fueron alojadas en jaulas individuales hasta gestación confirmada (30 días de gestación), seguidamente fueron alojadas en grupo hasta los 107 días de gestación y finalmente fueron trasladadas a las salas de maternidad, donde permanecieron con sus lechones hasta el destete. El periodo experimental contempló tres ciclos reproductivos completos. El número de cerdas en el ciclo 2 y 3 fue menor debido al reemplazo y movimiento normal de animales (58 y 45 cerdas, respectivamente). Se recogieron los datos productivos, tanto referentes al peso, consumo y grasa dorsal de las cerdas como a su rendimiento en el parto y al destete. Durante el tercer ciclo se recogieron muestras fecales para el estudio de la microbiota intestinal los días 8 y 21 de lactación ($n = 13$, $n = 11$ y $n = 14$ para CON, PR1 y PR2, respectivamente). El análisis de microbiota se llevó a cabo mediante secuenciación masiva del gen 16S RNA (Illumina MiSeq). El análisis estadístico de los datos productivos se realizó mediante un ANOVA de dos vías con el programa R v3.5.1. El análisis bioinformático de la microbiota se llevó a cabo mediante los programas QIIME (Caporaso *et al.*, 2010) para el procesado de los datos primarios, y R v3.5.2. para el análisis bioestadístico, utilizando entre otros, los paquetes *phyloseq*, *vegan* y *metagenomeSeq* (McMurdie & Holmes, 2013). La significación se estableció en $\alpha < 0,05$ y la tendencia en $\alpha < 0,10$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo de los tres ciclos no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al consumo medio diario, la pérdida de peso corporal ni la movilización de grasa dorsal de las cerdas durante la lactación ($P > 0,1$). Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas en el rendimiento reproductivo de las cerdas (Tabla 1). Ambos grupos suplementados mostraron un mayor número de lechones nacidos totales y nacidos vivos por

cerda (P=0,01). Las cerdas que recibieron la dieta PR2 presentaron también un mayor número de nacidos vivos (P=0,01) y lechones destetados (P=0,002). Asimismo, se observó un efecto del ciclo en el número de lechones destetados por cerda, independientemente del tratamiento, lo que refleja un incremento asociado a la paridad de las cerdas. No se observó interacción en ninguna de las variables de estudio.

Tabla 1. Rendimiento reproductivo de las cerdas a lo largo de tres ciclos completos para cada grupo experimental (CON: dieta estándar; PR1: CON + 5×10^8 cfu/kg *B. subtilis* 25841; y PR2: CON + 5×10^8 cfu/kg *B. amyloliquefaciens* 25840). Los resultados se presentan como la media \pm la desviación estándar.

	CON	PR1	PR2	P-valor
Lechones totales	18,3 ^a \pm 4,02	19,5 ^{ab} \pm 4,38	20,7 ^b \pm 4,36	0,009
Nacidos vivos	15,7 ^a \pm 3,05	15,7 ^a \pm 3,72	17,4 ^b \pm 3,60	0,009
Nacidos muertos	1,8 \pm 1,69	2,5 \pm 2,02	2,1 \pm 2,11	0,129
Momificados	0,9 \pm 1,37	1,3 \pm 1,43	1,2 \pm 1,37	0,215
Destetados	13,9 ^a \pm 1,13	13,6 ^a \pm 1,13	14,4 ^b \pm 0,98	0,001

^{a,b} valores en cada fila significativamente diferentes (P<0,05).

Con respecto a la microbiota fecal, no se registraron cambios significativos en la biodiversidad alfa, ni beta, pero si se observó una tendencia a cambios en la estructura del ecosistema (prueba ANOSIM, P = 0,08). En relación a los cambios en grupos microbianos concretos, se observó una reducción significativa en el filo Bacteroidetes (22,4, 18,7 y 18,6%, para CON, PR1 y PR2, respectivamente; P = 0,03) y una tendencia para una mayor ratio Firmicutes:Bacteroidetes en las cerdas suplementadas (3,7, 5,3 y 4,6; para CON, PR1 y PR2, respectivamente; P = 0,10). Cambios similares han sido también observados por otros autores (Cui *et al.*, 2013) y han sido relacionados con un mayor crecimiento y metabolismo lipídico. También se observaron cambios significativos en algunas familias concretas (Tabla 2), con disminuciones en Prevotellaceae (9,4, 7,3 y 7,3%; para CON, PR1 y PR2, respectivamente; P = 0,03) y Ruminococcaceae (16,1, 13,1 y 13,7%, para CON, PR1 y PR2, respectivamente; P = 0,04). Varios géneros también fueron modificados por las cepas probióticas, como *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Megasphaera*, *Oscillospira*, *Dorea*, *Blautia* o *Roseburia*.

Tabla 2. Top 10 de las familias con mayor representación en la microbiota fecal de las cerdas para cada grupo experimental (CON: dieta estándar; PR1: CON + 5×10^8 cfu/kg *B. subtilis* 25841; y PR2: CON + 5×10^8 cfu/kg *B. amyloliquefaciens* 25840). Los resultados se presentan como la media \pm la desviación estándar.

	CON	PR1	PR2	P-value
<i>Clostridiaceae</i>	15,8 \pm 8,15	19,9 \pm 9,46	22,8 \pm 8,59	0,594
<i>Ruminococcaceae</i>	16,1 ^a \pm 4,84	13,1 ^b \pm 3,85	13,7 ^b \pm 3,06	0,039
<i>Turicibacteraceae</i>	9,7 \pm 12,9	11,8 \pm 8,91	10,7 \pm 4,86	0,943
<i>Prevotellaceae</i>	9,5 ^a \pm 5,88	7,3 ^b \pm 5,45	7,3 ^b \pm 4,87	0,032
Desconocido	8,1 \pm 3,28	7,6 \pm 2,90	8,3 \pm 3,50	0,147
<i>Lachnospiraceae</i>	5,6 ^a \pm 2,19	4,5 ^b \pm 1,66	5,0 ^{ab} \pm 1,07	0,039
<i>Lactobacillaceae</i>	4,1 \pm 4,25	6,1 \pm 7,37	4,9 \pm 6,46	0,639
<i>Bacteroidaceae</i>	4,7 \pm 5,05	4,4 \pm 4,96	3,9 \pm 3,94	0,147
<i>Peptostreptococcaceae</i>	3,4 \pm 2,27	4,1 \pm 2,05	4,4 \pm 2,22	0,626
<i>Spirochaetaceae</i>	3,4 \pm 2,38	2,8 \pm 2,38	3,1 \pm 2,20	0,259

^{a,b} valores en cada fila significativamente diferentes (P<0,05).

En conclusión, la adición de *B. amyloliquefaciens* 25840, de forma ininterrumpida durante tres ciclos consecutivos, mejoró el rendimiento reproductivo de las cerdas en términos de prolificidad. Asimismo, la cepa de *B. amyloliquefaciens* 25840 también exhibió un aumento en el número de lechones destetados por camada. La administración de probióticos a lo largo de tres ciclos completos demostró tener un claro impacto en el ecosistema microbiano intestinal además de incrementar el ratio Firmicutes:Bacteroidetes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Alexopoulos, C. *et al.* 2004. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 88(11-12): 381-392. • Böhmer, B.M. *et al.* 2006. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 90(7-8): 309-315. • Caporaso, J.G. *et al.* 2010. *Nat Methods* 7(5): 335-336. • Cui, C. *et al.* 2013. *Genet Mol Res.* 12(2): 1766-1776. • Guo, X. *et al.* 2006. *Antonie Leeuwenhoek.* 90(2): 139-146. • Hayakawa, T. *et al.* 2016. *Anim Sci J* 87(12): 1501-1510. • Larsen, N. *et al.* 2014. *Appl Microbiol Biotechnol* 98(3): 1105-1118. • McMurdie, P.J. & Holmes, S. 2013. *PLoS One* 8(4): e61217. • Novak, K.N. *et al.* 2012. *Res Vet Sci.* 92(3): 427-434. • Reglamento (CE) No 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo. • Stamati, S. *et al.* 2006. *Int J Probiotics Prebiotics.* 1(1): 33-40. • Sun, P. *et al.* 2010. *J Dairy Sci* 93(12): 5851-5855.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (proyecto AGL2016-75463-R).

EVALUATION OF LONG-TERM ADMINISTRATION OF TWO BACILLUS STRAINS IN COMMERCIAL SOWS ON PERFORMANCE AND FAECAL MICROBIOTA

ABSTRACT: The effect of long-term administration of two different *Bacillus* strains was tested on 90 breeding sows that were randomly allotted into three treatments: a control group (CON); and CON supplemented with 5×10^8 cfu/kg *B. subtilis* 25841 (PR1); or 5×10^8 cfu/kg *B. amyloliquefaciens* 25840 (PR2). Reproductive parameters were registered along the three reproductive cycles. Faecal samples were taken on days 8 and 21 of the third lactation for microbiota analysis by Illumina MiSeq 16S RNA. Supplemented groups showed higher number of born piglets per litter ($P=0.01$) and PR2 sows a higher number of born alive ($P=0.01$) and weaned piglets ($P=0.001$). Regarding fecal microbiota changes were found in community structure (ANOSIM test, $P=0.08$) with changes at phylum level (Firmicutes:Bacteroidetes: 3.7, 5.3 and 4.6, $P=0.10$) and at family level (*Prevotellaceae*: 9.4, 7.3, 7.3% ($P=0.03$) and *Ruminococcaceae*: 16.1, 13.1, 13.7% ($P=0.04$)). Several genera were also modified by the probiotic strains including *Prevotella*, *Ruminococcus* and *Megasphaera*, among others. In conclusion, the addition of *B. subtilis* 25841 and *B. amyloliquefaciens* 25840 were sown to enhance the sow reproductive performance in terms of prolificacy with a clear impact on the gut microbial ecosystem.

Keywords: Probiotic, *Bacillus*, sows, performance.

ADITIVOS FITOGÉNICOS EN CERDAS HIPERPROLÍFICAS: EFECTOS SOBRE SUS PARÁMETROS PRODUCTIVOS, LA COMPOSICIÓN DEL CALOSTRO Y LECHE, Y LA TRANSFERENCIA MATERNA DE COMPUESTOS

Reyes-Camacho¹, D., Calvo², M.A., Pérez¹, J.F. y Solà-Oriol¹, D.

¹Servicio de Nutrición y Bienestar Animal. ²Microbiología Aplicada y Medioambiental.

Universidad Autónoma de Barcelona. Edificio V, 08193 Bellaterra, Barcelona., España.

Email: david.reyes@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La selección genética, en el sector porcino, ha derivado entre otros cambios en un incremento del tamaño promedio de la camada. Sin embargo, el peso medio de los lechones al nacimiento y la supervivencia neonatal han disminuido simultáneamente (De Vos *et al.*, 2014). El resultado es también una mayor variabilidad del peso de los lechones en la camada, que se traslada posteriormente sobre todo el crecimiento de los animales (López-Vergé *et al.*, 2018). Desafortunadamente, el incremento en el tamaño de la camada puede tener también consecuencias negativas sobre la longevidad reproductora y la productividad global de la cerda hiperprolífica y su progenie (Lapointe, 2014). La alimentación de la cerda durante la gestación y la lactación cobran un papel relevante. En este sentido, se han documentado resultados positivos asociados a la suplementación de aditivos botánicos (fitogénicos) durante los periodos de gestación y/o lactación de la cerda; destacando efectos sobre la fisiología, productividad y salud de la cerda y la camada (Wang *et al.*, 2008; Zhong *et al.*, 2011). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con compuestos fitogénicos en dietas de gestación y/o lactación de cerdas hiperprolíficas sobre los parámetros productivos de las cerdas y sus camadas y las características químicas del calostro y leche; así como, la transferencia materna de compuestos fitogénicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 75 cerdas DanBred (Landrace x Yorkshire), con una media de partos de 2,73 y 214,7 kg de peso vivo (PV), que fueron distribuidas homogéneamente por peso y número de parto en condiciones comerciales dentro de tres tratamientos: 1) cerdas alimentadas durante la gestación y lactación con dietas no suplementadas (C); 2) cerdas alimentadas con la dieta control durante la gestación y la dieta de lactación suplementada con 1 kg/T de fitogénico DELACON (L); 3) cerdas alimentadas con las dietas control de gestación y lactación, ambas suplementadas con el producto fitogénico (G+L). El producto fitogénico contenía entre otros compuestos anetol y timol como compuestos mayoritarios. Se evaluó el PV y grasa dorsal (BF) de las cerdas al servicio, parto y destete. Se registró el consumo diario individual de alimento durante gestación y lactación; el número y peso de lechones nacidos totales (NT), nacidos muertos (NM) y nacidos vivos (NV).

Durante las 24-48 horas post-parto se estandarizaron las camadas de mismo tratamiento a 15 lechones. Asimismo, se registró el PV individual del lechón post-adopción y al día 20 de lactación. Se recolectaron muestras individuales de líquido placentario (50 ml) y leche al día 20 (30 ml) para determinar la transferencia de los compuestos fitogénicos por espectrometría de masas. Se recogieron muestras de calostro y leche (d 20) para determinar el porcentaje (%) de proteína, grasa y cenizas. Se determinó la capacidad bacteriostática de la leche ante *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum* y *Candida albicans*; y se calculó el intervalo destete-estiro. La unidad experimental en gestación fue la cerda individual, mientras que en lactación fue la cerda con su camada. Los resultados fueron analizados mediante un test ANOVA ($P \leq 0,05$) usando el GLM del paquete estadístico SAS® (v 9.4), y el test Shapiro-Wilk para corroborar normalidad en la distribución de datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para el PV, BF, el consumo de alimento de las cerdas, ni en el intervalo destete-cubrición ($P > 0,05$). No existió diferencia en el tamaño y el peso de la camada al nacimiento. El número de lechones NV fue mayor para G+L respecto a C; sin embargo, el peso del lechón NV fue mayor en C frente a G+L ($P \leq 0,05$). No se observaron diferencias para la ganancia de peso en los lechones al día 20 de

lactación. Asimismo, la mortalidad al destete fue menor ($P \leq 0,05$) en G+L frente a C y L respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros productivos de cerdas suplementadas con compuestos fitogénicos durante la lactación (L) o durante la gestación y la lactación (G+L) respecto a no suplementadas (C).

Parámetro	C	L	G+L	SEM	P-value
Peso vivo de la cerda, kg					
Servicio	209,3		220,2	4,56	0,16
Estandarizado parto ¹	240,8	241,7	251,5	8,27	0,60
Destete	231,6	228,2	247,4	8,40	0,18
Pérdida en lactación, kg	-9,2	-13,5	-4,1	3,99	0,26
Espesor grasa dorsal, mm					
Servicio	13,1		15,0	0,58	0,07
Parto	13,8	14,6	12,7	1,03	0,63
Destete	12,2	12,2	13,3	0,90	0,64
Pérdida en lactación, mm	-1,6	-2,4	0,6	0,64	0,12
Consumo de alimento, kg					
Gestación	302		306,4	1,72	0,06
Consumo diario lactación d 20	5,97	6,29	6,43	0,22	0,36
Consumo total estandarizado ²	421,4	427,8	435,1	4,90	0,23
Intervalo destete-estrus, días	3,8	4,4	3,9	1,09	0,45
Lechones nacidos totales	17,4		19,1	0,76	0,19
Peso lechón, kg	1,24		1,14	0,92	0,86
Lechones nacidos vivos	14,9 ^b		17,5 ^a	1,04	0,02
Peso lechón, kg	1,34 ^a		1,17 ^b	0,05	0,04
Lechones/camada post-adopción	14,3	14,9	14,9	0,16	0,06
Peso lechón, kg	1,48	1,43	1,33	0,07	0,34
Lechones/camada lactación d 20	14,2 ^b	15,0 ^a	14,4 ^{ab}	0,19	0,03
Peso lechón, kg	4,93	5,03	4,70	0,23	0,60
Ganancia de peso lechón d 20, kg	3,45	3,63	3,37	0,19	0,49
Lechones destetados	13,8 ^{ab}	14,1 ^b	14,5 ^a	0,17	0,04

^{ab}Letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes. ¹Peso de la cerda menos peso de la camada al nacimiento. ²Consumo durante la gestación más consumo al d 20 de lactación.

El calostro de las cerdas G+L presentó un mayor contenido de proteína respecto a L y C. Mientras que los niveles más altos de grasa en leche se observaron en G+L y L (Tabla 2). La leche de cerdas G+L mostró actividad bacteriostática frente a *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* en un 6,8 y 9,5%, respectivamente (Tabla 3). En relación a la transferencia materna de algunos de estos compuestos fitogénicos, en el líquido placentario de las cerdas G+L se obtuvieron incrementos proporcionales en la concentración de anetol por 2,75 y 17,63 para el timol respecto a las cerdas C. En las muestras de leche, no se observaron diferencias entre tratamientos para el anetol; sin embargo, las concentraciones de timol se incrementaron en proporción de 1,16 en L y 1,68 en G+L respecto las cerdas C. Los resultados anteriores indican que el complejo fitogénico suplementado en la dieta de gestación de cerdas hiperprolíficas, fue capaz de incrementar el número de lechones nacidos vivos, e incrementar el contenido en proteína del calostro. Además, se pudo observar que anetol y timol pueden llegar a ser maternalmente transferibles al lechón durante la gestación vía líquido placentario. Su incorporación durante la gestación y/o lactación logró atenuar durante la lactación la diferencia de peso presentada al nacimiento en lechones de camadas de mayor tamaño, e incrementar el contenido de grasa en la leche. Se observó que el timol puede ser transferido a la leche donde se identificó actividad bacteriostática de aquellas cerdas suplementadas en G+L. Los resultados son interesantes

en la medida que pueden conllevar cambios en la microbiota del lechón lactante y posibles implicaciones por estudiar a nivel de salud intestinal pre y post-destete.

Tabla 2. Composición del calostro y de la leche de cerdas suplementadas con compuestos fitogénicos durante la lactación (L) o durante la gestación y la lactación (G+L) frente a no suplementadas (C).

Parámetro	C	L	G+L	SEM	P < Trat
Calostro (%)					
Proteína	15,71 ^b	15,81 ^b	20,83 ^a	0,41	0,001
Grasa	5,57	5,76	6,08	0,18	0,19
Cenizas	0,68	0,67	0,70	0,01	0,31
Leche (%)					
Proteína	6,81	6,64	6,10	0,20	0,11
Grasa	7,03 ^b	8,96 ^a	9,45 ^a	0,35	0,001
Cenizas	0,79	0,79	0,79	0,01	0,96

^{ab}Letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes.

Tabla 3. Actividad bacteriostática en la leche de cerdas suplementadas con compuestos fitogénicos durante la lactación (L) o durante la gestación y la lactación (G+L) en relación a no suplementadas (C).

Microorganismo	C	L	G+L
	n= 7	n= 8	n= 7
<i>Bacillus subtilis</i>	NI ¹	NI	6 (6,8) ²
<i>Escherichia coli</i>	NI	NI	NI
<i>Staphylococcus aureus</i>	NI	NI	7 (9,5)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	NI	NI	NI
<i>Candida albicans</i>	NI	NI	NI

¹No efecto inhibidor. ²Numero de muestras con efecto inhibidor y porcentaje (%) de inhibición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- De Vos M., Che L., Huygelen V., Willemsen S., Michiels J., Van Cruchten S., Van Ginneke C. 2014. J Anim Physiol Anim Nutr 98: 609-619.
- Lapointe, J. 2014. Anim Physiol Anim Nutr. 98: 809-821
- López-Vergé S., Gasa J., Farré Mercè, Coma J., Bonet J., Solà-Oriol D. 2018. Translational Anim Sci 2: 383-395.
- Wang Q., Kim H.J., Cho J.H., Chen Y.J., Yoo J.S., Min B.J., Wang Y., Kim I.H. 2008. J Anim Feed Sci 17: 50-60.
- Zhong M., Wu D., Lin Y., Fang Z.F. 2011. J Agri Sci Technol 1: 802-810.

DIETARY SUPPLEMENTATION OF PHYTOGENIC COMPOUNDS IN HYPERPROLIFIC SOWS: EFFECTS ON PERFORMANCE, COLOSTRUM AND MILK COMPOSITION AND MATERNAL TRANSFER OF COMPOUNDS

ABSTRACT: In order to determine the effects of phytogetic supplementation in commercial hyperprolific sows on performance, colostrum-milk composition and maternal transfer of compounds; 75 sows were distributed into three treatments: 1) no supplemented sows (C); 2) supplemented sows diet with phytogetic in lactation (L); 3) supplemented sows diet during gestation and lactation (G+L). There were no significant differences on sows and suckled piglets performance. The number of piglets born live was higher in G+L. The piglet newborn weight was higher in Control; however, it was balance among treatments during lactation. The protein level in colostrum was higher in G+L, whereas, the milk fat content was higher in G+L and L. Likewise; the milk of G+L showed a bacteriostatic capacity against *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. The pre-weaning mortality was lower in G+L; and was determinate the maternal transfer of anethole and tymol through placental liquid and milk.

Keywords: Phytogetic, hyperprolific sow, performance, colostrum-milk, maternal transfer.

PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE CERDAS IBÉRICAS EN LACTACIÓN ALIMENTADAS CON DIETAS DE DISTINTA CONCENTRACIÓN PROTEICA

Lachica¹, M., Fernández-Figares¹, I., Seiquer¹, I., Lara¹, L., Sánchez-Esquiliche², F., Gómez-Carballar², F., Pariente², J.M. y Nieto¹, R.

¹Departamento de Fisiología y Bioquímica de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Camino del jueves s/n, 18100 Armilla, Granada.

²Sánchez Romero Carvajal Jabugo S.A., El Puerto de Santa María, Cádiz.

Email: rosa.nieto@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

El cerdo Ibérico presenta necesidades nutricionales específicas y diferenciadas, en comparación con cerdos de razas magras, durante las distintas fases de su crecimiento-cebo, acorde con su ritmo de crecimiento más lento, diferencias sustanciales en el depósito de proteína y grasa en sus tejidos y características metabólicas específicas (Fernández-Figares *et al.*, 2007; Nieto *et al.*, 2012). La cerda Ibérica lactante también presenta diferencias respecto a las cerdas de razas convencionales, como menor peso corporal y menor tamaño de camada; sin embargo, no se han realizado estudios sistemáticos específicos para determinar sus necesidades nutricionales durante esta fase fisiológica. En un estudio previo, Gómez-Carballar *et al.* (2013) observaron pérdidas de peso elevadas (600-700 g/d) en cerdas Ibéricas lactantes alimentadas durante la última fase de la gestación con dietas de distinta concentración proteica (101 a 120 g de proteína bruta-PB/kg de materia seca) y dos niveles de ingesta energética (33.4 y 29.1 MJ de energía metabolizable-EM/d), que recibieron una dieta común durante la lactación (148 g PB, 10,3 g Lisina (Lys) y 12,5 MJ EM). Este ritmo de pérdida de peso sugiere una baja eficiencia de conversión de la energía y la proteína dietética en la cerda Ibérica para la síntesis de leche. Con estos antecedentes, el presente experimento se ha diseñado para evaluar el efecto del nivel proteico de la dieta (de perfil aminoacídico ideal; NRC, 2012) sobre los parámetros productivos de la cerda Ibérica lactante con el objetivo de definir un régimen nutricional óptimo para esta fase productiva.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó con 28 cerdas Ibéricas puras (estirpe Silvela, de tercera a sexta paridera). Tras el parto, comenzaron a recibir una de las 4 dietas experimentales de lactación, con distribución homogénea de parideras entre tratamientos experimentales ((4 dietas o tratamientos), 7 madres/tratamiento; dietas experimentales: control (T1), baja (T2), media (T3) y alta (T4) concentración proteica, con 13% PB y 0,8% Lys total, 12,3 %PB y 0,7% Lys, 13,9% PB y 0,9% Lys, y 14,8% PB y 1% Lys, respectivamente). Los animales recibieron 1,5 kg de dieta el día del parto, aumentando en 0,6 kg/d, hasta llegar a 4,5 kg/día a los 5 días post-parto disponiendo de agua a voluntad. Los lechones sólo recibieron leche materna. Tras el parto, se llevó a cabo la pesada de las cerdas, la medida del espesor de grasa dorsal por ultrasonidos a nivel de la última costilla (P2) y la toma de muestras de sangre. Al nacimiento se contaron el número total de lechones por camada, los nacidos vivos, y se pesaron los lechones individualmente. En los dos días siguientes al parto se realizó ahijamiento cruzado cuando fue necesario para lograr camadas de 7 lechones. El día 12 tras el nacimiento, se volvieron a pesar las madres y las camadas. A la mitad de la lactancia se tomaron muestras de leche en 6 madres por grupo experimental, previa inyección de oxitocina (10 UI). La lactancia se prolongó durante 28 ± 2 días. Al término de esta, se pesaron las madres, se les midió el P2 y se volvieron a tomar muestras de sangre. Se anotó el número de lechones destetados por camada y se pesaron los lechones individualmente. En cada camada se seleccionó un lechón de peso similar a la media para su sacrificio y análisis de composición corporal.

Las muestras de leche, plasma, y los lechones sacrificados se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento y análisis. En las muestras de leche y canales se determinaron proteína (N total, método Dumas), materia seca, cenizas, grasa (extracción por Soxhlet) y energía bruta (bomba isoperibólica), y en el plasma la concentración de metabolitos. Se realizó un

análisis de varianza (ANOVA) para comprobar el efecto del nivel proteico de la dieta sobre los parámetros estudiados. La unidad experimental fue la cerda, el lechón o la camada en función de las variables analizadas. Las diferencias se consideraron significativas para un valor de $P \leq 0,05$. Se ha utilizado el software estadístico StatGraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc. USA, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 aparecen parte de las variables registradas durante el periodo experimental. No se apreciaron diferencias significativas entre estos parámetros en el momento del parto (peso corporal y espesor de grasa dorsal en las cerdas, lechones nacidos totales, nacidos vivos, etc.). Tampoco se observó ningún efecto significativo en el peso de las madres registrado el día 12 de lactación, ni en el número de lechones destetados entre tratamientos. La pérdida de peso de las cerdas durante la lactancia fue numéricamente inferior en los tratamientos T3 y T4 (al igual que la disminución del espesor de grasa dorsal), pero en ningún caso estos efectos fueron significativos. No se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales de cerdas para las concentraciones plasmáticas de glucosa, creatinina, colesterol ni urea, ni con las obtenidas al inicio de la lactación ($P > 0,05$), excepto por una mayor concentración de triglicéridos en los animales muestreados tras el parto respecto a los valores observados al destete (39,2 vs 22,3 mg/100 ml; $P < 0,05$), lo que podría indicar menor captación de estos compuestos en los depósitos grasos en favor de su utilización en la glándula mamaria para la síntesis de leche ($P < 0,05$) en los primeros días tras el parto.

Tabla 1. Datos productivos de cerdas Ibéricas en lactación alimentadas con dietas de distinta concentración proteica.

Tratamiento ¹	T1	T2	T3	T4	EEM	P valor ²
Nº Parto	4,6	4,6	4,6	4,7	0,41	0,993
Peso tras el parto, kg	161	158	150	161	5,3	0,388
P2 tras el parto, mm	23,0	24,6	21,2	22,9	1,84	0,643
Peso día 12 de lactancia, kg	165	156	153	166	6,0	0,337
Peso al destete, kg	153	150	145	156	6,1	0,621
Días en lactación	28,9	27,7	30,0	27,7	1,04	0,366
P2 al destete, mm	19,5	22,6	19,2	22,0	1,77	0,422
Diferencia P2 (destete-parto), mm	-3,5	-2,0	-2,0	-0,9	1,27	0,564
Pérdida de peso en lactación, kg	8,1	8,3	4,7	5,3	2,30	0,584
Pérdida de peso en lactación, g/d	302	305	161	191	85,5	0,527
Nacidos totales	9,3	10,0	9,6	7,7	0,73	0,159
Nacidos vivos	7,4	7,7	6,0	6,6	0,89	0,515
Lechones destetados ³	6,3	6,4	6,4	6,4	0,29	0,981

¹ T1, T2, T3 y T4: tratamiento control, con baja, media y alta concentración proteica, respectivamente (aportan 13%, 12,3 %, 13,9% y 14,8% PB, respectivamente).

²n = 7 cerdas por tratamiento experimental.

³Las camadas se igualaron a 7 lechones por ahijamiento cruzado.

Las diferencias en composición en proteína, grasa, sólidos totales, lactosa, energía bruta y minerales de la leche detectadas entre grupos experimentales fueron mínimas. Sólo se observó una tendencia hacia una mayor cantidad de sólidos totales y energía, asociados a una concentración de grasa ligeramente mayor, en las cerdas que consumieron el

tratamiento T1 ($0,5 < P < 0,10$). Los valores obtenidos en composición nutricional de la leche fueron similares a las observadas por Aguinaga *et al.* (2011) en cerdas Ibéricas en lactación. En cuanto a los cambios en composición corporal de los lechones durante el periodo de lactación, no se apreció ningún efecto significativo entre tratamientos, excepto por una tendencia numérica hacia una mayor concentración de proteína y agua, y menor de grasa en los lechones de los tratamientos T3 y T4 (en ningún caso significativa), que serán contrastados con análisis posteriores para su confirmación.

De los resultados obtenidos se deduce que el aumento de la concentración proteica de la dieta en cerdas Ibéricas lactantes respecto al nivel considerado control (130 g proteína y 8 g Lys total/kg), no conlleva ningún beneficio adicional sobre los parámetros productivos analizados en el presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Aguinaga *et al.* 2011. *Animal* 5: 1390-1397 • Fernández-Figares *et al.* 2007. *Livest. Sci.* 10: 73-81. • Gómez-Carballar *et al.* 2013. *Anim. Feed Sci. Tech.* 181: 72-79. • Nieto, R. *et al.* 2012. *J. Anim. Sci.* 90: 3809-3820. • NRC. 2012. *Nutrient Requirements of Swine*. 11th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Agradecimientos: Financiado por el programa de la UE H2020, 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 su inestimable colaboración en la realización de este estudio.

PERFORMANCE OF IBERIAN LACTATING SOWS FED DIETS OF DIFFERENT PROTEIN CONCENTRATION

ABSTRACT: The aim of this work was to evaluate the effect of dietary protein level -of optimum amino acid profile- on the productive parameters of the lactating Iberian sow with the aim of defining an optimal nutritional regime for this productive phase. Twenty-eight pure Iberian sows of Silvela strain, from third to sixth parity were used. After delivery, they were fed one of 4 experimental lactation diets, with homogeneous distribution of parities among treatments (4 treatments, 7 mothers / treatment). The experimental diets were as follows: control (T1), low (T2), average (T3) and high (T4) protein concentration, providing 13% of crude protein (CP) and 0.8% total lysine (Lys), 12.3% CP and 0.7% Lys, 13.9% CP and 0.9% Lys, and 14.8% PB and 1% Lys, respectively. No effects of dietary protein level during lactation were found for the parameters determined (sow weight loss, backfat thickness, weaned piglets, plasma metabolites, piglet body composition, etc.). From the results obtained it seems that increasing dietary protein beyond the considered control level (T1) do not provide additional benefits on the productive parameters analyzed in the present work

Keywords: Iberian sows, dietary protein, weight loss, suckling piglets.

EFFECTO DE FACTORES MATERNOS (EDAD Y METABOLISMO) Y NÚMERO Y PESO DE LOS CORDEROS SOBRE EL NIVEL DE PRODUCCIÓN LECHERA SUBSIGUIENTE

Pesántez Pacheco^{1,2*}, J.L., Heras Molina², A., Torres Rovira², L., Sanz Fernández², M.V., García Contreras², C., Vázquez Gómez⁴, M., Feyjoo⁴, P., Cáceres⁴, E., Mateos⁴, M., Hernández³, F., Vázquez Mosquera¹, J., Martínez Ros⁵, P., González Martín^{4,6}, J.V., González Bulnes^{2,4}, A. y Astiz², S.

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca. ²SGIT-INIA, Madrid. ³Granja Cerromonte SL, Ávila. ⁴Facultad de Veterinaria, UCM. ⁵Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera, Valencia. ⁶TRIALVET SL, Madrid; *jose.pesantez@ucuenca.edu.ec

INTRODUCCIÓN

Las ovejas de raza lechera de alta producción pueden ver afectados su rendimiento productivo y la calidad de su leche por factores como su raza, edad, número de parto, época de parto, ubicación geográfica, y factores de manejo como nutrición, intervalo entre partos y frecuencia de ordeño (Elvira et al., 2013). Variaciones en estos factores pueden inducir variaciones en la homeostasis y el metabolismo del animal durante la gestación y el postparto, que a su vez pueden finalmente determinar sus parámetros productivos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia del perfil metabólico de la madre, el tipo de gestación (simple o múltiple) y el peso al nacimiento de su/s corderos sobre la producción de leche después del parto (subsecuente lactación) en ovejas con diferentes niveles de producción (bajo, medio y alto).

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una granja lechera comercial ("Granja Cerromonte", San Juan de la Encinilla, Ávila) e incluyó datos de 527 ovejas Lacaune gestantes (285 adultas y 242 corderas) y su descendencia (584 corderos; 279 machos y 305 hembras). En estas ovejas, a mitad (75±5 días), y al final de gestación (142±4 días) y en el postparto (52±5 días pp), se tomaron datos de peso y condición corporal y muestras de sangre (previo ayuno) para la determinación de parámetros metabólicos: [glucosa (GLU), lactato (LAC), urea (UR), colesterol (CHO), triglicéridos (TGL), β-hidroxibutirato (βHB) y ácidos grasos no esterificados (NEFAs, de sus siglas en inglés)]. Los corderos fueron pesados y medidos al nacimiento y a los 17±5 días de edad. Finalmente, se recogieron los datos de producción de las ovejas hasta el sexto mes de la lactación siguiente a la lactación estudiada (producción diaria en la lactación siguiente o PLs). Para el análisis de producción las ovejas se clasificaron en hembras de baja (BPLs; n=122; PLs<1,57 l/d); media (MPLs; n=156; 1,37>PLs<2,19 l/d) y alta PLs (APLs; n=145; PLs> 2,19 l/d). Para evaluar las diferencias entre grupos y sus interacciones se efectuó análisis de varianza con medidas repetidas y test de Kruskal-Wallis cuando los datos no siguieron una distribución normal. 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

Los resultados muestran una relación significativa entre los parámetros metabólicos durante la gestación y el postparto con los niveles de producción posteriores a la gestación estudiada (PLs). Durante la gestación, todas las hembras mostraron elevadas concentraciones plasmáticas de glucosa y una disminución de los niveles de lactato y urea. Por el contrario, se observaron diferencias durante el postparto; las ovejas de alta producción (APLs) mostraron un descenso en las concentraciones de glucosa ($P<0,05$) y lactato y un aumento de urea ($P<0,0001$, para ambos), como consecuencia de una mayor demanda de glucosa y un metabolismo glucídico más activo en los animales más productores, coincidiendo con estudios anteriores (Abdelatif et al., 2009; Soares et al., 2018). El metabolismo lipídico (colesterol y triglicéridos) mostró así mismo altos niveles durante la gestación y bajos en el postparto, siendo estos cambios menos drásticos en las ovejas con menor producción ($P<0,01$ para colesterol y $P<0,0001$ para triglicéridos). Ambos son metabolitos esenciales para el desarrollo del feto (Mohammadi, Anassori y Jafari, 2016), y los resultados obtenidos podrían confirmar la mayor eficiencia metabólica de los animales

más productores de leche (APLs); De hecho son estos animales APLs los que tuvieron al parto corderos más pesados (Tabla 2; $P<0,005$). Posteriormente, en el inicio de la lactación, la disminución de sus valores (CHO y TGL) es un reflejo del aumento de la producción láctea, menor disponibilidad de ácidos grasos libres y aumento de la lipólisis para la obtención de energía. Las diferencias en la demanda energética y en la eficiencia metabólica entre animales con diferente nivel de producción se confirman al analizar los valores de β -hidroxibutirato (β HB) y NEFAs. Las ovejas BPLs, contrariamente a ovejas APLs y MPLs, no muestran aumento de los niveles plasmáticos de β HB ($P<0,0001$) pero sí altos niveles de NEFAs. Estos resultados coinciden con datos de otros autores (Soares et al., 2018), y reflejarían que la evolución del β HB es directamente proporcional a la mayor demanda energética inducida con el mayor nivel productivo, mientras que el incremento de NEFAs en el último tercio de gestación se debe a la mayor demanda energética uterina y el desarrollo de la glándula mamaria. El nivel productivo de las ovejas hembras estudiadas fue afectado muy significativamente por la edad (mayor PLs en ovejas adultas respecto que en corderas, $P<0,05$) y el número de corderos gestados (mayor PLs en hembras con parto múltiple, $P<0,05$), como puede observarse en la Tabla 3. Específicamente, las ovejas adultas de parto múltiple fueron las que más leche produjeron en la lactación subsiguiente, lo que concuerda con otros estudios y evidencia una penalización de la producción en ovejas primíparas que deben finalizar aun su crecimiento (Swali y Wathes, 2006) y un efecto positivo sobre el desarrollo de la glándula mamaria, el hecho de gestar más de un cordero podría estar mediado por la concentración de prolactina (Abecia y Palacios, 2018). En conclusión, existe una relación significativa entre la edad del animal gestante, su número y peso de corderos y los parámetros metabólicos durante la gestación y el postparto con los niveles de producción posteriores a la gestación estudiada (PLs). Estos conocimientos son relevantes para una mejor planificación de las granjas de ovino lechero de alta producción.

Tabla 1. Metaboloma durante la gestación en ovejas adultas y corderas categorizadas por su producción diaria en la lactación siguiente (PLs) a la gestación estudiada, en una granja comercial de ovejas Lacaune de alta producción.

	Categoría	Mitad de gestación	Final de gestación	Postparto	Interacción Tiempo \times PLs
Glucosa (mg/dl)	BPLs	60,0 \pm 1,2 ^h	64,6 \pm 1,2 ^f	71,3 \pm 1,0	0,001
	MPLs	64,0 \pm 1,3 ⁱ	70,2 \pm 1,4 ^g	71,5 \pm 0,6	
	APLs	63,6 \pm 1,0 ^h	72,1 \pm 1,2 ^g	69,8 \pm 0,6	
Lactato (mg/dl)	BPLs	18,9 \pm 1,2 ^d	13,2 \pm 0,8	14,9 \pm 1,1 ^a	0,01
	MPLs	18,1 \pm 0,8 ^d	13,7 \pm 0,7	11,1 \pm 0,4 ^b	
	APLs	15,7 \pm 0,8 ^e	13,7 \pm 0,6	9,9 \pm 0,4 ^c	
Urea (mg/dl)	BPLs	49,7 \pm 1,5	42,5 \pm 1,1	53,2 \pm 1,2 ^a	0,0001
	MPLs	47,9 \pm 1,1	40,5 \pm 0,8	62,7 \pm 1,3 ^b	
	APLs	51,9 \pm 1,2	42,8 \pm 1,0	71,0 \pm 1,3 ^c	
Colesterol (mg/dl)	BPLs	99,5 \pm 2,6 ^d	99,6 \pm 2,3 ^f	107,0 \pm 2,5 ^f	0,0001
	MPLs	107,0 \pm 2,6 ^{de}	105,0 \pm 2,0 ^{fg}	107,0 \pm 1,9 ^f	
	APLs	113,8 \pm 2,9 ^d	115,5 \pm 2,5 ^g	99,0 \pm 2,0 ^g	
Triglicéridos (mg/dl)	BPLs	20,3 \pm 0,9	23,3 \pm 1,0	18,1 \pm 0,7 ^a	0,01
	MPLs	22,5 \pm 0,8	25,7 \pm 0,9	16,2 \pm 0,6 ^b	
	APLs	21,6 \pm 0,6	25,9 \pm 0,9	15,1 \pm 0,6 ^b	
βHB (mmol/l)	BPLs	0,47 \pm 0,01 ^{fg}	0,63 \pm 0,01	0,61 \pm 0,02 ^a	0,0001
	MPLs	0,46 \pm 0,01 ^f	0,61 \pm 0,02	0,77 \pm 0,02 ^b	
	APLs	0,54 \pm 0,02 ^g	0,64 \pm 0,03	0,87 \pm 0,02 ^c	
NEFAs (mmol/l)	BPLs	0,64 \pm 0,02 ^a	0,62 \pm 0,03	0,50 \pm 0,02	0,0001
	MPLs	0,52 \pm 0,02 ^b	0,64 \pm 0,02	0,47 \pm 0,02	
	APLs	0,42 \pm 0,02 ^c	0,61 \pm 0,02	0,47 \pm 0,02	

β -hidroxibutirato (β HB) y ácidos grasos no esterificados (NEFAs). Los datos se expresan como valores medios \pm EEM. Diferentes superíndices dentro de una misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas entre grupos (a, b y c $P<0,0001$; d#e $P<0,005$; f#g $P<0,01$; h#i $P<0,05$).

Tabla 2. Peso (kg) de corderos al nacimiento y a los 17 días de edad y ganancia diaria media de peso (GDMP) clasificados según el nivel productivo lechero de sus madres posterior al parto (alto, medio y bajo) en una granja comercial de ovejas Lacaune de alta producción.

Corderos nacidos de ovejas adultas y corderas clasificadas por PLs			
	BPLs	MPLs	APLs
Parámetros	(n=124)	(n=201)	(n=200)
Peso al nacer (kg)	3,8±0,08 ^d	3,9±0,07 ^{de}	4,1±0,06 ^e
Peso a los 17d* (kg)	7,4±0,18 ^a	7,8±0,14 ^a	8,6±0,15 ^b
GDMP (g/d)	228±0,007	229±0,005	238±0,005

*: edad de los corderos a los 17±5 días. Producción diaria en la lactación siguiente (PLs). Datos expresados como valores medios ± EEM. Diferentes superíndices en la misma línea señalan diferencia estadística significativa entre grupos (a≠b P<0,0001; d≠e P<0,005).

Tabla 3. Producción total diaria de leche durante la lactación siguiente a la gestación estudiada según la edad (adulta vs. cordera) y según el tipo de parto (único vs. múltiple) y sus interacciones, en una granja comercial de ovejas Lacaune de alta producción.

	Adultas		Corderas		Parto simple		Parto múltiple	
	(n=219)		(n=251)		(n=214)		(n=234)	
PLs (l/d)*	2,13±0,05 ^a		1,89±0,04 ^b		1,92±0,04 ^c		2,08±0,05 ^d	
	Simple	Múltiple	Simple	Múltiple	Adultas	Corderas	Adultas	Corderas
	(n=85)	(n=131)	(n=129)	(n=103)	(n=85)	(n=129)	(n=131)	(n=103)
PLs (l/d)*	2,0±0,07 ^c	2,2±0,07 ^d	1,8±0,05	1,9±0,06	2,0±0,07	1,8±0,05	2,2±0,07 ^a	1,9±0,06 ^b

* PLs: producción diaria en la lactación siguiente (PLs, l/d). Los datos se expresan como valores medios ± EEM. Diferentes superíndices dentro de una fila denotan diferencias estadísticamente significativas (a≠b P<0,0001; c≠d P<0,05).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelatif, A., El Nageeb, M., Makawi, S., Fad, A. (2009). *Glo. Vet* 3:248–259.
- Abecia, J. y Palacios, C. (2018). *I J of A Sc.* 17:736–739.
- Elvira, L., Hernández, F., Cuesta, P., Cano, S., González, J. & Astiz, S. (2013). *J of D Res* 80: 439-447.
- Mohammadi, V., Anassori, E. & Jafari, S. (2016). *V r f : an i q j 7*: 35–9.
- Soares, G., Souto, R., Cajueiro, J., Afonso, J., Rego, R., Macêdo, A., Soares, P., Mendonça, C. (2018). *R de M V*, 169: 65–75.
- Swali, A. y Wathes, D. C. (2006). *Ther.* 66:1173–1184.

EFFECT OF MATERNAL FACTORS (AGE, AND METABOLISM) AND LITTER SIZE AND BIRTH WEIGHT OF OFFSPRING ON LEVEL MILK PRODUCTION SUBSEQUENT

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate maternal factors such as the metabolic profile during pregnancy and age, and number and birth-weight of their lambs on the milk yield level during the subsequent lactation. Higher values of glucose, cholesterol; triglycerides, non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate (β HB) and lower Urea (UR) were observed during pregnancy in dairy ewes that had yielded more after lambing compared to ewes with lower yielding. At postpartum all these metabolites decreased except β HB and UR in dairy ewes that yielded the highest levels of milk in the subsequent lactation. Those most productive mothers gave birth to the heaviest lambs, which remained the heaviest at the age of 17 day old. Ewes with multiple lambing produced more milk than ewes with single pregnancy and adult ewes yielded more than maiden sheep after their first lambing. In conclusion, the evolution of the metabolome of dairy sheep throughout gestation, as well as the age and pregnancy rank correlated significantly with the level of milk yield after the studied pregnancy. Similarly, the birth-weight of the lamb born influenced the level of milk yield after lambing. The knowledge of these factors is important for a better managing of high yielding dairy flocks.

Keywords: Metabolic status, birth weight, influence.

EMPLEO DE SALES CÁLCICAS DE ÁCIDOS GRASOS n-3 EN LA RACIÓN DE OVEJAS CHURRAS: EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE, EL CRECIMIENTO Y LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE LOS LECHAZOS

Gallardo, B. ¹, Lavín, P. ², Mantecón, A.R. ² y Manso, T. ¹

¹Área de Producción Animal. ETS Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. 34004 Palencia. ² Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). 24346 Grulleros (León); tmanso@agro.uva.es

INTRODUCCIÓN

Las evidencias que atribuyen a los ácidos grasos (AG) n-3 presentes en los alimentos efectos beneficiosos para la salud humana (Simopoulos, 2008; Kaur et al., 2011), han generado un gran interés por incrementar estos AG en los alimentos. La utilización de grasas en las raciones de rumiantes es una de las estrategias más efectivas para modificar el perfil lipídico de los productos obtenidos. Dentro de las fuentes de grasa que permiten incrementar los AG n-3 en la carne y en la leche destacan las que contienen aceite de linaza y determinados tipos de aceites de origen marino. Este último tipo de grasa presenta la limitación de afectar a los rendimientos productivos de los animales, especialmente cuando se combinan con fuentes de ácido linoleico (Toral et al., 2010). Sin embargo, los trabajos publicados sobre la utilización conjunta de grasas vegetales ricas en ácido α -linolénico y ácidos grasos n-3 de cadena larga son más escasos.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de la inclusión en la ración de ovejas Churras durante el inicio de lactación de sales cálcicas de ácidos grasos de pescado y aceite de lino con alto contenido en AG n-3 sobre la producción y la composición de la leche y sobre el crecimiento y las características de la canal de los corderos producidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se seleccionaron veinticuatro ovejas de raza Churra, con un peso vivo de $59,3 \pm 10,94$ kg (media \pm sd.), que fueron alimentadas hasta el momento del parto con la misma ración. Dos días después del parto, las ovejas se asignaron, de forma equilibrada según la producción de leche en la lactación anterior, edad, peso y prolificidad, a dos tratamientos experimentales (3 lotes de 4 ovejas y sus correspondientes 12 corderos por tratamiento) de acuerdo con la grasa que recibieron: Control (ración con un 3% de sales cálcicas de aceite de palma, Magnapac[®]) y SCLP (ración con un 3% de sales cálcicas de ácidos grasos de pescado y aceite de linaza, Nutrion Internacional SLU). Cada lote recibió la misma ración total mezclada (TMR) (relación F:C 40:60, 88,76 %MS, 28,33 %FND, 16,87 %PB, 5,31%GB) variando únicamente el tipo de grasa incorporada. El perfil de ácidos grasos de la grasa añadida en el tratamiento SCLP fue (% AG identificados): C12:0, 0,16; C14:0, 2,96; C16:0, 17,44; C18:0, 5,60; C18:1, 18,08; C18:2, 4,84; C18:3, 12,16; C20:5, 9,5; C22:6, 9,5).

Los corderos permanecieron con sus madres desde el nacimiento hasta el momento del sacrificio, siendo alimentados exclusivamente con leche materna. Durante el periodo de lactancia de los corderos, las ovejas se ordeñaron una vez al día (por la mañana) y la producción de leche se controló semanalmente. El día de control de la producción de leche, las ovejas se mantuvieron separadas de los corderos, se ordeñaron dos veces (mañana y tarde), y la producción diaria se estimó a partir de la leche obtenida entre los dos ordeños por extrapolación a 24 h. Para asegurar el vaciado completo de la ubre, antes de cada ordeño se les inyectó 3,5 UI de oxitocina (Oxitón[®], Laboratorios Ovejero, España). Cada día de control se tomaron muestras de leche para su posterior análisis químico. El contenido en proteína, grasa y sólidos totales de la leche se determinó mediante un equipo MilkoScan-4000 analyzer (Foss Electric, Hillerød, Denmark).

Los corderos se pesaron dos veces por semana y se sacrificaron cuando alcanzaron el peso de sacrificio (PVS) establecido (aproximadamente 11 kg), cumpliendo así los requisitos exigidos por la indicación IGP "Lechazo de Castilla y León". Tras finalizar el sacrificio y el faenado, se registró el peso de la canal caliente (PCC), y tras 24 h de oreo a 4°C el peso de la canal fría (PCF), y se calculó el rendimiento comercial de la canal. Sobre la superficie del músculo *Longissimus dorsi* de la canal fría, se midió el pH (Metrohm 826 pH-meter-mobile),

se determinó el color ($L^*a^*b^*$) de la grasa subcutánea (región dorsal a la altura de 10ª costilla) y el color de la carne (a la altura de la 6ª costilla) mediante colorímetro portátil (Minolta® CM-2002). Se separó y se pesó la grasa pelvico-renal como medida objetiva del engrasamiento de la canal.

Los datos relativos a producción y composición de leche, crecimiento de los corderos y sus canales se analizaron utilizando el modelo lineal general perteneciente al paquete estadístico Statgraphics Centurion 18 (Statgraphics Technologies, Inc. The Plains, Virginia, EEUU).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inclusión de un 3% de sales cálcicas de ácidos grasos de pescado y aceite de linaza en la ración de las ovejas Churras durante el inicio de la lactación no dio lugar a diferencias significativas (Tabla 1, $P > 0,05$) ni en la producción de leche a pesar de mostrar una reducción del 11% en el grupo SCLP, ni en su contenido en proteína y sólidos totales. Sin embargo, se observó un descenso significativo ($P < 0,05$) tanto en producción como el porcentaje de la grasa de la leche de las ovejas suplementadas con sales cálcicas ricas en AG n-3. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en trabajos previos (Capper et al., 2007) en los que se han observado descensos en el porcentaje de grasa de la leche al suplementar la ración de las ovejas con grasas de origen marino, debido posiblemente al efecto inhibitorio que las grasas de origen marino ejercen sobre la secreción de grasa en la leche.

Tabla 1. Producción y composición de leche

	Tratamiento		RSD	Nivel de significación
	Control	SCLP		
Producción (g/día)				
Leche	4175	3722	1124,4	ns
Grasa	231,6	171,4	67,29	*
Proteína	192,2	175,2	52,40	ns
Sólidos totales	679,9	576,9	171,43	ns
Composición (%)				
Grasa	5,65	4,65	1,262	*
Proteína	4,62	4,74	0,499	ns
Sólidos totales	16,39	15,57	1,203	*

Nivel de significación: ns: $P > 0,05$; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$

En la Tabla 2 se presentan los valores medios relativos al peso, crecimiento y características de la canal de los corderos pertenecientes a los distintos tratamientos experimentales. Como se puede observar, la inclusión de sales cálcicas de ácidos grasos de pescado y aceite de linaza en la ración de ovejas en inicio de lactación, no afectó de manera significativa a ninguno de los parámetros estudiados ($P > 0,05$). La ausencia de diferencias entre los distintos tratamientos en los parámetros estudiados podría explicarse por el hecho de que en ningún caso la cantidad y composición de la leche producida fue limitante para el crecimiento de los corderos (Gallardo et al., 2014).

Como conclusión podemos indicar que la incorporación de jabones cálcicos que incluyen de forma conjunta aceite de linaza y de pescado no afectó a la producción de leche ni al crecimiento y características de la canal de los corderos lechales producidos, por lo que podría suponer una alternativa de alimentación para la mejora de la composición de la grasa de los corderos lechales.

Tabla 2. Crecimiento y características de la canal de los corderos

	Tratamiento		RSD	Nivel de significación
	Control	SCLP		
Peso al nacimiento (kg)	4,17	4,32	0,467	ns
Ganancia media diaria (g/día)	304	313	47,1	ns
Peso vivo al sacrificio (kg)	11,19	11,27	0,784	ns
Peso canal caliente (kg)	7,22	7,26	0,568	ns
Peso canal fría (kg)	5,92	5,96	0,479	ns
pH	5,72	5,73	0,085	ns
Rendimiento comercial (%)	52,9	52,8	0,01	ns
Grasa perirrenal (g)	194	175	51,8	ns
Color <i>m. longissimus dorsi</i>				
L*	45,41	44,26	1,991	ns
a*	4,47	5,57	1,433	t
b*	4,36	4,04	0,935	ns
Color grasa subcutánea				
L*	71,23	73,65	3,925	ns.
a*	1,70	2,13	1,151	ns.
b*	10,29	10,51	2,432	ns.

Nivel de significación: ns: $P > 0.05$; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Gallardo, B., Gómez-Cortés, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., Manso, T. & de la Fuente, M.A. 2014. *Animal* 8: 1178-1190. • Kaur, G., Cameron-Smith, D., Garg, M. & Sinclair, A.J. 2011. *Prog. Lipid Res.* 50: 28-34. • Simopoulos, A.P. 2008. *Exp. Biol. M.* 233: 674-688. • Toral, P.G., Frutos, P., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Juárez, M. & de la Fuente, M.A. 2010. *J. Dairy Sci.* 93: 1604-1615 • Capper, J.L., Wilkinson, R.G., Mackenzie, A.M. & Sinclair, L.A. 2007. *Animal* 1: 889-898.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto AGL2016-75159-C2-1-R) y realizado en el marco del convenio de colaboración entre la Universidad de Valladolid y el Centro de Formación Agraria "Viñalta". Los autores agradecen a la empresa NUTRION INTERNACIONAL S.L.U. el apoyo prestado.

CALCIUM SALTS OF FISH OIL FATTY ACIDS AND LINSEED OIL FOR LACTATING CHURRA EWES: EFFECTS ON MILK PRODUCTION, GROWTH AND CARCASS CHARACTERISTICS OF THEIR SUCKLING LAMB

ABSTRACT: Twenty-four Churra ewes were used to study the effects of supplementing diets with 3% of calcium salts of fish oil fatty acids and linseed oil on milk yield and composition and on growth and performance of their suckling lambs. The lambs were fed exclusively by suckling from their dams and they were slaughtered when they reached 11 kg body weight. Although milk production was not affected by lipid supplementation, the SCLP diet (calcium salts of fish oil fatty acids and linseed oil) decreased fat yield and content ($P < 0.01$). Growth and carcass characteristics of suckling lambs were not affected ($P > 0.05$) by supplementing the ewes with 3% of calcium salts of fish oil fatty acids and linseed oil.

Keywords: calcium salts, linseed oil, fish oil, suckling lambs

RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LECHE DE OVEJAS ALIMENTADAS CON LINAZA (ACEITE VS. SALES CÁLCICAS)

Manso¹, T.*, Gallardo¹, B., Gómez-Cortés², P., Lavín³, P. y Mantecón³ A.R.

¹Área de Producción Animal. ETS de Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. 34004 Palencia. ²Instituto de Ciencias de la alimentación (CSIC-UAM) 28049 Madrid. ³Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). 24346 Grulleros (León); tmanso@agro.uva.es

INTRODUCCIÓN

La importancia nutricional de los ácidos grasos (AG) n-3 en la alimentación humana está ampliamente documentada en relación con la prevención de enfermedades. Sin embargo, pocos alimentos, entre los que se encuentran los derivados de los rumiantes, contienen de forma natural estos nutrientes en cantidades relevantes, por lo que el desarrollo de estrategias que permitan de forma natural incorporar estos AG en su composición, presenta un gran interés (Shingfield et al., 2013).

En el caso del ganado ovino lechero explotado en condiciones intensivas, la incorporación en las raciones de grasas vegetales ricas en ácido linolénico (ALA), ha sido evidenciada como una estrategia de alimentación efectiva para aumentar los AG n-3 en la leche (Manso et al., 2011; Gallardo et al., 2015). Sin embargo, la alta tasa de biohidrogenación (BH) de estos AG en el rumen provoca que su transferencia a la leche sea baja, por lo que el empleo de grasas encapsuladas y protegidas de la fermentación ruminal presenta un gran interés para la comunidad científica y las empresas del sector. Entre las grasas ricas en AG n-3 disponibles en el mercado se encuentran las sales cálcicas de ácidos grasos del aceite de linaza (SCAL) que, además de aportar energía a las raciones, podrían constituir una alternativa a otras fuentes de ALA como el aceite de linaza (AL) para la mejora de la calidad de la grasa de la leche.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, el objetivo de este trabajo ha sido comparar los efectos de distintas formas de incorporación de ALA en las raciones de ganado ovino (aceite de linaza vs. sales cálcicas de ácidos grasos de aceite de linaza) sobre los rendimientos productivos y la composición de la grasa de la leche de ovejas Churras en lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se utilizaron 54 ovejas de raza Churra que se encontraban en la sexta semana de lactación y con un peso vivo medio de $58,2 \pm 7,80$ Kg. Las ovejas, de forma equilibrada según su peso, producción de leche y número de lactación, fueron distribuidas en 9 lotes que se asignaron a tres tratamientos experimentales (3 lotes de 6 ovejas por tratamiento) de acuerdo con el tipo de grasa incorporada en la ración: Control (aceite de palma hidrogenado), AL (aceite de linaza) y SCAL (sales cálcicas de ácidos grasos de aceite de linaza, Nutrion Internacional SLU). Todas las grasas se incorporaron para que aportaran un 2,5% de grasa a la ración. Las ovejas recibieron *ad libitum* raciones *unifeed* a base de heno de alfalfa y concentrado (relación forraje:concentrado 40:60, 88,9 %MS, 34,8 %FND, 18,7 %PB y 5,13% GB) y se formularon para que fueran isoenergéticas e isoproteicas.

La ración se suministró repartida en dos comidas al día (9:00h y 18:00h) y los animales dispusieron de agua limpia a voluntad durante todo el periodo experimental. Después de un periodo de adaptación de 21 días a las raciones, la ingestión se controló diariamente en cada uno de los lotes de cada tratamiento experimental. El ordeño se realizó dos veces al día (8:00h y 17:00h) y, semanalmente, durante 2 semanas consecutivas, se registró la producción y se tomaron muestras de leche de cada oveja en el ordeño de la mañana y de la tarde para su posterior análisis de laboratorio mediante un equipo MILKOSCAN. El último día de control se recogió toda la leche de cada lote experimental y se tomaron muestras para analizar el perfil de AG mediante cromatografía de gases de acuerdo con la metodología descrita por Gómez-Cortés et al. (2014).

Los datos de ingestión, producción y composición de la leche se analizaron mediante el procedimiento PROC MIXED con medias repetidas en el tiempo y la composición de la grasa de la leche se analizó mediante el procedimiento GLM, ambos procedimientos del paquete estadístico SAS 9.2. (SAS Institute Inc., Cary, N.C, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados relativos a la ingestión, producción y composición de la leche de los distintos tratamientos experimentales. La suplementación de la dieta y la forma de incorporación de AG n-3 (AL vs. SCAL), no afectó a la producción ni a la composición de la leche (grasa, proteína y sólidos totales) ($P > 0,05$). Estos resultados coinciden con los encontrados en estudios previos en ovejas lecheras suplementadas con aceite de linaza (Bodas et al., 2010) y pueden atribuirse a la ausencia de diferencias significativas en la ingestión de MS entre los distintos tratamientos experimentales y al hecho de que todas las raciones fueran isoenergéticas e isoproteicas.

Tabla 1. Ingestión de MS, producción y composición de la leche de ovejas alimentadas con la dieta control (control) o suplementadas con aceite de linaza (AL) o sales cálcicas de aceite de linaza (SCAL).

	Dieta			SED	Nivel de significación		
	Control	AL	SCAL		D	T	D x T
Ingestión de MS (g/d)	2721	2826	2799	103,0	ns	ns	ns
Producción de leche(g/d)	1176	1210	1348	104,4	ns	ns	ns
Producción (g/d)							
Proteína	62,5	64,2	68,8	50,68	ns	ns	ns
Grasa	63,7	67,1	69,6	62,57	ns	ns	ns
Extracto seco	195	203	219	170,9	ns	ns	ns
Composición (%)							
Proteína (%)	5,41	5,34	5,14	0,141	ns	*	ns
Grasa (%)	5,45	5,55	5,21	0,240	ns	ns	ns
Extracto seco	16,69	16,76	16,35	0,302	ns	ns	ns

D, efecto de la dieta; T, efecto del tiempo;
ns = no significativo ($P > 0,1$); * = $P < 0,05$

Los resultados relativos a la composición de la grasa de la leche de los distintos tratamientos experimentales se presentan en la Tabla 2. Las ovejas que recibieron aceite de linaza o sales cálcicas de AG de aceite de linaza presentaron un menor contenido en AG saturados ($P < 0,001$) y mayor contenido en AG insaturados ($P < 0,01$) en la leche que las del grupo control. Los porcentajes de AG n-3 de la grasa fueron, respectivamente, un 83% y 66% mayor ($P < 0,001$) en los tratamientos AL y SCAL que en el grupo control. Esto provocó que, desde el punto de vista nutricional, la leche obtenida de los animales de los tratamientos AL y SCAL presentaran menor relación de AG n6/n3 respecto al grupo control. Esta respuesta es similar a la observada en trabajos previos al incorporar en raciones isoenergéticas e isoproteicas aceite de linaza en raciones de ovejas Churras (Bodas et al., 2010). Asimismo, la ausencia de diferencias significativas ($P > 0,05$) en la composición de la grasa entre los tratamientos con suplementos de aceite de linaza están de acuerdo con lo señalado en ganado vacuno por Cortés et al. (2010) y refleja las limitaciones en la protección frente a la biohidrogenación ruminal que presentan las sales cálcicas cuando llevan incorporados ácidos grasos insaturados.

Como conclusión, podemos indicar que las sales cálcicas de AG de aceite de linaza ofrecen una alternativa al aceite de linaza para incrementar el nivel de AG n-3 en la leche de oveja sin que los rendimientos productivos de los animales se vean afectados. La elección como materia prima de AL o SCAL en las raciones dependerá principalmente de su precio y facilidad de incorporación.

Tabla 2. Composición de la grasa (AG; % sobre AG totales) de la leche de ovejas alimentadas con la dieta control (Control) o suplementadas con aceite de linaza (AL) o sales cálcicas de aceite de linaza (SCAL).

	Dieta			SED	Nivel de significación
	Control	AL	SCAL		
AG Saturados	76,04 ^a	65,16 ^b	67,04 ^b	0,816	***
AG Monoinsaturados	19,32 ^b	26,90 ^a	25,29 ^a	0,546	***
AG Poliinsaturados	4,32 ^b	7,41 ^a	7,19 ^a	0,373	**
AG n-6	2,76 ^a	2,16 ^b	2,48 ^{ab}	0,129	*
AG n-3	0,71 ^a	1,30 ^b	1,14 ^b	0,049	***
n-6/n-3	3,89 ^a	1,67 ^b	2,18 ^b	0,145	***

D, efecto de la dieta; T, efecto del tiempo.

* = P < 0,05; ** = P < 0,01; *** = P < 0,001.

Letras distintas en una misma línea indican diferencias significativas (P < 0.05)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bodas, R., Manso, T., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A. & Gómez-Cortés, P. 2010. J. Agric. Food Chem. 58: 10493-10502.
- Côrtes, C., da Silva-Kazama, D.C., Kazama, R., Gagnon, N., Benchaar, C., Santos, G.T.D., Zeoula, L.M., & Petit, H.V. 2010. J. Dairy Sci. 93: 3146-3157.
- Gallardo, B., Gómez-Cortés, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., Manso, T. & de la Fuente, M.A. 2014. Animal 8: 1178-1190.
- Gómez-Cortés, P., Gallardo, B., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A., & Manso, T. 2014. Meat Sci. 96: 1304-1312.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecón, A.R. & Castro, T. 2011. Animal 5: 1659-1667.
- Shingfield, K.J., Bonnet, M. & Scollan, N.D. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. Animal 7: 132-162.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto AGL2016-75159-C2-1-R) y realizado en el marco del convenio de colaboración entre la Universidad de Valladolid y el Centro de Formación Agraria "Viñalta". Los autores agradecen a la empresa Nutrion Internacional S.L.U. el apoyo prestado.

ANIMAL PERFORMANCE AND MILK QUALITY OF EWES FED WITH LINSEED (OIL VS CALCIUM SALTS)

ABSTRACT: The aim of this work was to compare the effects of different sources of fatty acids n-3, linseed oil (AL) and calcium salts of linseed oil (SCAL), in lactating ewes` diet on milk production and composition and milk fatty acid composition. Milk production and composition was not affected (P > 0.05) by the type of lipid supplement. The supplementation with AL or SCAL decreased the saturated fatty acids and increased the monounsaturated, polyunsaturated and n-3 fatty acids in milk. No differences between AL an SCAL were found in animal performance and fat composition of milk. The use of calcium salts is an alternative to linseed oil in dairy sheep feed and its use will depend on its price at each time

Keywords: calcium salts, linseed oil, milk fat, ewe

EFFECTOS DE LA LEVADURA COMO SUPLEMENTO EN EL ALIMENTO DE CORDEROS EN TÚNEZ SOBRE LOS RENDIMIENTOS DE CRECIMIENTO

Maamouri¹, O. y Badri², I.

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas de Túnez. Calle Hédi Karray, 1004, ElManzah, Túnez, Túnez; omar_maamouri@yahoo.fr

INTRODUCCIÓN

La cría de ovejas es tradicionalmente la más apreciada por la actividad de los ganaderos tunecinos. Desempeña un importante papel social y económico, especialmente en el contexto de la seguridad alimentaria y los ingresos de los pequeños ganaderos. De hecho, debido al crecimiento de la población, el estado todavía está invirtiendo para mejorar la industria ovina con el fin de satisfacer las necesidades actuales, que se aplican principalmente en las celebraciones religiosas y familiares. La reciente intensificación del ganado ha llevado al uso excesivo de concentrados y cereales en la alimentación animal, sobre todo en corderos. Para promover sus productos y mejorar sus ingresos, los ganaderos aumentan la proporción de concentrados y cereales en la alimentación animal sin considerar los riesgos de enfermedades como la acidosis metabólica, que conduce a la disminución del rendimiento. Para prevenir este riesgo, varios estudios han demostrado que el uso de aditivos alimentarios también parece ser una solución eficaz para reducir la acidosis latente en rumiantes. Uno de los aditivos que ha sido estudiado exhaustivamente es la levadura, ya que ayuda a mantener un confort digestivo saludable y mejora su rendimiento de crecimiento (Beauchemin et al., 2003). El objetivo de este trabajo es estudiar los efectos de la levadura como suplemento en la dieta sobre el rendimiento del crecimiento en los corderos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este ensayo se utilizaron 14 corderos de 148 días de edad. Los corderos se dividieron teniendo en cuenta la edad y el peso vivo (PV) en 2 grupos. El grupo control (C) con un PV promedio de 22,5 ± 3,9 kg, recibió una dieta basada en heno de avena *ad libitum*, cebada integral (400 g) y concentrado (400 g). El segundo grupo (L), con un PV medio de 22,3 ± 2,6 kg recibió los mismos alimentos que el grupo (C) más una dosis de 1,5 g / cordero / día de levadura. Se registraron peso, ingestión, ganancia media diaria y se calculó el índice de conversión. La ración se distribuyó dos veces al día a horas fijas. Los animales de los dos grupos tenían libre acceso al agua. Los ingredientes del concentrado fueron: cebada (30%), maíz (24%), salvado de trigo (25%), soja (17%) y suplemento de vitaminas y minerales (4%). Los corderos se pesaron semanalmente justo antes de la oferta del alimento. Las cantidades de alimentos ofrecidos y rechazados se registraron diariamente, para ellos los animales se alojaron individualmente. Se determinó la composición química del heno de avena, concentrado y cebada integral (AOAC, 1984).

Los datos de ingestión del alimento, peso vivo inicial, peso vivo final, ganancia media diaria y conversión de alimento se analizaron mediante el modelo lineal general de SAS (2000). Las medias de los tratamientos dietéticos se compararon mediante un procedimiento de prueba t de pdiff. El modelo de ecuación fue: $Y_{ij} = \mu + R_i + E_{ij}$, donde Y_{ij} = parámetro medido, μ = media, R_i = Efecto de la dieta (1, 2) y E_{ij} = error residual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ración fue rica en almidón y carbohidratos ya que contenía un 40% de concentrado y un 40% de cebada integral. Las proporciones de proteína cruda fueron 19,7% para concentrado, 9,2% para grano de cebada y 4,2% para heno de avena (Tabla1). Esta ración probablemente puede inducir una acidosis ruminal. Desnoyers (2008) indicó que las principales causas de la acidosis parecen ser una mala adaptación del rumen a la ingesta de la dieta demasiado rápida o excesiva y a carbohidratos de fermentación rápida.

Tabla 1. Composición química del concentrado, grano de cebada y heno de avena.

	concentrado	grano de cebada	heno de avena
Materia seca (MS) (%)	95,6	92,08	89,68
Proteína bruta (PB) (%MS)	19,7	9,2	4,2
Fibra bruta (FB) (%MS)	2,4	4,0	34,5
UF / Kg MS (INRA system)	1,12	1,09	0,59

MS: materia seca; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; UF: unidad de forraje (INRA system).

La ingestión de heno de avena fue de 147,1 y 148,7 g de MS/c/día, para el grupo (C) y (L) respectivamente, en la primera semana de prueba. La ingestión de alimento por día continuó aumentando ligeramente hasta la quinta semana y alcanzó un máximo alrededor de la novena semana de la prueba (374,6 vs. 439,9 g MS/cordero/día para el grupo (C) y (L), respectivamente) (Tabla 2). Los respectivos valores de ingestión se mantuvieron dentro de los estándares de la capacidad de ingestión, que dependen mucho del peso del animal (2 a 2,5 kg MS/100 kg PV) (Jarrige et al., 1995). El análisis estadístico revela que no hay diferencia significativa entre los grupos respecto a la ingestión. De hecho, la cantidad de ingestión total de materia seca por día fue de 1,02 vs. 1,07 kg de MS/cordero/día para el grupo (C) y (L) (Tabla 2). Moncoulon y Auclair (2001) afirmaron una disminución de 2,6% de la ingestión en materia seca. Por el contrario, Mutsvangwa et al. (1992) observaron que la adición de levadura a una dieta de naturaleza acidogénica contribuye a aumentar la ingestión de materia seca en el ganado de carne. Esta tendencia puede explicarse por el hecho de que el efecto de la levadura sobre la ingestión es insignificante con una dieta rica en concentrado debido a la saciedad metabólica ya establecida después de la mayor producción de ácidos grasos volátiles "AGV" a partir de carbohidratos de fermentación rápida. Por lo tanto, es probable que aumente la ingestión de alimento con una dieta rica en fibra, debido a la acción directa de la levadura en las comunidades que degradan la fibra en el rumen a través de su acción en el nivel de consumo de oxígeno (Marden et al., 2008) y al promover la actividad fibrolítica se acelera el tránsito intestinal y por lo tanto aumenta la cantidad de ingesta de materia seca.

Tabla 2. Ingestión de la materia seca (IMS) en los dos grupos estudiados (kg).

Grupos	C	L	ESM	Pr < F
IMS Total (kg)	56,1 ± 8,4	58,9 ± 5,1	4,8	0,4
IMS/día (kg)	1,02 ± 0,15	1,07 ± 0,09	0,16	0,4

±: tipo ecar; ESM: error estándar de la media.

(C): grupo sin levadura; (L): grupo con levadura

En la Tabla 3 se muestran el aumento de peso y la ganancia diaria de los corderos. Los corderos S presentaron un mayor aumento de peso que los corderos C (12,3±2,6 kg vs. 8±2,4 kg para el grupo (L) y (C); P<0,01), así como también una mayor ganancia media diaria. (145g/día y 223 g/día para los corderos del grupo (C) y (L). El análisis estadístico muestra que hay diferencias para la ganancia diaria (g / día) en la quinta, sexta, octava semana de la prueba de crecimiento (P<0.05), y una diferencia (P<0,01) de la ganancia diaria durante la prueba de crecimiento (1th; 8th semana). La mayor ganancia media diaria debida a la suplementación de levadura podría deberse a que la levadura que limita la interrupción de la fermentación en el rumen generalmente causada por dietas altas en concentrados (Desnoyers, 2008). De hecho, Beauchemin et al. (2003) observaron que la adición de la levadura permite que el lactato de la flora del usuario sea efectivo y, por lo tanto, evita la acumulación de ácido láctico en situaciones nutriciones que conducen al inicio de la acidosis. La fermentación del almidón (carbohidratos del concentrado y grano de cebada) es mucho más rápida y da lugar a una mayor cantidad de AGV y la producción intermedia de ácido láctico se metaboliza con menos rapidez. Por lo tanto, la levadura puede estimular las bacterias del ácido láctico en la digestión del rumen y mejorar el flujo de proteínas microbianas en el rumen, lo que resulta en un aumento de peso.

Tabla 3. Efecto de la adición de levadura sobre la ganancia diaria promedio (GD (1s-8s)) y la ganancia de peso de los corderos.

grupos	C	L	ESM	Pr < F
Aumento de peso (kg)	8 ^b ± 2,4	12,3 ^a ± 2,6	6,35	0,007
Ganancia media diaria (g) (1s-8s)	145 ^b ± 44,5	223 ^a ± 47,1	21	0,008

^{a, b}: los promedios de la misma línea que llevan letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0.05$); ±: tipo ecar; ESM: error estándar de la media.

(C): grupo sin levadura; (L): grupo con levadura

El factor de conversión (Fc) de alimentos se mide para determinar la eficiencia del alimento en una producción por peso (Jarrige et al., 1995). Es del orden de 7,6 y 4,9 kg de ingesta de materia seca / kg de ganancia de peso, respectivamente, para el grupo (C) y (L), respectivamente. Aunque el consumo de alimento no difirió significativamente entre los dos grupos de corderos a lo largo del ensayo, el análisis estadístico mostró una diferencia ($P < 0,05$) del factor de conversión entre los dos grupos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. 1984. Official Methods of Analysis. 14th Ed. AOAC, Washington, DC.
- Beauchemin, K.A., Yang, W.Z., Morgavi, D.P., Ghorbani, G.R., Kautz, W. & Leedle, W.A.Z. 2003. J. Animal Sci. 81: 1628-1640.
- Jarrige, R., Ruckebusch, Y., Demorquilly, C., Farce, M.H. & Jaurnet, M. 1995. ISSN: 1144, 7605. Editions Quae, 921.
- Marden, J.P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R. & Bayourthe, C. 2008. J. Dairy. Sci. 91: 3528-3535.
- Mutsvangwa, T., Edwards, I.E., Topps, J.H. & Paterson, G.F.M. 1992. Anim. Prod. 55: 35-40.

Agradecimientos: Los autores agradecen la asistencia técnica del Sr. Marwen de la Escuela Superior de Agricultura de Mateur.

EFFECTOS DE LEVADURA COMO SUPLEMENTO DE ALIMENTO EN VIVO EN LOS RENDIMIENTOS DE CRECIMIENTO EN CORDEROS EN TÚNEZ

ABSTRACT:

Fourteen lambs of 148 days were used for 9 weeks and assigned to 2 groups. Lambs receiving a basal diet of oats hay voluntarily supplemented with 400g grain barley and 400g concentrate. The control group (C) received oats hay voluntarily, barley grain 400g and concentrate (400g). The group (Y) received the same food as (C) plus a dose of 1.5g / lamb / day of yeast. Average amount of oat hay voluntarily ingested was 147g and 148g DM / lamb / day, for C and Y respectively, in the first week of control. Food intake increased slightly until the fifth week and peaked around the ninth week (374 vs.439g MS / lamb / day for C and Y, respectively). The body weight of the lambs was registered during the trial, increased from 22 kg to 30 kg in C group and 22 kg to 34 kg in Y group. Regarding the daily gain (g / day), the averages were 145g / d and 223g / d for of C and Y lambs, respectively. The statistics showed differences for the daily gain (g / d) within the 5th; 6th and 8th week of the growth test ($P < 0.05$), and a difference ($P < 0.01$) of the daily gain during the growth test (1th; 8th week). Feed conversion decreased ($P < 0.05$) for lambs of Y compared to C.

Keywords: Lambs ; concentrate ; yeast ; performances

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA DE LA PULPA DE TOMATE

Marcos C.N.¹, de Evan T.¹, Molina-Alcaide E.² y Carro M.D.¹

¹Departamento de Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. ²Estación Experimental del Zaidín (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), Profesor Albareda, 1, 18008 Granada. España; navarro-88@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El uso de subproductos agroindustriales en la alimentación animal está aumentando en los últimos años, ya que es una solución viable para minimizar la contaminación medioambiental y la generación de residuos así como para paliar la escasez de materias primas convencionales, que son más caras y, a menudo, importadas. La pulpa de tomate (PT) es el subproducto resultante de la industria del tomate (elaboración de salsas, zumos, etc.) y está constituida principalmente por la piel, las semillas y restos de pulpa. La PT tiene un elevado contenido en humedad y en proteína bruta (PB), pero su composición química y valor nutritivo se ven afectados por multitud de factores, como pueden ser la variedad de tomate o el procesado del mismo (Del Valle et al., 2006). Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar las variaciones en la composición química y la digestibilidad de la PB de la PT en muestras recogidas durante una campaña de recolección del tomate en dos plantas de procesado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las 12 muestras utilizadas en este trabajo se obtuvieron en dos plantas de procesado de tomate (Tomates del Guadiana Soc. Coop. y PRONAT) entre el 12 de agosto y el 16 de septiembre de 2016, con intervalos de una semana. Las muestras (3 – 4 kg) se liofilizaron y se molieron a 1mm para analizar la composición química y a 2 mm para la medida de la digestibilidad intestinal *in vitro* de la PB. El contenido en cenizas, nitrógeno (N) y extracto etéreo (EE) se analizó según los procedimientos descritos por la AOAC (2005). El contenido 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). El contenido en nitrógeno insoluble en solución ácido detergente (ADIN) se determinó en el residuo de FAD. Los contenidos en azúcares y polifenoles solubles (PS) se analizaron por métodos colorimétricos siguiendo la técnica de la Antrona descrita por Yemem y Willis (1954) y de Folin-Ciocalteu (1965), respectivamente. La determinación de la digestibilidad intestinal *in vitro* de la PB (DIPB) se llevó a cabo mediante los procedimientos descritos por Gargallo et al. (2006). Brevemente, se pesaron 3 g de cada muestra de PT en bolsas de nylon (15 x 10 cm; 46 µm de poro) y se colocaron dos bolsas de cada muestra en el saco ventral del rumen en tres ovejas fistuladas inmediatamente antes de la comida de la tarde. Pasadas 16 horas, se retiraron las bolsas, se lavaron y congelaron a -80°C para su posterior lavado y liofilización. Posteriormente se pesaron las bolsas para determinar la degradabilidad ruminal aparente de la MS (DRMS), se mezclaron los residuos de las dos bolsas de cada muestra y oveja y se analizó su contenido en N para determinar la degradabilidad ruminal de la PB (DRPB). Para la determinación de la DIPB se pesaron por duplicado 0,5 g de cada residuo de la incubación ruminal en bolsas de nylon (8 x 5 cm; 46 µm de poro). Las bolsas se incubaron a 39°C en el incubador Daisy Ankom (Ankom Technology Corp., Fairport, NY, Estados Unidos) con una solución 0,1N de HCl (pH 1,9; 39°C) que contenía 1 g/L de pepsina durante una hora, se lavaron y se volvieron a incubar durante 24 horas en una solución de pancreatina (0.5 M KH₂PO₄ buffer, pH 7.75, 39°C). Finalmente, se lavaron las bolsas, se secaron (40°C; 72 h), se pesaron y se analizó el contenido en N para determinar la DIPB. La digestibilidad total de la PB (DTPB) se calculó a partir de los valores de DRPB y DIPB. Los datos se analizaron mediante el análisis de varianza con medidas repetidas en el tiempo del programa estadístico SAS. Para el análisis de los datos de composición química se consideró el tiempo de muestreo como efecto fijo y para los de digestibilidad se consideró el tiempo de muestreo como efecto

fijo y la oveja en la que se incuban las muestras como efecto aleatorio. Las medias se compararon mediante el test de Tukey. Igualmente, se estudió la correlación entre variables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de composición química (Tabla 1) fueron similares a los obtenidos por Abbeddou et al. (2011). Sin embargo, Fondevila et al. (1994) observaron mayores contenidos en EE y menores en LAD. Las muestras de PT mostraron un elevado contenido en PB, FAD, LAD, EE y azúcares, pero la proporción de N ligado a la FAD (ADIN) fue baja (6,6 - 8,7%) lo que puede indicar una gran disponibilidad del N que contiene este subproducto. Se observaron diferencias ($P < 0,05$) entre las muestras tomadas en distintas semanas en el contenido en LAD y EE, que aumentó y disminuyó con el tiempo, respectivamente. Estas diferencias podrían deberse a diferentes proporciones de piel y semillas en las muestras de PT, ya que estas son las principales fuentes de LAD y EE, respectivamente. Por el contrario, no se observaron diferencias ($P > 0,05$) en el resto de las fracciones químicas analizadas ni en el grado de lignificación de la fibra.

Tabla 1. Composición química (g/kg materia seca) de muestras de pulpa de tomate obtenidas en dos plantas de procesado en distintas semanas durante la campaña de 2017 ($n = 2$)

Item ¹	Tiempo (semanas)						eem ²	P-valor
	1	2	3	4	5	6		
MS (g/kg MF)	260	277	244	276	231	291	36,2	0,841
MO	961	965	957	962	963	970	3,5	0,350
PB	173	150	160	158	159	161	8,4	0,623
ADIN	2,22	1,58	2,07	2,08	2,12	2,24	0,146	0,126
FND	541	574	565	589	576	584	9,5	0,096
FAD	408	442	434	466	442	442	9,4	0,063
LAD	217 ^a	244 ^{ab}	229 ^{ab}	259 ^b	246 ^{ab}	270 ^b	7,2	0,017
EE	107 ^c	101 ^{bc}	76,5 ^{ab}	69,7 ^a	81,9 ^{ab}	84,4 ^{ab}	5,36	0,015
Azúcares	123	124	134	108	113	127	15,4	0,856
PS	4,05	4,36	3,42	3,40	3,05	2,55	0,408	0,137

¹ MF: materia fresca; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; ADIN: nitrógeno insoluble en solución ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; LAD: lignina ácido detergente; EE: extracto etéreo; PS: polifenoles solubles. ² error estándar de la media. ^{a-c} medias en la misma fila con diferentes superíndices son diferentes ($P < 0,05$; test de Tukey).

Todas las muestras de PT mostraron una degradabilidad de la MS (medida a las 16 h de incubación) y PB moderadas. Se observaron diferencias ($P < 0,05$) entre las semanas de muestreo en la DRMS (Tabla 2), pero no hubo diferencias ($P > 0,05$) en la DRPB. La DRMS mostró una correlación ($n = 12$) negativa con el contenido en FAD ($r = -0,73$; $P = 0,008$), LAD ($r = -0,60$; $P = 0,039$) y EE ($r = -0,70$; $P = 0,011$), mientras que la DRPB estuvo correlacionada negativamente con el contenido en FAD ($r = -0,72$; $P = 0,008$). Estos resultados podrían deberse a que una reducida degradabilidad de la fibra de la PT (Abbeddou et al., 2011) afectase negativamente a la degradación de la PB. La pequeña cantidad de ADIN de las muestras y la falta de una correlación significativa entre este valor y la DRPB apoyan esta idea. Los resultados obtenidos sugieren que las diferencias encontradas en la DRMS de la PT podrían deberse a la variabilidad en el contenido en EE y LAD y que la DRPB se ve afectada por el elevado contenido en FAD. No hubo diferencias ($P > 0,05$) entre las semanas de muestreo en la DIPB y la DTPB. La DIPB se correlacionó positivamente con el contenido en FAD ($r = 0,57$; $P = 0,050$). Esto podría deberse a que al reducirse la DRPB aumenta la cantidad de PB susceptible de ser digerida en el intestino. Igualmente, el contenido en polifenoles se correlacionó negativamente con la DIPB ($r = -0,74$; $P = 0,006$), lo que podría indicar que los polifenoles forman complejos indigestibles con la proteína. Fondevila et al. (1994) observaron menores valores de DRMS y DRPB (38,9 y 40,6%, respectivamente, a las 24 h de incubación en el rumen), pero Abbeddou et al. (2011) observaron valores similares a los encontrados en

este trabajo para la DRMS (47,6%, a las 16 h de incubación en el rumen) y mayores para la DRPB (64,9%). Los resultados obtenidos indican que el valor nutritivo de la PT es variable, pero no se observan cambios claros en el tiempo a lo largo de la campaña de recolección del tomate, por lo que probablemente son otros factores diferentes los que determinan la variabilidad.

Tabla 2. Degradabilidad ruminal de la materia seca (DRMS) y de la proteína (DRPB), digestibilidad intestinal *in vitro* de la proteína (DIPB) y digestibilidad total de la proteína (DTPB) de muestras de pulpa de tomate obtenidas en dos plantas de procesamiento en distintas semanas durante la campaña de 2017 (n = 2)

Item	Tiempo (semanas)						eem ¹	P-valor
	1	2	3	4	5	6		
DRMS (%)	54,0 ^b	52,3 ^{ab}	53,0 ^{ab}	48,8 ^a	49,2 ^a	48,9 ^a	1,10	0,005
DRPB (%)	56,3	51,5	49,2	51,1	50,2	47,8	2,66	0,344
DIPB (%)	45,0	43,0	46,7	46,6	47,5	46,7	1,90	0,593
DTPB (%)	76,1	73,0	72,6	73,9	74,1	72,2	1,07	0,190

^{a-b} medias en la misma fila con diferentes superíndices son diferentes (P<0,05; test de Tukey). ¹ error estándar de la media

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abbeddou S. *et al.* 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 163: 99-110.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. Ed. Association of Official Analytical Chemists. (16th ed. 5th rev.). Internacional.
- Del Valle M. *et al.* 2006. J. Sci. Food Agric. 86: 1232-1236.
- Fondevila M *et al.* 1994. Small Rumin. Res. 13: 117-126.
- Gargallo S. *et al.* 2006. J. Anim. Sci. 84: 2163-2167.
- Singleton V.L., Rossi J.A. 1965. Am. J. Enol. Vitic. 16: 144-158.
- 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 financiado por el MINECO (Proyecto AGL2016-75322-C2-1-R). Nuestro agradecimiento al Dr. Fermín López por su ayuda para conseguir las muestras usadas en este estudio y a Tomates del Guadiana Soc. Coop. y PRONAT por proporcionarlas.

CHEMICAL COMPOSITION AND PROTEIN DIGESTIBILITY OF TOMATO POMACE

ABSTRACT: The objective of this study was to determine the variability in chemical composition and digestibility of tomato pomace (PT) samples obtained during the 2016 tomato campaign. Twelve samples were weekly obtained from two processing plants over a period of 6 weeks. Nylon bags containing PT samples were incubated in the rumen (16h) for measuring ruminal degradability of dry matter (DRMS) and protein (DRPB). Afterwards, the residue was incubated *in vitro* with solutions of pepsin and pancreatin to measure *in vitro* protein intestinal digestibility (DIPB). Finally, total protein digestibility (DTPB) was calculated from DRPB and DIPB values. Data were analysed as a mixed model with repeated measurements. Samples of PT had high contents of crude protein, acid detergent fibre (FAD), acid detergent lignin, ether extract (EE) and sugars. There were only differences (P>0.05) between sampling times in the content of LAD and EE and in DRMS. Values of DRMS, DRPB, DIPB and DTPB ranged from 48.8 to 54.0%, 49.2 to 56.2%, 43.0 to 47.5%, and 72.2 to 76.1%. Both DRMS and DRPB were negatively correlated with the content of FAD, and DIPB was negatively correlated with polyphenols content. Data suggest that PT composition and nutritive value is highly variable and depends on many factors different from sampling time.

Keywords: tomato pomace, sampling time, chemical composition, *in vitro* intestinal digestibility

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ORUJO DE UVA DESECADO A UN CONCENTRADO TIPO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*

¹Barraso, C., ²Carracedo, V., ¹López, M^a.M., ²Pascual, M.R. y ²Rodríguez, P.

¹Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Finca La Orden-Valdesequera, CICYTEX. ²Facultad de Veterinaria. UNEX.; cbgil93@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El cambio climático ha generado gran preocupación en los últimos años, jugando un papel importante los gases de efecto invernadero (GEI) tales como el CO₂ y el CH₄, (Stern Review, 2007). Centrándonos en el CH₄ de origen antropogénico, un 25% proviene de fermentaciones entéricas de rumiantes (Peng *et al.*, 2016), debido a la adaptación de su aparato digestivo para fermentar la fibra (McDonald *et al.*, 2010). Benchaar *et al.*, 2001 establecen varias estrategias nutricionales para mitigar la producción de CH₄, a las cuales, hay que sumar otras, como son la búsqueda de plantas con capacidad metano-inhibidora a nivel ruminal (García-González *et al.*, 2008; Patra, 2016), debido a la presencia de compuestos polifenólicos o taninos.

El sector agrícola tiene gran importancia en Extremadura, generando alta cantidad de subproductos, entre ellos los procedentes de la industria vitivinícola, ricos en polifenoles (Spanghero *et al.*, 2009). El sector ganadero tiene igualmente gran peso, ya que existen importantes cebaderos de terneros y corderos en la región. Por ello, surge la idea del estudio de la cinética de producción de gas de las mezclas fabricadas con un concentrado base (cebada) y la incorporación de un 5% de dos tipos de orujo de uva (tinta y blanca) en un proceso de fermentación *in vitro*, con el fin de comprobar si se afecta la producción de gas, e incorporar estos subproductos en la dieta de rumiantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la determinación de la producción de gas *in vitro* se han utilizado orujos de dos variedades de uva, Graciano (tinta) y Montúa (blanca). Nuestro ensayo se llevó a cabo con mezclas de 95g de cebada molida y 5g de orujo Graciano (G) o 5g de orujo Montúa (M). La composición química de la cebada y orujos se obtuvo siguiendo el método oficial descrito para alimentos destinados a los animales recogidos en el BOE (1995). Mediante el análisis de WEENDE se determinó la Humedad-Materia Seca, Cenizas-Materia Orgánica, Extracto Etéreo, Proteína Bruta, y Fibra bruta (McDonald *et al.*, 2010). La Fibra Neutro Detergente (FND) y Fibra Ácido Detergente (FAD), según Van Soest (1967). Para la técnica de producción de gas, adoptamos la propuesta de Menke *et al.*, (1979) utilizando jeringas de vidrio. Como fuente de inóculo utilizamos heces frescas de ovejas (El Saher *et al.*, 1987). Siguiendo lo publicado por Aghajanzadeh *et al.*, (2015) fabricamos la saliva artificial y el líquido fecal. Para el proceso de fermentación se depositaron 0,2g de cada muestra de estudio y 30 ml de líquido fecal. Se realizaron dos ensayos, uno para cada tipo de mezcla de orujo. En cada uno de ellos, se utilizaron 12 jeringas, 4 sin muestra ("blancos"), 4 con sustrato C y las cuatro restantes, con mezcla de orujo M para el ensayo 1 y mezcla de orujo G para el ensayo 2. Posteriormente se incubaron a 39°C durante 96h, anotando el avance del émbolo a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 y 96h, (El-Meadaway *et al.*, 1998; Rasouli y Amiri, 2016). Las curvas de producción de gas se modelizaron siguiendo los modelos propuestos por Orskov y McDonald (1979) (*m1*) y McDonald (1981) (*m2*). El posible efecto de la adición de orujo sobre las características fermentativas de la cebada se ha estudiado mediante un análisis de la varianza de un factor y una prueba de Tukey *a posteriori* para establecer las diferencias significativas ($p < 0,05$) con el programa SPSS. La modelización de la cinética, se ajustó mediante programación Solver, en Excel, maximizando el coeficiente de determinación (R^2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, podemos observar la composición química de las muestras ensayadas. En su conjunto, los productos bases (cebada y orujos) presentan una composición química dentro de su categoría (Bernal, 2016) y las mezclas heredan la composición correspondiente.

Tabla 1. Composición química (% sobre materia fresca) de la cebada (C), los orujos de dos variedades de uva: Graciano (OR.G) y Montúa (OR.M) y las mezclas (G, M) (media \pm desviación típica).

md \pm d.t	C	OR. G	OR. M	G	M
MAT.SECA	90,77 \pm 0,53	98,66 \pm 0,12	98,57 \pm 0,04	91,12 \pm 0,00	90,97 \pm 0,37
CENIZAS	2,38 \pm 0,64	6,84 \pm 0,91	5,85 \pm 5,85	2,38 \pm 0,64	2,41 \pm 0,60
P.B	8,54 \pm 0,33	9,38 \pm 0,63	13,67 \pm 0,38	13,056 \pm 0,52	13,54 \pm 0,21
E.E	1,97 \pm 0,03	7,60 0,54	8,60 \pm 0,41	2,48 \pm 0,19	2,52 \pm 0,701
F.B	3,21 \pm 0,17	25,53 \pm 0,00	21,45 \pm 0,74	4,11 \pm 2,04	4,68 \pm 0,67
FND	18,93 \pm 0,17	52,99 \pm 1,22	50,82 \pm 1,17	20,78 \pm 1,11	21,22 \pm 0,38
FAD	5,33 \pm 0,54	46,57 \pm 2,52	47,92 \pm 1,58	7,55 \pm 0,10	6,76 \pm 0,14

md \pm d.t: media \pm desviación típica. **P.B**: proteína bruta. **E.E**: extracto etéreo. **F.B**: fibra bruta. **FND**: fibra neutro detergente. **FAD**: fibra ácido detergente. **G**: mezcla al 5% de orujo variedad Graciano. **M**: mezcla al 5% de orujo variedad Montúa.

La tabla 2, muestra la cinética de producción real de gases para los concentrados ensayados C, G y M. Hasta las 12h, la producción de gas es superior en C, lo que implica que los taninos inhiben la producción de gas. Gemeda *et al.*, (2015) indican que la presencia de taninos afecta a la producción de ácidos grasos volátiles *in vitro*, aunque no encuentra correlación entre el nivel de taninos y el efecto inhibitor. Igualmente, Sofyan *et al.*, (2017) indican que la presencia de taninos afecta a la producción total de gas, disminuyéndola, aunque no encuentran diferencias en la producción de CH₄.

Tabla 2. Producción acumulada de gases (cc) a lo largo de 96 horas de incubación.

	2h p<0,05	4h p<0,05	6h n.s	8h p<0,05	10h p<0,01	12h p<0,05	24h n.s	48h n.s	72h n.s	96h n.s
C m	2,03a	7,50a	14,53	21,93a	28,87a	43,31a	57,67	52,90	62,46	63,63
dt	1,54	2,82	4,81	4,18	3,73	10,95	4,28	29,94	4,58	5,82
G m	0,79ab	3,39b	8,82	16,96b	22,73b	29,18b	54,29	60,39	62,09	63,11
dt	0,85	1,18	1,55	1,55	2,12	2,35	1,55	2,69	2,69	2,12
M m	0,00b	4,07ab	10,69	17,05b	23,41b	29,52b	53,44	57,51	60,82	60,95
dt	0,00	1,31	1,86	1,18	1,86	1,86	2,80	3,05	3,62	3,47

C: cebada. **G**: mezcla al 5% de orujo variedad Graciano. **M**: mezcla al 5% de orujo variedad Montúa. **m**: media. **dt**: desviación típica. **h**: tiempo de incubación en horas. **n.s**: no existen diferencias estadísticas. **nota**: letras diferentes en las medias de la misma columna indican diferencias estadísticas (p<0,05).

Tabla 3. Parámetros (b, c, tl) de los modelos de Orskov y McDonald (1979) (m1) y McDonald (1981) (m2) expresados por su media \pm desviación típica.

	m1			m2			
	b n.s	c n.s	R ²	b n.s	c n.s	tl n.s	R ²
C	63,21 \pm 3,1	0,0468 \pm 0,005	0,973	60,94 \pm 2,7	0,0702 \pm 0,0044	2,95 \pm 0,27	0,9911
G	66,31 \pm 2,1	0,0454 \pm 0,002	0,966	62,39 \pm 2,0	0,0671 \pm 0,0015	3,02 \pm 0,21	0,9845
M	62,86 \pm 2,9	0,0491 \pm 0,002	0,963	60,85 \pm 2,9	0,0726 \pm 0,0027	2,79 \pm 0,14	0,9848

C: cebada. **G**: mezcla al 5% de orujo variedad Graciano. **M**: mezcla al 5% de orujo variedad Montúa. **b**: producción potencial de gas. **c**: constante degradación del sustrato. **tl**: tiempo de retraso de inicio de fermentación. **n.s**: no existen diferencias estadísticas.

En la tabla 3 se recogen los valores de los modelos m1 [$P = a + b(1 - e^{-ct})$] y m2 [$P = a + b(1 - e^{-c(t-t_l)})$]. En ambos modelos, el parámetro "a" (intersección de la curva de producción de gas al tiempo 0), tiene valor 0, lo cual, es coherente, ya que a las 2h apenas observamos producción de gas. Akinfemi *et al.*, (2009), Boga *et al.*, (2014) o Juárez *et al.*, (2009) también

obtuvieron valor 0 o incluso negativo para “a”. En cuanto al parámetro “b” (producción potencial de gas), el $m1$ no refleja la producción final real de gas, siendo el $m2$ la que se acerca más a los valores reales; estos valores se encuentran por encima de 60, siendo superiores a los indicados para forrajes (Akinfemi *et al.*, 2009; Boga *et al.*, 2014) y en línea de los indicados para concentrados. Respecto al parámetro “c” (constante de degradación asociada al sustrato), un mayor valor, implica una mayor degradabilidad intrínseca. No existen diferencias estadísticamente significativas para C, M y G, El $m1$ muestra valores cercanos a 0,047 y el $m2$ 0,070, El parámetro “t_i” asociado al tiempo de retardo en el inicio de la fermentación, tampoco presenta diferencias entre los concentrados utilizados, siendo su valor medio 2,9 horas, necesarias para que el proceso de producción de gases arranque, corroborándolo con la cinética real observada. El mejor R² se obtuvo en $m2$. En conjunto, cabe destacar que el modelo de McDonald (1981) se ajusta mejor a la situación real, pero, ninguno de ellos, han detectado las diferencias existentes hasta las 12 horas en la cinética de producción de gas (Tabla 2), lo que demuestra su insuficiencia, para matizar adecuadamente las diferencias iniciales existentes en la fermentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aghajanzadeh, A. *et al.*, 2015. Iranian J of Applied Anim Sci, 5(2): 339-345●Akinfemi, A. *et al* 2009. American-Eurasian J of Scientific Resear 4 (4): 240-245●Benchaar, C. *et al* 2001. Canadian J of Anim Sci 81(4): 563-574●Bernal, C. 2017. TFG.Fac Vet UNEX●BOE 1995.RD 2257/1994.●Boga, M. *et al* 2014 Asian Australasian J of Anim Sci, 27(6): 825-831●El Shaer, H.M 1987. J Agricul Sci. Cabri.109: 257-259●El-Meadaway, A 1998 .Canadian J of Anim Sci. 78(4): 673-679●García-González, R. *et al* 2008. Anim Feed Sci and Tech, 147: 36-52●Gameda, B.S *et al* 2015. Asian Australasian J of Anim Sci, 28(2): 188-199●McDonald, I. 1981. J of Agricultural Sci, 96(1): 251-252 McDonald, P 2010 Animal Nut (7th Ed.)●Menke, K.H. *et al* 1979. J of Agri Sci Cambrigde, 93: 217-222 Ørskov, E.R. *et al* 1979. J of Agri Sci Cambridge 92: 499-503●Patra, A.K. 2016.Frontiers in Vet Sci, 3: 1-17●Peng, S. 2016. Atmospheric Chemis and Physics, 16: 14545- 14562.●Rasouli, B. 2016. Environ Resources Research, 4(2): 141-152● Spanghero, M. 2009. Anim Feed Sci Tech 152:243–255● Sofyan, A. 2017. J of Applied Anim Reseach, 45(1): 122-125.)●Stern Review. 2007. Foreign & Commonwealth Off.U.K. .●Van Soest, P.J. 1967. J of Anim Sci, 26(1): 119-128.

Agradecimientos: trabajo financiado por el proyecto “Disminución de la huella de metano por inclusión de polifenoles vitivinícolas en la alimentación de rumiantes. Monitorización de su efecto en el bienestar de los animales durante el cebo de terneros” (RUMIMETA) AA-16-0082-2-

EFFECT OF THE ADDITION OF DRIED GRAPE MARC ON THE FERMENTATIVE CHARACTERISTIC OF A CONCENTRATED STANDARD

ABSTRAC: The aim of this study was to determine the effect of the addiction of 5% of grape marc rich in tannins (Graciano and Montúa varieties) in a standard concentrate based on barley on *in vitro* gas production. The *in vitro* fermentation was carried out in glass syringes, the source of inoculum was fresh faeces from sheep and the substrate was the mixtures of barley and grape marcs. The kinetics of gas production was studied according the models suggested by Orskov y Mcdonald (1979) y McDonald (1981). The results show that the addition of grape marc reduces the gas production, but the models do not detect differences until 12h of fermentation.

Keywords: *in vitro* fermentation, gas production, tannins.

INFLUENCIA DE LA PROTECCIÓN DE LA PROTEÍNA DE GIRASOL (SEMILLA Y HARINA) EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS BACTERIAS RUMINALES

Haro, A.N., de Evan, T., Carro, M.D. y González, J.

Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España; javier.gonzalez @upm.es

INTRODUCCION

Las bacterias adheridas a las partículas sólidas de la digesta (BAS) representan la mayor proporción de la biomasa bacteriana ruminal, mientras que las presentes en el líquido ruminal (BAL) son minoritarias (Rodríguez et al., 2003). Pese a ello, las estimaciones de la síntesis de proteína microbiana en el rumen que utilizan los sistemas actuales de alimentación de rumiantes están basadas en la composición de la fracción BAL, a pesar de que pueden existir diferencias importantes en la composición química entre ambas poblaciones y en las concentraciones de los marcadores utilizados para estimar la síntesis microbiana. A partir de los resultados de diferentes experimentos desarrollados con idéntica metodología, González et al. (2012) establecieron una estrecha correlación lineal para el enriquecimiento en ^{15}N de ambas poblaciones bacterianas dentro de un rango ligeramente inferior a 0,3 átomos % en las BAL. En un estudio reciente, se utilizó una mayor dosis de infusión de ^{15}N para ampliar el rango de enriquecimiento indicado con el objetivo de testar si se mantenía esta relación lineal. En este trabajo se analizan las diferencias en la composición química de BAS y BAL y la posible influencia de la dieta sobre las mismas.

MATERIAL Y METODOS

Para el estudio se utilizaron cuatro ovejas de raza Lacaune ($79,5 \pm 2,98$ kg) provistas de una cánula ruminal permanente, que recibieron dos dietas experimentales en un diseño cruzado. Cada período experimental tuvo una duración de 22 días, de los cuales los 10 primeros fueron de adaptación a las dietas experimentales y el resto de toma de muestras. Las dos dietas estaban compuestas de heno de avena de baja calidad (4,79 y 57,9% de proteína bruta (PB) y fibra neutro detergente, respectivamente; en materia seca (MS)) y pienso concentrado en relación 40:60. Las dietas se suministraron, utilizando distribuidores automáticos, en 6 comidas diarias iguales a un nivel de 40 g de materia fresca/kg peso vivo^{0.75}. Las dietas se diferenciaron únicamente en que los concentrados contenían harina y semilla de girasol protegidas (dieta PR) o sin proteger (dieta CON). La protección de la harina y semilla de girasol se realizó pulverizando sobre los alimentos una solución de ácido málico 2N (400 ml/kg) y secándolos posteriormente en una estufa a 150°C durante 2 h (más el calor residual tras apagar la estufa). Los ingredientes de los dos concentrados 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 concentrados PR y CON contenían (en base a MS) 15,6 y 15,3% de PB y 5,61 y 5,05% de grasa y en los dos el 35% de la PB y el 66% de la grasa procedían del girasol. A partir del día 7 de cada período, se realizó una infusión continua (200 ml) a través de la cánula ruminal de una solución de ^{15}N que aportó diariamente 50 mg de ^{15}N a cada oveja, con la finalidad de marcar las bacterias ruminales. Los días 21 y 22 de cada período se realizó un vaciado ruminal completo (una oveja de cada tratamiento cada día) y se obtuvo una muestra (1 kg) representativa del contenido ruminal que se utilizó para el aislamiento de las fracciones BAS y BAL mediante las técnicas descritas por Rodríguez et al. (2000). Los pellets bacterianos obtenidos se liofilizaron y se analizó su composición química mediante los métodos descritos por estos autores.

Los resultados se analizaron con el PROC MIXED del SAS mediante análisis de varianza usando un modelo mixto en el que los efectos de la dieta, la fracción bacteriana, el período y la interacción dieta x fracción bacteriana se consideraron fijos y el efecto de la oveja se consideró aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la Tabla 1, no se observaron interacciones dieta x fracción bacteriana, con la excepción de una tendencia en el contenido en lípidos ($P = 0,064$). Las bacterias aisladas de animales que recibían la dieta CON mostraron un mayor contenido en materia orgánica (MO) y lípidos ($P = 0,011$ y $< 0,001$, respectivamente) y menor contenido en N ($P = 0,037$) que las aisladas con la dieta PR. Las diferencias en el contenido en MO y lípidos estuvieron relacionadas, como muestran los similares valores de MO delipidada para las dos fracciones bacterianas y tendrían su origen en la reducción del aporte de lípidos (10%) con la dieta PR (5,61 y 5,05% de grasa en las dietas CON y PR, respectivamente). Además, las bacterias tuvieron un menor enriquecimiento cuando los animales recibieron la dieta CON que cuando ingerían la dieta PR (0,277 vs. 0,311 átomos %, de media), indicando una mayor incorporación de $^{15}\text{NH}_3\text{-N}$ con la dieta PR, asociable a una menor producción de $\text{NH}_3\text{-N}$ debido al tratamiento protector de la proteína; así las concentraciones medias de $\text{NH}_3\text{-N}$ medidas en las primeras 4 horas tras la ingestión fueron un 6,4% inferiores en la dieta PR (79,3 y 74,2 mg/l para las dietas CON y PR, respectivamente; $P = 0,228$).

Tabla 1. Influencia de la dieta y la fracción bacteriana (FB) en la composición química de bacterias ruminales aisladas de la fase líquida (BAL) y sólida (BAS) del rumen de ovejas

Item ¹	FB	Dieta ²			P =		
		CON	PR	eem ³	Dieta	FB	Dieta x FB
Materia orgánica (MO)	BAL	80,1	76,6	0,98	0,011	0,121	0,797
	BAS	81,6	78,6				
Lípidos	BAL	17,9	12,4	0,65	<0,001	0,002	0,064
	BAS	19,5	16,8				
MO delipidada	BAL	62,2	64,2	1,34	0,542	0,371	0,418
	BAS	62,1	61,8				
N	BAL	6,26	6,61	0,194	0,037	0,459	0,496
	BAS	5,97	6,60				
N (% MO)	BAL	7,83	8,61	0,163	<0,001	0,059	0,408
	BAS	7,33	8,39				
^{15}N (% átomos exceso)	BAL	0,295	0,326	0,0085	0,005	0,004	0,852
	BAS	0,259	0,294				

¹ Datos expresados en % de la MS, excepto cuando se indica otra unidad.

² El concentrado de la dieta PR contenía harina y semilla de girasol protegidas frente a la degradación ruminal mediante un tratamiento de ácido málico y calor. Las dos dietas tenían una relación 40:60 forraje:concentrado.

³ Error estándar de la media.

De acuerdo con resultados anteriores (Ramos et al., 2009; González et al., 2012), la fracción BAL tuvo un menor contenido en lípidos y un mayor enriquecimiento en ^{15}N que la fracción BAS, sin que existieran diferencias en el contenido en N. Sin embargo, al expresar el contenido en N como proporción de la MO hubo una tendencia ($P = 0,059$) a una mayor concentración en las BAL, lo que coincide con la mayor maquinaria (ácidos nucleicos, enzimas,...) exigida por su mayor tasa de duplicación debido a que la tasa de tránsito de la fase líquida es considerablemente mayor que la de la fase sólida. Los enriquecimientos en ^{15}N de las BAS y BAL no se ajustaron bien a la relación lineal establecida entre ambos valores por González et al. (2012) para enriquecimientos de BAL inferiores a 0,3 % átomos en exceso (Figura 1), sino que existió una relación lineal y cuadrática cuando se incluyeron todos los valores disponibles: $^{15}\text{N-SAB} = 0,006 (0,0038) + 0,612 (0,0527) ^{15}\text{N-LAB} + 0,759 (0,1378) ^{15}\text{N-LAB}^2$ ($R^2 = 0,992$; $n = 48$; raíz cuadrada media del error = 0.00826).

En resumen, la inclusión de proteína de girasol protegida con ácido málico y calor en la dieta de ovejas dio lugar a un mayor contenido en N de las bacterias, lo que unido a la

protección de la proteína sugiere una mejor utilización proteica de la dieta. Por otra parte, se observaron las diferencias habituales en la composición química de LAB y SAB, debiéndose limitar el enriquecimiento en ^{15}N en las LAB a valores menores de 0,3% átomos en exceso si se pretende mantener la linealidad entre los enriquecimientos de ambas poblaciones.

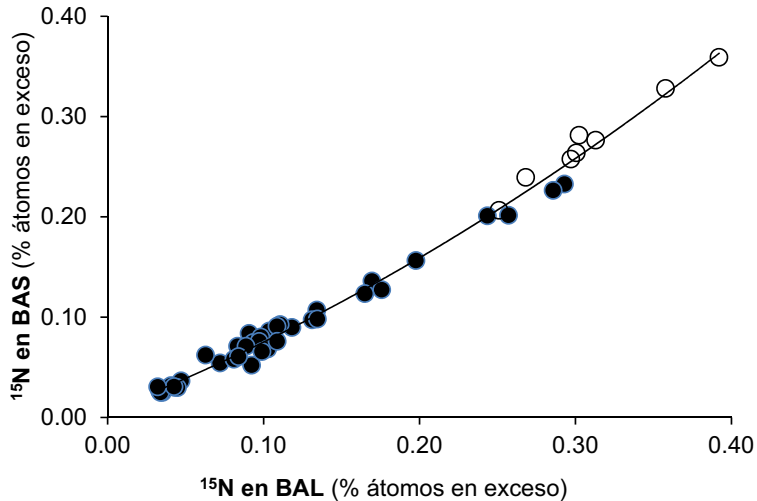


Figura 1. Relación entre el enriquecimiento en ^{15}N de las bacterias asociadas a las fases líquida (^{15}N -BAL) y sólida (^{15}N -BAS). Los círculos negros corresponden a trabajos anteriores del grupo (González et al., 2012) y los círculos blancos al presente estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

• Ramos S., Tejido M.L., Martínez M.E., Ranilla M.J., Carro M.D. 2009. *J. Anim. Sci.* 87:2924-2934. • Rodríguez C.A., González J., Alvir M.R., Redondo R., Cajarville C. 2003. *Br. J. Nutr.* 89: 369-376. • Rodríguez C.A., González J., Alvir M.R., Repetto J.L., Centeno C., Lamrani F. 2003. *Br. J. Nutr.* 84: 97-103. • González J., Arroyo J.M., Ouarti M, Guevara-González J., Rodríguez C.A., Alvir M.R., Moya V.J., Piquer O. 2012. *Animal.* 6:468-475.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto AGL2012-31064 (financiado por el MINECO).

INFLUENCE OF THE PROTECTION OF THE SUNFLOWER PROTEIN (SEED AND MEAL) IN THE CHEMICAL COMPOSITION OF RUMINAL BACTERIA

ABSTRACT: Four rumen-cannulated sheep were fed two diets of oat hay and concentrate (40:60 on fresh matter) at 40 g/kg live weight^{0.75}. The diets included sunflower seed and meal either untreated (CON) or protected (PR) against ruminal degradation by a malic acid-heat treatment. Ruminal contents were sampled and chemical composition of bacteria associated to liquid (BAL) and solid (BAS) digesta was analyzed. BAL showed less lipids and greater ^{15}N enrichment than BAS. Bacterial fractions did not differ in N content, but BAL tended ($P = 0,059$) to have greater N content than BAS when N was expressed on organic matter (OM) basis. Bacteria from CON-fed animals had greater ($P \leq 0,037$) OM and lipids content and ^{15}N enrichment, but lower N content than those from PR-fed animals. Values of ^{15}N enrichment in BAS and BAL greater than 0.3% atoms in excess did not adjust well to the linear relationship between both fractions observed in previous studies.

Keywords: sunflower protein, malic acid-heat treatment, rumen bacteria, chemical composition, $^{15}\text{N}/\text{N}$ ratio

INFLUENCIA DE LA PROTECCIÓN DE LA PROTEÍNA DE GIRASOL EN LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y CECAL DE CORDEROS DE CEBO

Haro, A.N.¹, González, J.¹, de la Fuente, J.², de Evan, T.¹ y Carro, M.D.¹

¹ Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. ² Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid, España; mariadolores.carro@upm.es

INTRODUCCION

La baja eficiencia de utilización del nitrógeno (N) que presentan los rumiantes provoca una elevada excreción de N al medio ambiente, contribuyendo a la contaminación de la producción ganadera. Para reducir estas pérdidas nitrogenadas se han desarrollado métodos que permiten proteger la proteína frente a la degradación ruminal, especialmente para aquellas proteínas que tienen una alta degradabilidad ruminal. La proteína del girasol se caracteriza por su alta velocidad de degradación ruminal, por lo que su protección podría reducir la degradabilidad ruminal y aumentar el aporte de aminoácidos al intestino delgado siempre y cuando no se reduzca la síntesis de proteína microbiana. 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* (Haro et al., 2017), pero son necesarios estudios *in vivo* para comprobar su eficacia. El objetivo de este estudio fue analizar los efectos de incluir en la dieta de corderos de cebo harina y semilla de girasol tratadas con ácido málico y calor sobre la fermentación ruminal y cecal, así como sobre las concentraciones plasmáticas de urea y N aminoacídico.

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 (más el calor residual tras apagar la estufa). Los dos piensos se formularon con los mismos ingredientes y solo se diferenciaron en el tratamiento de la proteína de girasol. Los ingredientes (% de materia fresca) 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%). El contenido en materia orgánica, proteína bruta, fibra neutro detergente y extracto etéreo del pienso control fue 941, 156, 184 y 56,1 g/kg de materia seca (MS), respectivamente, mientras que el pienso tratado contenía 940, 153, 191 y 50,5 g/kg MS. El girasol representó el 35% de la proteína bruta y el 66% del extracto etéreo de los piensos.

Los corderos se alojaron individualmente y recibieron pienso y paja *ad libitum*. Durante la prueba se midió la ingestión de pienso y paja, el peso de los animales y la digestibilidad de la dieta y los resultados obtenidos se han presentado en un trabajo previo (Haro et al., 2018). Además se tomó una muestra de sangre de cada cordero al inicio, mitad y final de la prueba para analizar la concentración de N ureico y aminoacídico en el suero.

Los corderos se sacrificaron en un matadero comercial en dos días diferentes de semanas consecutivas al alcanzar los 26 kg de peso vivo, sacrificándose cada día el mismo número de corderos de cada tratamiento experimental. Tras el sacrificio se extrajo el tracto digestivo, se homogeneizó el contenido ruminal y se tomó una muestra (aproximadamente 200 g) que se filtró a través de cuatro capas de gasa. A continuación se midió el pH del líquido ruminal obtenido y se mezclaron 3 ml de líquido con 3 ml de HCl 0,5 N. Las muestras se congelaron inmediatamente a -20°C hasta el análisis de su concentración en NH₃-N y ácidos grasos volátiles (AGV). Finalmente, se obtuvo una muestra del contenido cecal (3 g) que se acidificó con HCl 0.5 N (3 ml) y se congeló hasta el análisis de su concentración en NH₃-N y AGV.

Los parámetros fermentativos ruminales y cecales se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía usando el paquete estadístico SAS. Para el análisis de los parámetros sanguíneos se utilizó un modelo con medidas repetidas en el tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de los parámetros ruminales y cecales (Tabla 1) estuvieron dentro del rango de los obtenidos en corderos en cebo que recibían piensos de composición similar (Carro et al., 2006). La protección de la proteína en el pienso no afectó ($P = 0,172$ hasta $0,989$) a ninguno de los parámetros ruminales y cecales determinados, a pesar de que en una incubación *in vitro* de estos piensos durante 12 h con líquido ruminal de ovejas se observó una menor concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ en el pienso tratado que en el pienso control, lo que indicaría una menor degradabilidad de la proteína protegida (Haro et al., 2017).

Tabla 1. Valores medios de pH y parámetros fermentativos en el rumen y ciego 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 ¹	P =
Rumen				
pH	5,17	5,26	0,060	0,510
Total ácidos grasos volátiles (AGV), mM	152	156	1,9	0,778
Acético (mol/100 mol)	49,0	48,5	0,59	0,732
Propiónico (mol/100 mol)	41,0	41,6	0,61	0,757
Butírico (mol/100 mol)	5,87	5,98	0,475	0,919
Otros AGV (mol/100 mol) ²	4,06	3,98	0,288	0,830
Acético/propiónico, mol/mol	1,21	1,19	0,141	0,852
$\text{NH}_3\text{-N}$, mg/L	51,8	52,1	2,11	0,989
Ciego				
Total ácidos grasos volátiles (AGV), mM	172	171	1,6	0,910
Acético (mol/100 mol)	66,4	64,1	0,69	0,324
Propiónico (mol/100 mol)	19,4	20,1	0,61	0,647
Butírico (mol/100 mol)	11,5	13,2	0,50	0,172
Otros AGV (mol/100 mol) ²	2,75	2,67	0,273	0,823
Acético/propiónico, mol/mol	3,61	3,29	0,262	0,360
$\text{NH}_3\text{-N}$, mg/L	76,6	63,1	1,97	0,485

¹ error estándar de la media.

² calculado como la suma de los ácidos isobutírico, isovalérico, valérico y caproico

Tampoco existieron diferencias entre tratamientos (Tabla 2) en las concentraciones plasmáticas de N ureico ($P = 0,755$) y N aminoacídico ($P = 0,480$), lo que concuerda con las similares concentraciones ruminales de $\text{NH}_3\text{-N}$ observadas en los corderos de los dos tratamientos experimentales. Las concentraciones plasmáticas de N aminoacídico disminuyeron con el tiempo ($P < 0,001$), alcanzándose los valores más bajos antes del sacrificio. Eryavuz et al. (2003) observaron resultados similares en corderos de cebo entre los 17 y 35 kg de peso vivo y los atribuyeron a que los corderos necesitan menos proteína a medida que van creciendo, por lo que se reduce la síntesis de proteína en el hígado y las concentraciones plasmáticas de N aminoacídico disminuyen.

En resumen, aunque la prueba *in vitro* realizada anteriormente (Haro et al., 2017) 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 los parámetros fermentativos ruminales y cecales ni a las concentraciones plasmáticas de N ureico y N aminoacídico.

Tabla 2. Influencia del pienso y del tiempo de muestreo (T) en las concentraciones plasmáticas de N ureico (NUR) y N aminoacídico (NAM) de corderos en cebo que recibían un pienso control (Control) o con proteína de girasol protegida con ácido málico y calor (Tratado)¹

Item	Pienso	Muestreo			eem _{TR} ²	eem _T ²	P =		
		1	2	3			Pienso	T	Pienso x T
NUR (mg/100 ml)	Control	28,5	-	28,3	1,13	1,13	0,755	0,677	0,795
	Tratado	28,4	-	27,3					
NAM (mg/100 ml)	Control	0,74 ^b	0,66 ^b	0,33 ^a	0,060	0,073	0,480	<0,001	0,383
	Tratado	0,97 ^b	0,60 ^a	0,34 ^a					

a, b: Dentro de cada fila y tratamiento experimental las medias con diferente superíndice son diferentes (P < 0,05; LSD test).

¹ los valores corresponden al inicio (semana 1), mitad (semana 3) y final (semana 7) de la prueba experimental. En el muestreo 2 hubo un problema con las muestras y no pudo analizarse el contenido en NUR.

² eem_{TR}: error estándar de la media para el tratamiento; eem_T: error estándar de la media para el tiempo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Carro M.D., Ranilla M.J., Giráldez F.J., & Mantecón A.R. 2006. J. Anim. Sci. 84: 405-410.
- Eryavuz A., Dündar Y., Ozdemir M., Aslan R. & Tekerli M. 2003. Anim. Feed Sci. Technol. 109: 35–46.
- Haro A.N., Hernández E., Añover I., de la Fuente J., González J. & Carro M.D. 2017. ITEA, XVII Jornadas sobre Producción Animal. 315-317.
- Haro A.N., Carro M.D., de Evan T. & González J. 2018. J. Anim. Physio. Anim. Nutr. 102: 1482-1487.

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).

PROTECTING SUNFLOWER PROTEIN AGAINST RUMINAL DEGRADATION: INFLUENCE ON RUMINAL AND CECAL FERMENTATION IN GROWING 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 ruminal and cecal fermentation in growing lambs. Twenty-four Lacaune lambs (14.2 ± 0.35 kg body weight) were distributed into two homogeneous groups and fed either a control concentrate (CON; untreated sunflower protein) or a concentrate (TR) containing sunflower seed and meal treated with malic acid and heat for protecting the protein against ruminal degradation. Lambs were fed concentrate and straw *ad libitum* and blood samples were taken at the start, middle and end of the trial. Lambs were slaughtered at 26 kg of body weight, and samples of ruminal and cecal contents were taken. There were no effects of protein protection on ruminal and cecal fermentation parameters (P = 0.172 to 0.989). No differences among treatments were observed in plasma concentrations of urea-N (P = 0.755) and amino-N (P = 0.480), but amino-N concentrations decreased with advancing time. The protection of sunflower protein with malic acid and heat under the conditions of the current study influenced neither ruminal and cecal fermentation parameters nor plasma concentrations of urea and protein.

Keywords: sunflower protein, malic acid-heat treatment, ruminal fermentation, urea-N, fattening lambs

RELACIÓN ENTRE LA EFICIENCIA ALIMENTARIA Y LA DIVERSIDAD BACTERIANA DEL RUMEN EN OVEJAS EN LACTACIÓN: ESTUDIO PRELIMINAR

Toral¹, P.G., Belenguer^{1*}, A., Hervás¹, G., Yáñez-Ruiz², D. y Frutos¹, P.

¹Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León. ²Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1 18008 Granada; *a.belenguer@csic.es

INTRODUCCIÓN

En el contexto actual de búsqueda de una mayor productividad y sostenibilidad en ganadería, resulta de gran interés una utilización más eficiente de los alimentos, es decir, un incremento de la eficiencia alimentaria. En animales rumiantes, se reconoce ampliamente que uno de los factores importantes que afectan a dicha eficiencia es el microbioma del rumen (Carberry et al., 2012). En este sentido, se ha sugerido una posible relación con la diversidad microbiana, aunque aún existe una gran controversia acerca de si esta es mayor o menor en el rumen de los animales más eficientes (Cantalapiedra-Hijar et al., 2018; Patil et al., 2018). Además, los estudios que se han llevado a cabo en este aspecto son escasos y se han realizado en vacuno o en corderos en crecimiento (e. g., Shabat et al., 2016; Li y Guan, 2017; Patil et al., 2018), mientras que no se conocen datos en ovejas en lactación.

A partir de experimentos realizados en nuestro grupo con ovejas assaf en lactación, se seleccionaron aquellos en los que se había analizado individualmente la comunidad microbiana y los parámetros productivos, de forma que fuera posible estimar la eficiencia alimentaria, con el fin de examinar una posible relación entre esta y la diversidad bacteriana del rumen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron datos de ingestión (kg MS/d), producción de leche (kg/d), contenido de proteína y grasa de la leche (g/kg), peso vivo (kg) y diversidad bacteriana (riqueza o número de fragmentos y los índices de Shannon y equidad - más conocido como "evenness" -, estimados a partir de la técnica del polimorfismo de la longitud de los fragmentos terminales de restricción, T-RFLP, y utilizando 3 enzimas de restricción, *HhaI*, *MspI* y *HaeIII*) de 2 experimentos realizados con ovejas assaf en lactación y descritos en artículos publicados por nuestro grupo (Frutos et al., 2014, 2017, 2018). A partir de esa información, que procedía de 35 animales, se estimó la eficiencia alimentaria, utilizando dos de las medidas más habituales, la ingestión de alimento residual (RFI) y la eficiencia de producción de leche (MPE). La RFI se define como la diferencia entre el consumo de alimento observado y el estimado. Este último se calculó a partir de las necesidades, determinadas mediante el sistema del AFRC (1993). Por otra parte, la MPE se define como: kg leche corregida por la energía (ECM; Tyrrel y Reid, 1965) / kg de MS ingerida (MSI).

La posible relación de dichas medidas de eficiencia (RFI y MPE) con los datos de diversidad bacteriana de esos mismos experimentos se estudió mediante análisis de regresión lineal utilizando el programa estadístico SAS (versión 9.4).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La RFI presentó un valor medio de $0,29 \pm 0,062$ (media \pm error estándar) y osciló entre -0,75 y 1,01. Por definición, los animales más eficientes presentan una RFI más negativa (consumen menos alimento del esperado). Por otra parte, la MPE, que se considera un indicador del rendimiento productivo, mostró una media de $1,11 \pm 0,033$ y se situó en un rango entre 0,81 y 1,47 kg ECM/kg MSI. A diferencia de la RFI, los valores más altos de esta medida corresponden a las ovejas más eficientes.

En el caso de la MPE, la regresión lineal fue estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en algunos casos (riqueza con *HhaI* y *HaeIII*, índice Shannon con *MspI* y *HaeIII*, y equidad con *HhaI* y *MspI*), aunque la R^2 no alcanzó valores elevados. La riqueza estimada utilizando la enzima *HaeIII* fue la que mostró la mejor relación (Figura 1; $P < 0,001$, $R^2 = 0,418$ y R^2 ajustada = 0,401). Sin embargo, en la figura se observa que los datos de cada experimento se agruparon, lo que parece indicar que podría existir un cierto sesgo debido a que la información provenía solo de 2 ensayos. La producción media de leche fue un 34% mayor en uno de ellos, coincidiendo con una MPE también más alta (26%). La relación positiva entre producción de

leche y MPE es una de las limitaciones más conocidas de esta medida de la eficiencia (Connor, 2015). Por ello se prefiere normalmente la RFI, cuyo valor es menos sencillo de obtener, pero resulta genéticamente independiente del tamaño corporal (Crews, 2005) y no se encuentra influenciado por el nivel de producción, de ahí que se considere un posible reflejo de las variaciones en procesos metabólicos básicos (Archer et al., 1999). Sin embargo, con la RFI, la regresión lineal no fue significativa en ningún caso ($P>0,10$) y presentó valores de R^2 menores de 0,04. Como ejemplo del escaso vínculo entre la RFI y los índices de diversidad se presenta la relación con la riqueza obtenida empleando la enzima *Hhal* (Figura 2; $P=0,32$, $R^2=0,031$ y R^2 ajustada=0,0003).

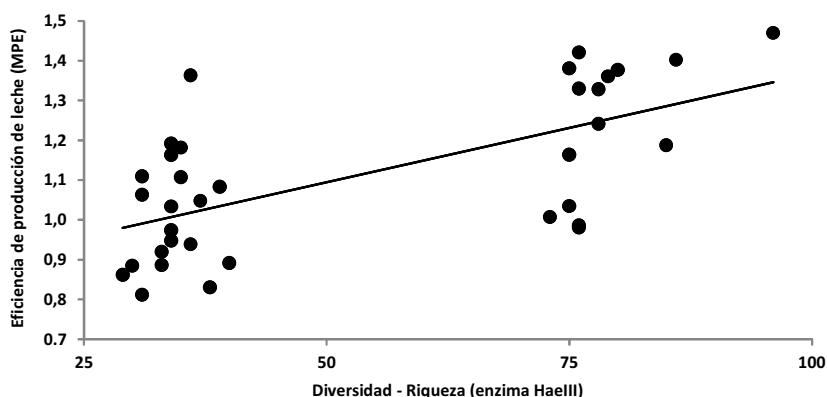


Figura 1. Regresión lineal entre la eficiencia de producción de leche (MPE) y la diversidad bacteriana (riqueza) estimada mediante T-RFLP y usando la enzima *HaeIII* ($R^2=0,418$).

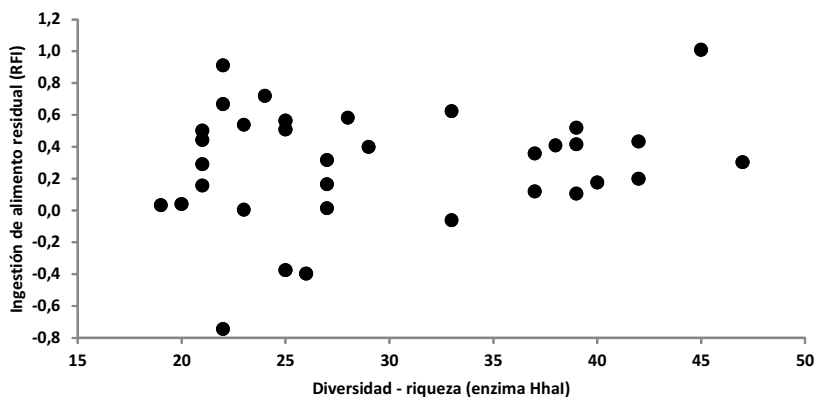


Figura 2. Regresión lineal entre la ingestión de alimento residual (RFI) y la diversidad bacteriana (riqueza) estimada mediante T-RFLP y usando la enzima *HhaI* ($R^2=0,031$).

Se han propuesto 2 teorías sobre la relación entre eficiencia alimentaria y diversidad microbiana en el rumen. Algunos trabajos en vacuno lechero (Shabat et al., 2016) y de carne (Li y Guan, 2017) sugieren que el microbioma ruminal es menos diverso y activo en los animales más eficientes. Esto podría ser debido a que una comunidad microbiana más simple exhibiría menos competencia entre sus componentes, utilizaría menos sustrato y energía para su proliferación y dirigiría más nutrientes al hospedador (Cantalapiedra-Hijar et al., 2018). Por otro lado, existe una idea generalizada de que una mayor diversidad siempre es mejor, que coincidiría con la hipótesis de que los animales más eficientes presentan una diversidad microbiana más elevada. Esto podría traducirse en una variedad más alta de rutas

metabólicas, de forma que prevalecerían aquellas que usan metabolitos con menos C y más cercanas a las del hospedador, lo que le permitiría a este obtener nutrientes procedentes de la microbiota de forma más eficiente (Patil et al., 2018).

Aunque los resultados obtenidos con la MPE apoyarían la segunda hipótesis, las limitaciones descritas y la ausencia de significación de la regresión lineal entre los índices de diversidad y la RFI no permiten alcanzar ninguna conclusión en relación al posible vínculo entre la diversidad bacteriana en el rumen y la eficiencia alimentaria en ovejas en lactación. Además, otras dificultades podrían haber impedido la detección de dicha relación. Los datos procedían de solo dos experimentos y de un restringido número de animales. Asimismo, la metodología utilizada para el análisis microbiano (T-RFLP) era cualitativa y no permitió estudiar la comunidad bacteriana completa. Otro posible inconveniente podría ser una escasa asociación de la información taxonómica de los ecosistemas microbianos con la actividad funcional, tal y como argumentan Patil et al. (2018), quienes construyeron una red metabólica complementaria al estudio taxonómico para poder detectar, en corderas en crecimiento, que los animales más eficientes presentaban una mayor diversidad funcional en el microbioma ruminal.

En cualquier caso, este trabajo es únicamente una primera aproximación y más estudios son necesarios para profundizar en este tema y confirmar si realmente existe una conexión entre la eficiencia alimentaria y la diversidad bacteriana del rumen en ovejas en lactación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFRC. 1993. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Archer, J. A. et al. 1999. *Austr. J. Agric. Res.* 50: 147-161.
- Cantalapiedra-Hijar, G. et al. 2018. *Animal* 12: s321-s325.
- Carberry, C. A. et al. 2012. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 4949-4958.
- Crews, D. H. 2005. *Genet. Mol. Res.* 4: 152-165.
- Connor, E. E. 2015. *Animal* 9: 395-408
- Frutos, P. et al. 2014. *J. Dairy Sci.* 97: 1036-1046.
- Frutos, P. et al. 2017. *J. Dairy Sci.* 100: 9611-9622.
- Frutos, P. et al. 2018. *J. Dairy Sci.* 101: 6122-6132.
- Li, F. & Guan, L.L. 2017. *Appl. Environ. Microbiol.* 83: e00061-17.
- Patil, R. D. et al. 2018. *J. Anim. Sci.* 96: 2113-2124.
- Shabat, S. K. et al. 2016. *ISME J.* 10: 2958-2972.
- Tyrrell, H. F. & Reid, J. T. 1965. *J. Dairy Sci.* 48: 1215-23.

Agradecimientos: Este trabajo forma parte de los proyectos AGL2017-87812-R (MINECO) y CSI276P18 (Junta de Castilla y León), ambos cofinanciados por el FEDER. P.G. Toral disfruta de un contrato Ramón y Cajal del MINECO, cofinanciado por el FSE.

RELATIONSHIP BETWEEN FEED EFFICIENCY AND RUMEN BACTERIAL DIVERSITY IN LACTATING SHEEP: A PRELIMINARY STUDY

ABSTRACT: In ruminant livestock, there is an increasing interest in the improvement of feed efficiency, which has been suggested to be potentially related with the rumen microbial diversity. However, it is unclear whether the rumen microbiome is more or less diverse in efficient animals. Few studies about this have been published, and none refer to dairy ewes. We used data from two previous studies conducted with lactating sheep in our laboratory to examine the potential relationship between feed efficiency, measured by residual feed intake (RFI) and milk production efficiency (MPE), and bacterial diversity (richness, Shannon and evenness indices estimated by T-RFLP with 3 enzymes, *HhaI*, *MspI* and *HaeIII*). Results showed statistically significant linear regressions between MPE and some diversity indices, the best link being found with richness calculated using *HaeIII* ($R^2=0.42$). However, no significant relationship was found with RFI ($P>0.10$ and $R^2<0.04$), which is a more adequate measurement. Limitations due to the low number of experiments and animals, the qualitative methodology to estimate diversity, which additionally does not cover the whole bacterial community, and the use of only taxonomic information might have precluded to obtain clearer results with regards to the possible association between feed efficiency and the rumen microbial diversity.

Keywords: feed efficiency, lactating ewes, microbial diversity, ruminal microbiota.

EFFECTO DE UNA DIETA RICA EN OLEÍNAS SOBRE EL PERFIL GRASO DE LA LECHE DE MADRES BOVINAS DE RAZAS CÁRNICAS Y LA INFLUENCIA DEL NÚMERO DE PARTOS Y DÍAS EN LACTACIÓN

Vázquez Mosquera^{1,2}, J., Villagrà³, A., Gardón⁴, J.C., Pesántez-Pacheco^{5,6}, J.L., Martínez⁷, D., Heras-Molina⁵, A., González-Martín¹, J.V., Sebastián⁸, F., Astiz⁵, S.

¹ Univ. Complutense de Madrid; ² Granja Mudéjar Wagyu, Calle Mayor, 44150 Aliaga-Teruel;

³ IVIA; ⁴ Univ. Católica de Valencia; ⁵ INIA, Avda Pta. De Hierro s/n, 28040 Madrid, España;

⁶ Univ. de Cuenca, Av. Doce de Octubre, 010220 Cuenca, Ecuador; ⁷ EMBRIOVET S.L., C/Rois, 18K, 15165, Bergondo- A Coruña- España; ⁸ Cowvet SL, Avda. País Valenciano 6, 5. 46117 Betera, Valencia, Spain: juan.vazquez@ucuenca.edu.ec

INTRODUCCIÓN

Uno de los componentes más importantes y complejos de la leche de vaca es la grasa, formada por ácidos grasos saturados en un 69% de media, monoinsaturados en un 27% y poliinsaturados en un 4% (Harvatine et al., 2008; Jensen, 2002). Los ácidos grasos se originan casi en partes iguales de dos fuentes, la alimentación y la actividad microbiana (Månson, 2008). Hay algunas estrategias para modificar la composición de la leche y la manipulación nutricional es la forma más fácil y rápida de lograrlo (García et al., 2014). El ácido linoleico conjugado es un ácido omega 6 con isomería trans y de los 17 isómeros de este ácido, el ruménico es el más común, representando más del 80% de los isómeros de éste en la leche y se le atribuyen efectos beneficiosos para la salud del consumidor (Chilliard et al., 2000). Algunas estrategias de alimentación para incrementar los valores de ácido linoleico conjugado en la leche de vaca se basan en el uso de alimentos ricos en ácido linoleico y linoléico, y de componentes de la dieta capaces de crear un ambiente ruminal adecuado para una menor biohidrogenación del ácido vaccénico a ácido esteárico y a la interacción entre ambos factores (Chilliard y Ferlay, 2004)). Las fuentes vegetales más indicadas para modificar el perfil de ácidos grasos de la leche a través de la dieta son las semillas de oleaginosas y los aceites ricos en ácidos grasos insaturados (Chilliard y Ferlay, 2004). En general, la suplementación con lípidos de origen vegetal permite aumentar la concentración de ácido linoleico conjugado y disminuir la proporción de ácidos grasos saturados en la leche, pero la respuesta varía de acuerdo con la fuente de grasa empleada, su nivel y la interacción con la dieta basal (Prieto et al., 2016). El uso de productos como la soja extrusionada que contiene un 18-20% de grasa altamente insaturada (54-56% de linoleico y 7-8% de linoléico) se utiliza también para mejorar el perfil graso lácteo en vacas frisonas (Chilliard y Ferlay, 2004). Los trabajos de investigación en los que incluyen semillas de oleaginosas en la dieta de las vacas para mejorar el perfil de ácidos grasos de la leche se han realizado en ganado lechero, principalmente el holstein y jersey (García et al., 2014). El objetivo de este trabajo de investigación en el marco de un proyecto de producción de terneros de carne de excelente calidad, fue mejorar el perfil graso de la leche de vacas de razas cárnicas que amamantan nuestros terneros de razas wagyu y wángus, mediante una dieta con un extra de soja extrusionada, elevando el contenido en ácidos grasos insaturados, además de comprobar la influencia de la raza, número de lactaciones y días en producción sobre dicho perfil graso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para cumplir el objetivo se analizó la leche de 67 vacas de diferentes razas (7 parda de montaña, 12 charolesa, 33 fleckvieh, 4 angus, 8 mestizas y 2 wángus). Un primer grupo de 34 vacas (1,7±1,4 lactaciones/vaca) recibieron la ración "base" de 25 kg/día de ración *unifeed* que contenía: cebadilla 46%, paja 26%, ensilaje de triticale+veza 27%, carbonato de calcio 0,6%, sal 0,3% y corrector vitamínico 0,2%. Se tomó una primera muestra de leche a los 46,9±48,1 días postparto y a partir de ese momento, se administró la dieta experimental "S-F" (de soy *full-fat*) rica en oleínas consistente en la misma base previa con un extra de 2,5kg de soja extrusionada *full-fat* y 1,5 kg de harina de maíz por vaca y día. Transcurridos 51,6±24,2 días tras introducir la dieta S-F se tomó una segunda muestra de leche (101,9±46,1 días postparto). Un grupo paralelo de 33 madres (1,9±1,2 lactaciones/vaca) recibieron paja y una ración *ad libitum* rica en oleínas desde el momento del parto. Esta dieta que resultaba en un porcentaje de nutrientes similar a la dieta S-F tenía la composición siguiente, cebada 41%, maíz 20%, cascarilla de soja 19%, soja *full fat* 10%, soja-48 6%, grasa *by-pass* 2,5%, carbonato de calcio 0,8%, sal 0,4% y corrector vitamínico 0,3%. De este grupo (también S-F)

se tomó una sola muestra de leche a los $106 \pm 12,6$ días posparto. Las muestras de leche se analizaron en Labocor SL (Colmenar Viejo, Madrid), siguiendo el método Mojonier de extracción y cuantificación mediante cromatografía de gases, minimizando el tiempo entre la extracción y el pinchazo cromatográfico. Se determinó la cantidad relativa de 33 ácidos grasos (especificados en la tabla 2 y en el texto) de los que se hicieron tres grupos según el grado de saturación: **a)** Saturados (AGS), **b)** Monoinsaturados (AGMI) y **c)** Poliinsaturados (AGPI). También se calculó el grado de saturación dividiendo el porcentaje de ácidos grasos insaturados (AGI:AGS) entre el de saturados. Los datos se analizaron mediante ANOVA para muestras repetidas en muestras antes y después de introducir la dieta S-F, las diferencias entre grupos con test *t* de Student, y la correlación entre valores con coeficientes *r* de Pearson usando SPSS® (IBM, v. 25.0).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición media de la leche al inicio del experimento fue de 2,69% y 2,57% de grasa y de proteína bruta. El contenido relativo en ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados antes y después del suministro de una dieta rica en oleínas se muestran en la tabla 1. La concentración de los ácidos grasos saturados disminuyó numéricamente, mientras que la concentración de los ácidos grasos monoinsaturados se elevó levemente, aunque ninguna de estas variaciones fue estadísticamente significativa. Sin embargo, los ácidos grasos poliinsaturados se incrementaron de una manera significativa tras el aporte de oleínas en la dieta, lo que coincide con los resultados reportados por Vargas et al., (2015) en vacas lecheras. Igualmente, en otro estudio realizado por Vieyra et al. (2017) se observó una disminución de los ácidos grasos saturados y un aumento en el de mono y poliinsaturados al incluir aceite de soja en la dieta de vacas holstein. De los ácidos grasos que son de mayor interés para nuestro estudio, el ácido oleico no sufrió variación después de ofrecer la dieta rica en oleínas (Tabla 2). Sin embargo, en los ácidos linoleico y alfa-linolénico sí se observó una variación significativa, lo que coincide con trabajos previos (Tabla 2; Vieyra et al., 2017). La concentración de ácidos grasos poliinsaturados global no varió entre razas (datos no mostrados). El contenido de ácido araquídico (C20:0) y margaroleico (C17:1) no varió entre razas antes de recibir la dieta rica en oleínas. Sin embargo, tras cambiarse la ración, la concentración de araquídico (C20:0) se elevó sólo en las madres de raza Fleckvieh en comparación con las de raza Parda ($P=0,04$). Para el ácido margaroleico (C17:1) su concentración en leche después del aporte de oleínas fue mayor en las razas w Angus, y fleckvieh con respecto a la parda ($P<0,05$). Finalmente, al analizar el efecto de los factores asociados más allá de la dieta se observó que los ácidos grasos saturados: caproico ($r=0,391$; $P<0,05$), caprílico ($r=0,496$; $P<0,05$), cáprico ($r=0,554$; $P<0,001$) y láurico ($r=0,513$; $P<0,01$) y monoinsaturados: caproleico ($r=0,593$; $P<0,001$) y erúxico/cetoleico ($r=0,462$; $P<0,001$) tendieron a incrementar su concentración con el número de lactaciones, independientemente de la dieta recibida. Y como era de esperar, el efecto en la reducción de los saturados y elevación de los poliinsaturados se incrementaba con los días consumiendo la dieta experimental S-F rica en oleínas (erúxico/cetoleico $r=0,588$; $P<0,0001$; y linoleico $r=0,565$; $P<0,0001$). En resumen, la adición de soja *full-fat* a la ración de vacas de carne con ternero al pie produce un cambio en la proporción de ácidos grasos de la leche, elevando significativamente la proporción de poliinsaturados de una manera tiempo-dependiente.

Tabla 1. Contenido de ácidos grasos clasificados según su grado de saturación en la leche de vacas de razas cárnicas alimentadas con dos raciones con diferente contenido en oleínas.

Contenido (%)	Dieta inicial (n=34)	Dieta S-F (n=63)	Valor P
Ácidos Grasos Saturados (AGS)*	58,3 \pm 4,50	56,2 \pm 5,44	0,8014
Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI)*	35,2 \pm 4,27	36,1 \pm 5,03	0,2141
Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)*	2,3 \pm 2,32	5,4 \pm 1,73	0,0001
Relación insaturados/saturados	0,64	0,74	

S-F: dieta inicial con extra de soja *full-fat*, igual que la dieta inicial con un contenido adicional de oleínas.*El contenido de ácidos grasos se expresa en porcentaje respecto al total de grasa bruta en la leche. Los datos se expresan como media \pm DE. El valor P se refiere a la diferencia entre números en la misma línea.

Tabla 2. Contenido diferencial de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en leche de vacas de razas cárnicas alimentadas con dos raciones con diferente contenido en oleínas.

	Dieta inicial	Dieta S-F	Valor P
Contenido en (%)	(n=34)	(n=63)	
Butírico C (4:0)	2,12±0,50	1,91±0,51	0,84
Caproico C (6:0)	1,13±0,28	1,20±0,42	0,02
Caprílico C (8:0)	0,50±0,23	0,53±0,33	0,56
Cáprico C (10:0)	1,45±0,48	1,69±0,71	0,01
Láurico C (12:0)	1,73±0,49	2,07±0,73	0,0001
Mirístico C (14:0)	6,47±1,09	7,67±1,94	0,0001
Pentadecanoico C (15:0)	1,23±0,29	1,24±0,32	0,45
Palmitico C (16:0)	27,5±1,75	25,6±3,16	0,26
Margárico C (17:0)	0,77±0,13	0,64±0,14	0,001
Esteárico C (18:0)	15,2±2,85	13,5±3,15	0,0001
Araquídico C (20:0)	0,26±0,07	0,20±0,11	0,001
Caproleico C(10:1)	0,01±0,03	0,02±0,05	0,31
Lauroleico C (12:1)	0,16±0,22	0,16±0,22	0,45
Miristoleico C (14:1)	0,40±0,25	0,63±0,32	0,01
Palmitoleico C (16:1)	1,76±0,37	1,66±0,53	0,03
Margaroleico C (17:1)	0,45±0,11	0,38±0,12	0,03
Oleico C (18:1)	31,5±3,79	32,3±4,62	0,26
Gadoleico C (20:1)	0,41±0,31	0,47±0,46	0,75
Erúxico/Cetoleico C(22:1)	0,47±0,55	0,42±0,34	0,07
Hexadecadienoico C(16:2)	0,41±0,12	0,36±0,15	0,30
Linoleico C(18:2)	2,64±0,41	3,94±0,45	0,05
Alfa-Linolénico C (18:3)	0,38±0,09	0,39±0,09	0,03
Estearidónico C (20:2)	1,12±0,42	1,55±0,70	0,001

S-F: dieta inicial con extra de soja full-fat, igual que la dieta inicial con un contenido adicional de oleínas. *El contenido de ácidos grasos se expresa en porcentaje respecto al total de grasa bruta en la leche. Los datos se expresan como media ± DE. El valor P se refiere a la diferencia entre números en la misma línea.

Agradecimientos: Trabajo financiado con el proyecto CDTI-IDI-20180254.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- García, C., Montiel, R & Borderas, T. (2014). Arch. Zootec. 63:85-105.
- Harvatine, K., Boisclair, Y & Bauman, D. (2008). Animal 3:40-54.
- Chilliard, Y. (2000). Ann Zootech. 49:181-205.
- Chilliard, Y y Ferlay, A. (2004). Reprod. Nutr. Dev. 44(5):467-492.
- Mánson, H.L. (2008). Food Nutr Res. 52:1-3.
- Prieto, E., Mahecha, L., Angulo, J., Vargas, J. (2016). Agr Meso 27:421-437.
- Vargas, Bello., Fehrmann, E., Iñiguez, G., Toro, P & Garnsworthy, P. (2015). J. Dairy Sci 98:111-117.
- Vieyra, R., Arriaga, C., Domínguez, A., Bórquez, J., Morales E. (2017). Agrociencia 51:299-313.

EFFECT OF A DIET ENRICHED IN OLEINS ON THE FAT PROFILE OF THE BOVINE MILK OF BEEF COWS AND THE INFLUENCE OF THE NUMBER OF LACTATIONS, BREED AND DAYS IN LACTATION.

ABSTRACT: Our aim was to modify the fatty acid profile of the milk of beef cows with suckling calves of cross and pure wagyu breed, to increase the content of unsaturated fatty acids. The addition of 1.5 kg corn and 2.5 kg of full-fat extruded soy per cow, per day caused a change in the proportion of fatty acids with a statistically significant increase in polyunsaturated fatty acids and a numerical decrease in saturated fatty acids. The breed did not influence the milk fat profile. The monounsaturated fatty acids increased with days in milk, especially the oleic, while the linoleic acid increased with parity and with the number of days feeding the oleins enriched diet.

Keywords: polyunsaturated fatty acids, milk, full-fat soy, beef

EFFECTO DEL NIVEL DE LA PROTEÍNA BRUTA SOBRE EL ESTADO METABÓLICO EN CORDEROS LIGEROS

Joy¹, M., Lobón¹, S., Blanco¹, M., Casasús¹, I., Baila, C., Bertolín¹, J.R. y Álvarez-Rodríguez², J.

¹ Centro de Investigación y Tecnología Alimentaria de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza. Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. ²Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Lleida, 25198 Lleida, España; mjoy@cita-aragon.es

INTRODUCCIÓN

Los niveles de proteína bruta (PB) utilizados en los concentrados de cebo de corderos españoles oscilan entre el 15% y 20,5% sobre materia seca (MS) (Bello *et al.*, 2016), en función del potencial de crecimiento de la raza (autóctonas o cruce industrial) y la densidad energética de los piensos (FEDNA, 2008). Para optimizar el contenido de PB en las dietas de rumiantes de cebo se podrían monitorizar los niveles en sangre de los catabolitos de proteína (Costa *et al.*, 2017), pero en el ovino existe poca información sobre las concentraciones de metabolitos sanguíneos según los niveles de PB de las dietas. Un estado nutricional inadecuado podría aumentar los radicales libres sanguíneos y el estado oxidativo metabólico (Castillo *et al.*, 2001), pero se desconoce el efecto de la PB de la dieta sobre estos biomarcadores. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la ingestión de PB sobre los catabolitos de proteína (urea y creatinina), el β -hidroxibutirato (BHB) y malondialdehído (MDA) sanguíneos en corderos de cebo en dos fases diferentes (crecimiento y acabado).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 24 corderos de raza Rasa Aragonesa para realizar dos ensayos *in vivo*, con 12 corderos en cada uno. En cada ensayo se evaluaron dos piensos iso-energéticos con diferente contenido de PB. El primer ensayo se realizó en la fase de crecimiento del cordero ($14 \pm 0,9$ kg de peso vivo) evaluando dos piensos con 18% y 20% (sobre MS) de PB. El segundo ensayo se realizó con corderos en la fase de acabado ($18 \pm 0,8$ kg de peso vivo) comparando otros 2 piensos con 17% y 19% (sobre MS) de PB. Los ingredientes y composición química de los piensos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los piensos utilizados.

Fase	Crecimiento		Acabado	
	18% PB	20% PB	17%PB	19% PB
Nivel de proteína				
Ingredientes, %				
Trigo	30,0	29,9	29,9	29,9
Cebada	21,8	20,5	25,5	23,1
Maíz	21,9	20,5	23,6	23,3
Harina de soja 47	13,3	16,0	7,9	10,7
Granos de destilería de maíz secos	6,0	6,0	6,0	6,0
Harina de colza europea	3,0	3,0	3,0	3,0
Carbonato cálcico	2,3	2,3	2,4	2,4
Otros ¹	1,5	1,5	1,5	1,5
Composición química, % materia seca				
Proteína bruta	18,3	20,4	17,4	19,2
Grasa bruta	2,2	2,1	2,2	2,4
Fibra neutro detergente	18,6	21,0	26,43	25,5
Fibra ácido detergente	7,05	8,2	8,47	7,86
Lignina ácido detergente	1,23	1,31	1,14	1,08
Almidón	44,9	41,9	44,4	43,4
Energía bruta (MJ/kg)	12,73	12,54	12,27	12,48

¹Sal, Cloruro amónico, corrector vitamínico/mineral y premezcla de aceites/ surfactante.

Los corderos se alojaron en jaulas individuales de digestibilidad que contaban con comedero, bebedero y colector de excreciones con separador para heces y orina en la jaula. La oferta de pienso a los corderos se ajustaba individual y diariamente con una oferta un 10-20% por encima de su ingestión voluntaria del día anterior para asegurar una ingestión a voluntad y el agua estaba a libre disposición. Los corderos se adaptaron al pienso experimental durante 7 días, 2 de ellos ya alojados en las jaulas. El primer y último día de la estancia en las jaulas metabólicas, los animales se pesaron y se extrajo una muestra de sangre (5 ml) de la vena yugular a primera hora de la mañana (8:00h) mediante tubos de vacío con anticoagulante EDTA. Las muestras se centrifugaron *in situ* después de cada extracción para separar el plasma y se congelaron hasta su posterior análisis. El análisis de la concentración plasmática de urea (método enzimático), creatinina (método cinético) y β -hidroxibutirato (BHB) (método enzimático) se realizó mediante un analizador automático (GernonStar, RAL/TRANSASIA, Dabhel, India). La concentración de malondialdehído (MDA) como biomarcador de estrés oxidativo en plasma se determinó por cromatografía líquida con detector de fluorescencia (HPLC-FLD) siguiendo el método de Yonny *et al.* (2016). El análisis estadístico se realizó para cada fase por separado con el programa SAS (v.9.3). Para cada metabolito, se calculó el valor promedio de las dos medidas obtenidas. Se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA) con el contenido en PB como efecto fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los catabolitos proteicos en plasma no se vieron afectados por el nivel de proteína en ninguna fase del cebo del cordero (Tabla 2; $P > 0,05$). La urea en sangre es un indicador del nivel de proteína ingerida o movilizada, mientras que la creatinina refleja la degradación de creatina, implicada en el metabolismo energético muscular (Bilancio *et al.*, 2014). Todos los niveles de urea y creatinina en plasma estuvieron en ambas dietas dentro de los valores normales para ovino en crecimiento (Kaneko *et al.*, 1997), observando en ambos metabolitos un aumento de la fase de crecimiento a la fase de acabado, que sería paralelo al incremento de nitrógeno ingerido. En corderos pesados (50 kg) la concentración de urea se reduce y la de creatinina aumenta al reducir de un 18% a un 10% el contenido en PB de la dieta (Hatfield *et al.*, 1998). En el presente estudio la variación de la PB de la dieta fue solo de dos puntos porcentuales lo que puede justificar las diferencias entre estudios.

Tabla 1. Efecto del contenido en proteína bruta de los piensos en la fase de crecimiento y cebo en la concentración de catabolitos proteicos en plasma.

Catabolitos proteicos	Crecimiento				Acabado			
	18%	20%	EE ¹	P-valor	17%	19%	EE ¹	P-valor
Urea, mmol/l	3,40	3,64	0,42	0,70	4,58	5,19	0,44	0,35
Creatinina, μ mol/l	38,01	43,61	6,33	0,55	60,92	63,21	4,62	0,73

EE¹: error estándar.

Los niveles de BHB en plasma estuvieron dentro de la normalidad y únicamente se observó una tendencia ($P=0,09$) en la fase de acabado, presentado mayores niveles en los animales que ingirieron mayor nivel de proteína (Figura 1). Este metabolito evidencia un cambio hepático en los rumiantes jóvenes, que pasan de absorber glucosa en el intestino a producir ácidos grasos volátiles en el rumen. El mayor contenido de BHB con la dieta de nivel alto de PB en acabado podría atribuirse a una mayor producción de butirato ruminal, que, a su vez, favorecería el desarrollo de las papilas ruminales (Suarez-Mena *et al.*, 2017).

En relación al efecto del nivel de PB sobre el estrés oxidativo determinado como MDA tampoco se observó ningún efecto, aunque fue numéricamente inferior en las dietas con bajo nivel en PB. La concentración de este aldehído dependería de la concentración de ácidos grasos insaturados en el plasma, que actuaría como sustrato.

En conclusión, la disminución del nivel de proteína bruta en los piensos de crecimiento y de acabado en dos puntos porcentuales no modificó la concentración de urea, creatinina, β -hidroxibutirato ni malondialdehído en plasma.

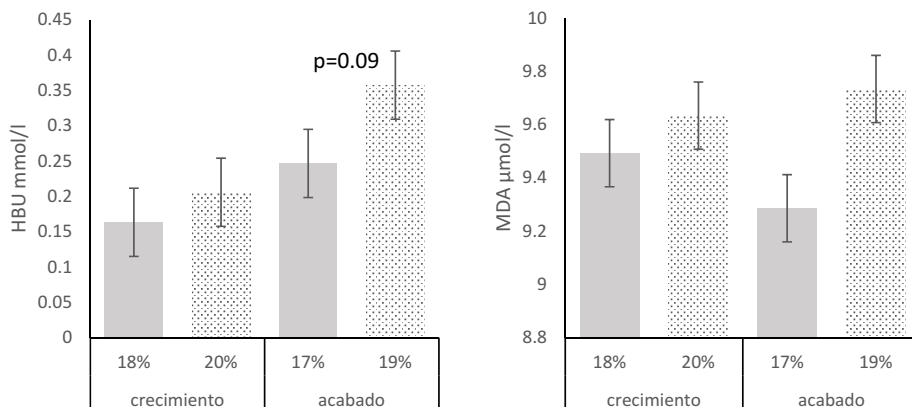


Figura 2. Concentración de β -hidroxibutirato (HBU) y de malondialdehído (MDA) según el contenido de proteína bruta del pienso en la fase de crecimiento y acabado de corderos ligeros

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baila et al., 2019. *AIDA. XVIII J. Prod. Ani.*
- Bello et al., 2016. *Small Rum. Res.*, 142, 78–82.
- Bilancio et al. 2014. *PLoS ONE*, 9(9), 1–7.
- Castillo et al., 2001. *Arch. med. vet.* 33(1).
- Costa et al., 2017. *AIDA. XVII J. Prod. Ani.*, 85, 324–326.
- Fluharty y McClure 1997. *J. Anim. Sci.* 75(3), 604-610.
- Gao et al., 2016. *Animal Sci. J.*
- Hatfield et al., 1998. *Small Rum. Res.*, 28:161-170.
- He et al., 2018, *Anim Feed Sci. Technol* 246, 1–10
- Kaneko et al., 1997. *Clinical Biochemistry of domestic Animals.*
- Kaya et al., 2009. *J Anim Vet Adv*, 8(8), 309-312.
- Ma et al., 2017. *Anim Feed Sci. Technol.* 231, 19-28.
- Pelegrín et al., 2019. *XVIII J. Prod. Ani.*
- Suarez-Mena et al. 2017. *J. Dairy Sci.*, 2017, 100:1-11
- Yonny et al., 2016. *Microchemical J.* 129, 281-285.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto RTA2017-00008-C01. Los autores agradecen el apoyo técnico del personal de CITA.

EFFECT PROTEIN CONTENT IN THE CONCENTRATE ON BLOOD PROTEIN CATABOLITES, BETAHYDROXYBUTYRATE AND OXIDATION IN LAMBS DURING THE GROWING AND FINISHING PERIODS

ABSTRACT: Light lambs are usually fed concentrates with 18-20% crude protein (CP), however, these contents could be reduced. The aim of the study was to evaluate the effect of the CP content in the concentrate on the concentration of metabolites in plasma in lambs during the growing and finishing periods. In growing lambs (14 kg), the iso-energetic concentrates had 18% and 20% CP (on dry matter basis; DM). In finishing lambs (18 kg), the iso-energetic concentrates had 17% and 19% CP (DM). The concentration of urea, creatinine and β -hydroxybutyrate and the antioxidant status were not affected by the CP content of the concentrate in any of the periods. According to these results, the CP content of the concentrates can be reduced at least 2% in both periods.

Keywords: Protein catabolites, β -hydroxybutyrate, malonaldehyde, dietary protein.

COMPARATIVA ENTRE TÉCNICAS NO INVASIVAS PARA LA MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE METANO EN EXPLOTACIONES COMERCIALES DE BOVINO LECHERO

Rey¹, J., Atxaerandio¹, R., Ruiz¹, R., Ugarte¹, E., González-Recio^{2,3}, O., Garcia-Rodriguez¹, A. y Goiri¹, I.

¹NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz.; ²Escuela Técnica Superior De Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. UPM. ³Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria; jrey@neiker.eus

INTRODUCCIÓN

En el informe de IPCC del 2014, se concluye que el 24 % de la producción total de gases de efecto invernadero (GEI) proviene de la agricultura y el sector forestal, siendo el sector ganadero el responsable del 14,5 % de los GEI de origen antropogénico (Gerber et al., 2013). Del conjunto de emisiones ligadas al sector ganadero, un 39,1 % es metano (CH₄) de origen entérico (Gerber et al., 2013). Las emisiones de CH₄ suponen tanto una disminución de la eficiencia energética del alimento (Jhonson et al., 1993; IPCC, 2007) como una contribución al calentamiento y al cambio climático global (IPCC, 2014). En este contexto, la reducción de las emisiones de metano ganaderas, y en particular del metano entérico, se plantea como un asunto de primer nivel en el sector agroganadero. La reducción de estas emisiones se puede abordar desde una combinación de estrategias de manejo, nutricionales y de mejora genética. Sin embargo, para poder implementar cualquiera de estas estrategias, y en especial la integración de programas de mejora genética, es necesario tener datos individuales de metano en un gran número de animales en condiciones comerciales.

La producción de CH₄ es un carácter heredable, pero se requieren mediciones precisas y repetibles en el tiempo de la emisión de CH₄ para evaluar la eficacia de las posibles estrategias de selección para la reducción de las emisiones de CH₄ (Hammond et al., 2016). En este contexto, una cuestión que ha suscitado un gran interés en los últimos años es avanzar en la armonización de metodologías de medida, para posibilitar un intercambio de los datos obtenidos con diferentes metodologías de medida de metano y en diferentes grupos de investigación, con el objetivo de generar grandes bases de datos de emisiones de metano que nos ayuden a abordar las estrategias de reducción.

En la actualidad existen diferentes técnicas para medir CH₄, pero se requiere de metodologías no invasivas y portátiles, capaces de medir las emisiones de CH₄ a gran escala y con precisión. Dos de los métodos más utilizados son el láser de mano (LMD) y un detector de metano infrarrojo (SNIFFER). A pesar de ello, hasta la fecha, no hay estudios que comparen estas dos técnicas entre sí. El objetivo de este estudio fue analizar el acuerdo y la concordancia de las emisiones de CH₄ mediante el LMD y el SNIFFER en condiciones de campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se compararon dos técnicas no invasivas para medir la concentración de metano: SNIFFER (Guardian NG Edinburg Instruments Ltd., Livingston, UK) y LMD (SA3C50A LaserMethane mini-G DLTokyo Gas Engineering Co., Ltd. Anritsu Devices Co., Ltd.). El SNIFFER mide la concentración metano (ppm) en el aire exhalado por los animales, mientras que el LMD mide la densidad de la columna de aire entre el aparato y el ollar del animal (ppm-m). Ambos realizan lecturas mediante espectroscopia de absorción infrarroja, registrando los datos cada 1 s el SNIFFER y 0,5 s el LMD.

El estudio se realizó en la explotación de vacuno lechero de la Escuela Agraria de Fraisoro (Zizurkil, Gipuzkoa). Para el estudio se utilizaron 29 vacas de las razas Holstein y Parda alpina. A cada animal se le realizaron seis medidas con el SNIFFER y el LMD en 6 días diferentes, conformando 164 medidas en su totalidad. Cada medida tuvo una duración de 5 minutos. Las medidas fueron simultáneas con ambos dispositivos, colocándose el LMD a 1 m de distancia del ollar, de forma horizontal, a la vez que se colocaba el final del tubo del equipo SNIFFER próximo al ollar del animal.

Se calculó la media de todos los valores de concentración de CH₄ y el número de picos en cada perfil de 5' en ambos dispositivos. Dado que las unidades son diferentes, se transformaron los datos obtenidos por el LMD a ppm, para su posterior comparación, para lo cual se consideró una burbuja de aire exhalado de 10 cm desde el ollar, y una concentración

de 2 ppm en el aire del ambiente. La asociación entre los valores de metano obtenidos con el LMD y las concentraciones de metano obtenidas con el SNIFFER se analizaron mediante un análisis de correlación de Pearson y Spearman, (SAS® Institute INC, Cary, NC, EEUU, Versión 7.15, 2017). Los datos también se analizaron utilizando un modelo bivariante de medidas repetidas en un marco bayesiano en el que las variables dependientes fueron la concentración de metano medida con el SNIFFER (ppm) y la medida con el LMD (ppm-m) o la concentración de metano del SNIFFER (ppm) y la medida con el LMD transformando las unidades a ppm. Se consideraron como efectos fijos el número de lactación, el estado de lactación y la raza, y como efecto aleatorio el animal.

Para el estudio de la concordancia entre los valores de concentración de metano obtenidos con ambos aparatos, se han calculado dos coeficientes de correlación escalados: el coeficiente de acuerdo individual y coeficiente de correlación de concordancia. Para ello se utilizaron los datos obtenidos por el SNIFFER y los datos calculados del LMD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método de correlación de Spearman mostró una correlación positiva y moderadamente alta entre métodos tanto para la concentración de metano, ($r=0,74$, $P<0,001$) como para el número de picos ($r=0,72$, $P<0,001$). Resultados similares se encontraron cuando se usó el método de Pearson para la concentración de metano ($r=0,73$, $P<0,001$) como para el número de picos ($r=0,72$, $P<0,001$).

Tabla 1. Medias posteriores obtenidas con el modelo bivariante de medidas repetidas. Las desviaciones estándar de la distribución posterior se muestran entre paréntesis.

Modelo bivariante de medidas repetidas	LMD	SNIFFER	LMD_cal
Unidad	ppm-m	ppm	ppm
Correlación entre métodos del efecto permanente (EEM)		0,93 (0,08)	
Varianza en el modelo bivariante	819	194003	81942
Repetibilidad (EEM)	0,29 (0,100)	0,35 (0,110)	0,29 (0,100)
Coefficiente de acuerdo individual		0,75	
Coefficiente de correlación de concordancia		0,51	

LMD: Laser de mano (ppm-m); LMD_cal: Laser de mano calculado (ppm); EEM: error estándar de la media.

Cuando analizamos los datos con el modelo bivariante, en el que se tienen en cuenta diferentes fuentes de error, podemos observar como el coeficiente de correlación del efecto permanente es alto (Tabla 1). Los resultados del modelo bivariante también muestran que los datos de repetibilidad observados para ambos dispositivos están en línea con los descritos anteriormente por otros autores (Sorg et al, 2018; Lassen et al, 2012), siendo la repetibilidad para el SNIFFER (0,35) mayor que la observada para el LMD (0,29). El coeficiente de correlación de concordancia del LMD con el SNIFFER fue moderado (0,51). Sin embargo el coeficiente de acuerdo individual fue alto (0,75), indicando que la concordancia entre los resultados de ambos dispositivos fue moderadamente satisfactoria.

En conclusión, teniendo en cuenta los datos obtenidos en este estudio, se puede decir que las medidas de metano obtenidas con los métodos SNIFFER y LMD presentan un acuerdo razonable y podrían usarse conjuntamente para establecer rankings de individuos en relación a su producción de metano en estudios con fines de selección genética o para evaluar medidas de reducción de emisiones de metano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Gerber, P.J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Falcucci, A., Tempio, G., 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome. • IPCC (International Panel on Climate Change). 2014: Synthesis Report. Contribution of

Working Groups I, II, and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. [Core Writing Team, Pachauri, R.K. and Meyer, L.A. (Eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 155 pp. <http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/art5/syr/SYR_AR5_FINAL_full_wcover.pdf> • Johnson, J., Franzluebbers, A., Lachninnicht Weyers, S., Reicosky, D. 2007. Environmental Pollution 150: 107-124 • Lassen, J., Lovendahl, P., Madsen, J. 2012. American Dairy Science Association 95:890-898 • SAS 2017. Enterprise's Guide. Release 2017. • Sorg, D., Difford, G., Mühlbach, S., Kuhla, B., Swalve, H., Lassen, J., Strabel, T., Pszczola, M., 2018. Computers and Electronics in Agriculture 153: 285-294.

Agradecimientos: La investigación fue cofinanciada por el INIA (RTA2015-00022-C03-02) y el Departamento de Desarrollo Económico y Competitividad del Gobierno Vasco.

COMPARISON BETWEEN NON-INVASIVE METHANE MEASUREMENT TECHNIQUES IN CATTLE

ABSTRACT: The aim of this study was to study the agreement between laser methane detector (LMD) and a NDIR methane detector (SNIFFER). On six different days, methane was measured during a 5-min sampling period simultaneously with the two devices for 29 dairy cows, obtaining a total of 164 paired measurements. Measurements with LMD were taken at 1 m distance of cows' nostrils and SNIFFER tube was put on the cows nostrils. For every 5 min interval the average methane concentration and the number of peaks with both devices were calculated. Pearson and Spearman correlation coefficients were calculated. Data was also analyzed using a bivariate model for repeated measurements in a bayesian framework, and to study concordance between methods two scaled correlation coefficients were calculated: concordance correlation coefficient (CCC) and coefficient of individual agreement (CIA). Pearson and Spearman correlation coefficients were high for average concentration ($r=0.73$ and $r=0.74$, $P<0.001$, respectively) and for the number of peaks ($r=0.72$, $r=0.72$, $P<0,001$, respectively). Results from bivariate model showed a high correlation between devices ($r=0.93$), and scaled correlation coefficients were moderate (CCC=0.51) or high (CIA=0.75). In conclusion, data obtained with both devices could be interchangeable to rank animals for breeding purposes or study methane abatement strategies.

Keywords: cow, methane, SNIFER, LMD.

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL USO DE ENERGÍA EN CAMELIDOS SUDAMERICANOS Y RUMIANTES

Vélez^{1,3}, V., Moscoso², J. y Estellés¹, F.

¹ Universitat Politècnica de València - DCA. Camino de Vera s/n 46022, Valencia - España.

² Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco - FCA. Av. de la Cultura 733. Cusco-Perú. ³Universidad Nacional Mayor de San Marcos - FMV - IVITA Marangani. Av.

Circunvalación s/n Lima 41 - Perú.; vicvemar@doctor.upv.es

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos (CSA) son especies que han evolucionado en un ambiente hostil y han debido adaptar mecanismos fisiológicos para enfrentar una pobre disponibilidad de nutrientes provenientes de la pastura altoandina. La crianza de alpacas (*Vicugna pacos*) y llamas (*Lama guanicoe*) en la zona andina de Sudamérica reviste singular importancia considerando a que habitan en espacios donde otras especies, principalmente rumiantes, no han logrado desarrollarse adecuadamente debido a los rigores que impone esta zona, asimismo, su crianza representa la principal actividad socio – económica del poblador andino, quienes están catalogados como los más vulnerables en un contexto ambiental y económico. Los CSA, agrupan a especies herbívoras (*Tylopoda*) que poseen un estomago compuesto y una sustancial fermentación microbiana (Nielsen *et al.*, 2014), realizan la rumia y poseen una microbiota con funciones similares a las del rumen. Sin embargo, los estudios iniciales realizados en estas especies, indican que si bien existen similitudes, el sistema digestivo de los CSA difiere significativamente de los rumiantes (*Ruminantia*), tanto a un nivel anatómico como funcional (Rübsamen y von Engelhardt, 1979). Estas particularidades se traducirían en un proceso digestivo más eficiente frente a los rumiantes, y se representaría en una tasa metabólica por debajo de la reportada en rumiantes, sumado a una baja emisión de metano. En este sentido, Nielsen *et al.* (2014), indican que las llamas tienen un gasto energético total, sustancialmente inferior a las ovejas y cabras. Además, presentan la capacidad de reducir sus requerimientos energéticos de mantenimiento cuando consumen dietas de baja calidad. El objetivo de la presente comunicación es presentar y analizar la información existente respecto al uso de la energía por los CSA en forma comparativa con los rumiantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un meta-análisis utilizando bases de datos bibliográficas relevantes, respecto al uso comparativo de la energía en ambos subórdenes, para ello se ha revisado información relacionada a las características anatómicas y funcionales del sistema digestivo de los CSA, el consumo de MS, necesidades energéticas y dentro de este punto, se abordó la tasa metabólica y adaptación ambiental, la energía para termorregulación, la regulación del uso de la energía, y finalmente la producción de metano.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El meta-análisis permite generalizar que los camélidos y los rumiantes al pertenecer a diferentes subórdenes del orden *Artiodactyla*, han sufrido una evolución paralela, representada por divergencias anatómicas y funcionales de su sistema digestivo. Las mismas que regulan en los CSA el uso de la energía. Los CSA tienen sólo 3 compartimentos y presentan pequeños sáculos en los compartimentos 1 (C1) y 2 (C2), los cuales tendrían funciones secretoras (bicarbonato) para proveer alta capacidad buffer (Eckerlin y Stevens, 1973; Dulphy *et al.*, 1997). Asimismo, presentan diferencias en la tasa de pasaje de las diferentes fases, siendo más lenta para la sólida (San Martín y Bryant, 1989), y rápida para la fase líquida (Robinson *et al.*, 2006). Estas diferencias son una respuesta evolutiva frente a condiciones ambientales extremas como la existente en la zona altoandina, aspecto corroborado por Claus *et al.* (2010), quienes reportaron que los CSA aunque son “*rumiantes funcionales*”, presentarían una tasa metabólica inferior a los rumiantes catalogados como “*verdaderos*”. Las evidencias que soportan un menor gasto energético por CSA fueron reportadas por NRC (2007); para el caso de la energía metabolizable de mantenimiento (EMm) la cual ascendió a 305 kJ de masa metabólica (PM)/día, este valor representaría del

30 al 50% de la estimación de la EMm del 450 a 600 kJ/kg PM^{0.75}/día para rumiantes domésticos (GfE, 1995, 1996). Ver tabla 1.

Tabla 1. Cuadro comparativo del requerimiento de Energía Metabolizable de mantenimiento entre camélidos y rumiantes.

Especie	Valor (kJ/kg ^{0.75} /día)	Referencia
Alpaca	276	(Newman y Petersen (1994)
Llama	256	(Rübsamen y von Engelhardt, 1979)
Cabra	423-576	(Gfe, 2003; NRC, 2007)
Oveja	390-447	(Gfe, 1996; NRC, 2007)
Vaca	488-537	(Gft, 1995)

Respecto a los mecanismos de optimización del uso de energía en CSA, existirían dos mecanismos involucrados en esta regulación.

En primer término, en los rumiantes en general, la obtención de energía (como glucosa) se obtiene a partir de los procesos fermentativos que generan ácidos grasos volátiles, principalmente propionato; sin embargo, en los CSA, los recursos forrajeros de la zona altoandina, poseen mínimas cantidades de azúcares y almidón y en mayor proporción carbohidratos estructurales, lo cual limita la producción de propionato (Van Saun, 2006), por lo que se ha postulado que los requerimientos de glucosa tendrían como fuente principal a los aminoácidos glucogénicos absorbidos a nivel intestinal (Van Saun, 2006).

Otra forma de optimizar la energía por los CSA ha sido revisada por Gerken (2010), mediante ajustes en su termorregulación, utilizando “ventanas térmicas” las mismas que se distribuyen en zonas con fibra más corta o piel más delgada y se sitúan en el abdomen ventral, espacio axilar y el interior de los muslos (aproximadamente en el 20% de la piel), estas ventanas permiten modular la disipación del calor. Para regular la pérdida de calor, los CSA adoptan posturas específicas de acuerdo con las condiciones ambientales, cerrando o abriendo estas ventanas térmicas. Se calculó un ahorro energético de hasta el 67% por postura, según estudios realizados en guanacos. Otro aspecto complementario se presenta con la orientación oblicua de los folículos pilosos en los CSA, los cuales cumplen un papel directo en el aislamiento y la protección al frío, en contraste a la orientación perpendicular de estas estructuras en ovinos (Atlee *et al.*, 1997).

Tabla 2. Emisión diaria de CH₄, gasto energético en ayunas y consumo de energía digestible por especie.

	CH ₄ //día/kg ^{0.75}	Gasto de energía en ayunas. kJ/día/kg ^{0.75}	% Consumo de energía digestible
Llama*	0.83 ^a	246±23 ^a	-
Oveja*	1.34 ^b	333±29 ^b	-
Cabra*	1.24 ^b	414±19 ^c	-
CSA ⁺	0.35	-	8.30±2.6
Oveja + Cabra ⁺⁺	0.55	-	11.6±2.4

Letras como superíndices denotan diferencia estadística (P>0.05)

*Nielsen *et al.* (2014)

**Valores promedio para todos los CSA, **promedio para ambas especies (Dittmann *et al.*, 2014b)

Finalmente, en el análisis realizado se ha determinado que los CSA serían especies de menor emisión de CH₄ que los rumiantes. Al respecto Dittmann *et al.* (2014b) reportaron que, aunque las emisiones de metano fueron similares cuando se expresaron en función de la ingesta de fibra neutro detergente, en general, los CSA tuvieron emisiones menores de CH₄ en comparación a los rumiantes tanto por individuo como en función al peso de los mismos. La

menor tasa metabólica y, por lo tanto una menor ingesta de los CSA por unidad de peso, puede explicar las menores emisiones en términos absolutos. Nielsen *et al.* (2014) observaron también menores emisiones de CH₄ en llamas en comparación a pequeños rumiantes, teniendo como base el peso vivo e ingesta de MS, aunque la tasa de conversión de CH₄ (Ym) que expresa la cantidad de la energía bruta ingerida que se pierde como CH₄, la cual no fue significativamente distinta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atlee, BA., *et al.* 1997. The histology of normal llama skin. *Vet Derm.* 8: 165-176.
- Clauss, M., *et al.* 2010. Evolutionary adaptations of ruminants and their potential relevance for modern production systems. *Animal* 4, 979 - 992.
- Dittmann, MT., *et al.* 2014b Methane Emission by Camelids. *PLoS ONE* 9(4): e94363.
- Eckerlin, R.H. y Stevens, C.E. 1973. Bicarbonate secretion by the glandular sacculles of the llama stomach. *Cornell Vet.* 63:436–445.
- Gerken, M. (2010). Relationships between integumental characteristics and thermoregulation in South American camelids. *Animal* 4:1451–1459.
- GfE, 1995. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Mastrinder. DLG-Verlag, Frankfurt/Main, Germany.
- GfE, 1996. Energy requirements of sheep. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 5, 149e152.
- GfE, 2003. Recommendations for the Supply of Energy and Nutrients to Goats. DLGVerlag, Frankfurt.
- Newman, S., *et al.* 1994. Effect of level of nutrition and season on fibre growth in alpacas. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 54, 147-150.
- Nielsen, M. *et al.* 2014. Energy metabolism and methane production in llamas, sheep and goats fed high- and low-quality grass-based diets, *Archives of Anim. Nutr.*, 68:3, 171-185.
- NRC. 2007. National Research Council: Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and New World camelids, Washington, DC, National Academic Press.
- Robinson, TF., *et al.* 2006. Digestibility and nitrogen retention in llamas and goats fed alfalfa, C3 grass, and C4 grass hays. *Small Rum Res.* 64:162–168.
- RübSamen, K., y von Engelhardt, W. 1975. Water metabolism in the llama. *Comp. Biochem. Physiol. A* 52, 595-598.
- San Martin, F. y Bryant, FC. 1989. Nutrition of domesticated South American llamas and alpacas. *Small Rum. Res.* 2: 191-196.
- Van Saun, R.J. 2006. Nutrient requirements of South American camelids: A factorial approach. *Small Rumin Res.* 61(2-3):165-186.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE USE OF ENERGY IN SOUTH AMERICAN AND RUMINANTS

ABSTRACT: A systematization and analysis of the most relevant information regarding the use of energy by south american camelids (SAC) compared to ruminants has been carried out. According to this analysis has been established in the first term that the parallel evolution occurred in both suborders, originated in the SAC, anatomical and functional changes in their digestive physiology aimed at optimizing the use of energy in response to a hostile environment. This adaptation has resulted in a lower metabolic rate, as well as lower maintenance metabolizable energy requirements, to date the fundamental principles of these particularities are not known, there is the possibility that two mechanisms are involved, as they are an alternative way to obtaining glucose (from glucogenic aminoacids) and a specialized thermoregulation. In addition, SACs have been classified as species of low methane emission, possibly explained by a lower metabolic rate and consequent lower dry matter intake per unit weight, and finally lower emissions in absolute terms compared to ruminants.

Keywords: camelids, ruminants, energy, methane

APLICACIÓN DE SENSORES DE RADIOFRECUENCIA A LA MEDIDA DEL EFECTO DEL AGUA BEBIDA EN LA TEMPERATURA RUMINAL DE OVEJAS ADULTAS

Bourahla¹, S.M., Castro-Costa¹, A., Oliver², J., Ferrer², C., Salama¹, A.A.K. y Caja¹, G.

¹Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments.

²Àrea d'Arquitectura i Tecnologia de Computadors, Departament de Microelectrònica i

Sistemes Electrònics. Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (Espanya);

gerardo.caja@uab.es

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios han demostrado la utilidad de utilizar bolos ruminales con sensores de temperatura y pH para la detección de acidosis ruminal subclínica en vacas lecheras (Alzahal et al., 2009) o de alteraciones de la salud por infecciones mamarias (Alzahal et al., 2011). Sin embargo, el uso de sensores ruminales en pequeños rumiantes se ve limitado por el tamaño de los dispositivos actualmente presentes en el mercado. Así, su aplicación en ganado caprino se ha realizado mediante cirugía (Castro-Costa et al., 2015) o por medio de cánulas ruminales (Castro-Costa et al., 2017). Recientemente, en el marco de la Acción Cost FA-1308 "DairyCare" y de los proyectos MCINN BioSens y E-SELLET, Oliver et al. (2018) han propuesto un prototipo de bolo ruminal (BioSens) especialmente diseñado para la aplicación oral en ovinos y caprinos adultos (> 30 kg) capaz de detectar los cambios en la alimentación y el agua de bebida. El objetivo del presente estudio fue evaluar el funcionamiento de los bolos y cuantificar el efecto del consumo de agua en la temperatura ruminal de ovejas lecheras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y manejo: Se utilizaron 25 ovejas multíparas (16 gestantes; 9 vacías y secas) de raza Lacaune (n = 16; 83.3 ± 2.9 kg PV) y Manchega (n = 9; 81,5 ± 7.7 kg PV). Las ovejas, estaban previamente identificadas con minibolos cerámicos de baja frecuencia (20 g; Datamars, Bedano-Lugano, SW) y se alojaron permanentemente en condiciones de estabulación libre con cama de paja, en las instalaciones del SGCE (Servicio de Granja y Campos Experimentales) de la UAB en Bellaterra (Barcelona). Las ovejas fueron alimentadas con una ración total mezclada a base de heno de alfalfa y concentrado (relación forraje:concentrado = 60:40) ofrecida ad libitum a las 10:00 h.

Bolos ruminales: Se montaron y aplicaron individualmente un total de 25 bolos ruminales BioSens (Oliver et al., 2018), especialmente diseñados para su aplicación oral en pequeños rumiantes. Lo bolos, encapsulados en plástico, de forma cilíndrica y pequeño tamaño (diámetro × longitud, 20 × 95 mm; peso, 60 g; gravedad específica, 1,7), estaban integrados por un circuito electrónico de alta radiofrecuencia (434,3 MHz) conectado a un sensor para la detección de temperatura (rango 10-50°C; precisión, ± 0,2°C) y una batería de 3,5 A. Las diferencias entre sensores de rango de medida de temperaturas, situada en un intervalo de 1-2°C, se corrigieron mediante calibración previa utilizando un baño de agua (20-50°C). Los bolos (transpondedor) se programaron para recoger datos de temperatura cada 2,5 min y transmitirlos por radiofrecuencia cada 10 min a un módulo receptor (transceptor) a 9,6 kbd provisto de una tarjeta microSD de almacenamiento de datos (8 Gb) y conexión Bluetooth (2,4 GHz) a un ordenador portátil. La distancia de transmisión efectiva se situó, según las características ambientales de la granja y de cada animal, entre 5-10 m. La descarga de datos se realizó mediante Bluetooth, utilizando el programa HyperTerminal de Windows 7, a una distancia aproximada de 4 m, recibiendo los datos en formato csv. Los datos pueden también ser leídos mediante una interface Phyton.

Tratamientos experimentales: Después de su aplicación y comprobación de funcionamiento diario de los bolos durante 70 d, se realizó un experimento de administración de agua a 5 ovejas vacías y secas (68,9 ± 1,2 kg PV) cuyos bolos funcionaron correctamente. El experimento consistió en administrar a cada oveja 5 volúmenes de agua de grifo (0,5, 1, 1,5, 2 y 3 L) a 3 temperaturas (10, 20 y 30°C), de acuerdo con un diseño aleatorio 5×3×5. El agua se administró mediante una pistola de dosificación de líquidos (Pimex, Abadiño, Vizcaya, ES) en porciones de 200 mL. Las aplicaciones de agua se realizaron 2 veces/d, con un intervalo de 5 h (8:00 y 13:00 h). Durante los días de aplicación de agua, las ovejas se privaron de agua y alimento la noche anterior, reponiéndolos a las 18:00 h del día de medida.

Calorimetría: Para evaluar el efecto del agua en la temperatura del rumen se utilizó la ecuación general de calorimetría: $Q = m \cdot c \cdot |\Delta T|$, donde: m = masa (g), c = calor específico (cal/g°C) y $|\Delta T|$ = variación absoluta de la temperatura (°C). Se desestimaron todos los valores que indicaron saturación de la temperatura ruminal. El calor específico del contenido del rumen al añadir agua ($c_a = 1$ cal/g°C), fue estimado como $c_r = 0,95$ cal/g°C y no se consideró la variación de calor en la pared ruminal. El volumen del rumen se estimó mediante extrapolación de las ecuaciones de variación de temperatura para el momento inicial (0 L).

Análisis estadístico: Se realizó un ANOVA utilizando el paquete R v.3.5.2 (R Core Team, 2018; <http://www.R-project.org/>), separando las medias con el test de Tukey a $P < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó el seguimiento del total de bolos aplicados durante 70 d, observando sus variaciones diarias y el comportamiento de las ovejas asociado a los cambios de temperatura del rumen. De una forma general, se observaron variaciones de 1-4°C a lo largo del día, con aumentos progresivos y disminuciones bruscas asociadas a la ingestión de la ración y al consumo de agua, respectivamente. Durante el seguimiento del funcionamiento de los bolos se registró un total de 20 fallos (80%), atribuidos principalmente a la pérdida de voltaje de la batería, por lo que el experimento de administración de agua sólo fue posible realizarlo en 5 ovejas secas. Los efectos en la temperatura ruminal, de la cantidad y temperatura del agua administrada, se muestran en la Figura 1.

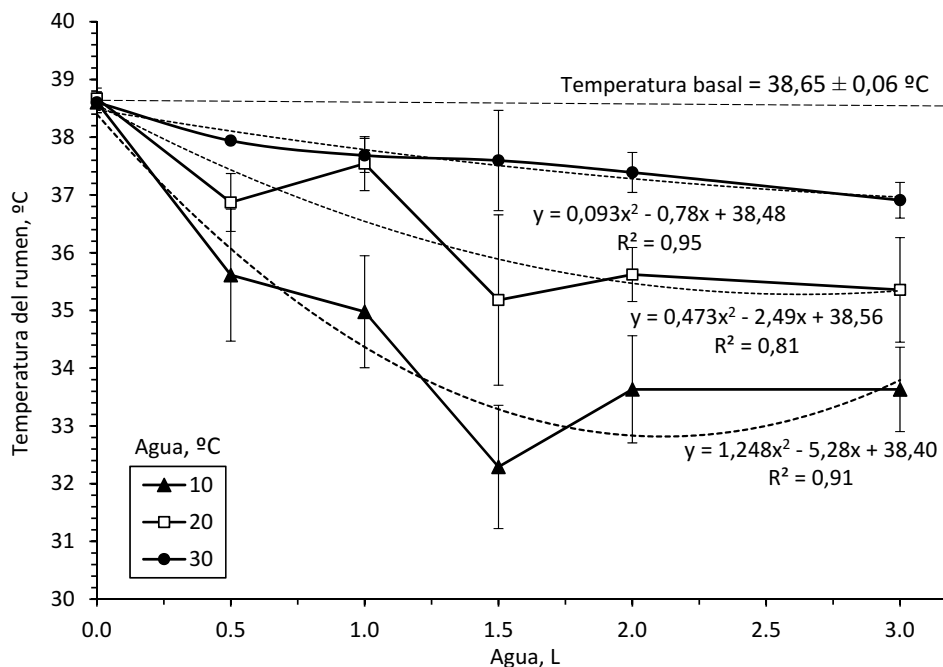


Figura 1. Variación de la temperatura ruminal de ovejas según el volumen y temperatura del agua bebida (las barras horizontales representan los ESM).

Tabla 1. Cambios relativos de la temperatura ruminal según la cantidad y temperatura del agua consumida por ovejas provistas de bolos ruminales BioSens.

Temperatura del agua, °C	Agua, L				
	0,5	1,0	1,5	2	3
30	$-0,34 \pm 0,43^b$	$-0,67 \pm 0,29^b$	$-0,94 \pm 0,87^{ab}$	$-1,17 \pm 0,35^a$	$-1,49 \pm 0,31^a$
20	$-1,17 \pm 0,41^b$	$-2,06 \pm 0,40^a$	$-2,72 \pm 1,47^a$	$-3,13 \pm 0,47^a$	—
10	$-2,31 \pm 1,14^b$	$-4,01 \pm 0,97^{ab}$	$-5,09 \pm 1,07^a$	—	—

^{a,b} Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

Tabla 2. Estimación calorimétrica del volumen del rumen y de la cantidad de agua consumida por ovejas provistas de bolos ruminales BioSens.

Temperatura del agua, °C	Estimación rumen, L	Agua, L				Media, L
		0,5	1,0	1,5	2	
30	–	0,48	0,97	1,43	1,83	1,18
20	6,9	0,44	0,81	1,11	1,32	0,92
10	5,3	0,44	0,82	1,09	–	–
Media, L	6,1 ± 0,8	0,45	0,87	1,21	1,57	1,03
Error, mL	–	–0,05	–0,13	–0,29	–0,43	–0,22
		–9%	–13%	–19%	–21%	–18%

Como se puede observar, la administración de agua a 10 y 20°C, superó la capacidad isotérmica del rumen, lo que comprometió la actividad de la microbiota ruminal. Bewley et al. (2008) indicaron caídas de 6.9-9.2°C en la temperatura ruminal de vacas lecheras a las que se les administró agua tibia (18°C) o fría (5-9°C), comprobando que necesitaron 3 h para retornar a la temperatura basal. Pese a ello sus temperaturas rectales no variaron, lo que cuestiona la utilidad del agua fría para combatir el estrés por calor. Cuando se administró agua caliente (34.2°C), el tiempo de recuperación ruminal fue de sólo 15 min.

En nuestro caso no se apreció recuperación de la temperatura antes de las 2 h posteriores a la adición de agua (8% del día), lo que indica igualmente el compromiso de la actividad ruminal en ovejas cuando se administran cantidades mayores de 0,5 L de agua fría (<20°C).

El volumen medio estimado del rumen de las ovejas vacías y secas utilizadas fue del 9% del PV, lo que se aproxima al valor esperado. Los errores de la estimación del consumo de agua, para los volúmenes esperados de consumo de agua en condiciones normales (0,5-1,0 L/toma) se situaron entre 50-130 mL (9-13%) lo que puede ser suficiente en la práctica.

Los bolos BioSens demostraron su utilidad práctica en ganado ovino, pudiendo ser empleados para el estudio del comportamiento alimenticio y consumo de agua, aunque debe mejorarse su durabilidad, disminuyendo el consumo o alargando la duración de su batería.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AlZahal O., AlZahal H., Steele M.A., Van Schaik M., Kyriazakis I., Duffield T.F. & McBride B.W. 2011. J. Dairy Sci. 94:3568-3574.
- AlZahal O., Steele M.A., Valdes E.V. & McBride B.W. 2009. J. Dairy Sci. 92:5697-5701.
- Bewley J.M., Grott M.W., Einstein M.E. & Schutz M.M. 2008. J. Dairy Sci. 91:3880-3887.
- Castro-Costa A., Salama A.A.K., Moll X., Aguiló J. & Caja G. 2015. J. Dairy Sci. 98:4646-4658.
- Castro-Costa A., Caja G., Dhumez O., Tessier J. & Eymard A., Giger-Reverdin, S. 2017. XVII Jornadas AIDA, p. 132-134.
- Oliver J., Ferrer C., Peralta A., Castro-Costa A., Salama A.A.K. & Caja G. 2018. Cost Action FA1308: DairyCare, 5th Conference, no. 37. Thessaloniki, GR.

Agradecimientos: Proyecto INIA-RTA2015-0035-CO3-02 de MINECO (España) y beca de postgrado a S.M. Bouralha del IAMZ (España).

USE OF RADIO FREQUENCY SENSORS FOR MEASURING THE EFFECT OF DRANK WATER ON RUMEN TEMPERATURE OF ADULT EWES

ABSTRACT: A total of 25 radiofrequency boluses (BioSens; 20 × 95 mm; 60 g) for measuring rumen temperature (RT) were used in 25 adult dairy ewes. After 70 d only 80% of the boluses were still working in 5 dry ewes, which were used to evaluate the effects of administering tap water (0.5, 1, 1.5, 2 and 3 L) at different temperatures (10, 20 and 30°C) on RT. Values of RT dropped after water administration (–0.34 to –5.09°C) and did not recovery until 3 h after, indicating that rumen activity should be compromised in sheep by drinking cold water. On the other hand, RT was able to predict water intake with and error of 9 to 21%, which may be useful in practice. Rumen size was estimated by calorimetry to be 6.1 ± 0.8 L (9% BW). BioSens boluses used suitable for adult sheep although their durability must be increased.

Keywords: biosensor, rumen temperature, water, sheep.

METABOLISMO NITROGENADO EN CORDEROS ALIMENTADOS CON RACIÓN TOTALMENTE MEZCLADA (AMILÁCEA O FIBROSA) Y SUPLEMENTADOS CON ALFALFA FRESCA

Fernandez-Turren¹, G., Repetto¹, J.L., Arroyo¹, J.M., Pérez-Ruchel¹, A., Kozloski², G.V. y Cajarville¹, C.

¹Instituto de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay; ² Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa María, Brasil; gonzalofernandezt@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Como estrategia para maximizar la utilización de pasturas en el engorde de corderos, ya sea a través del aumento en los niveles de consumo o de la digestión de las mismas, una opción podría ser alternar en forma diaria períodos de pastoreo con períodos de acceso a una ración totalmente mezclada (RTM), permitiendo sumar los aspectos positivos de los sistemas pastoriles y de confinamiento (Pérez-Ruchel *et al.*, 2017). Los subproductos provenientes de la industria del procesamiento de alimentos, juegan un rol importante como sustituto de granos de cereales y semillas oleaginosas en la alimentación de rumiantes (Ertl *et al.*, 2015). Las principales ventajas de incluir estos subproductos en las dietas de rumiantes están asociadas a su gran disponibilidad y una menor competencia con respecto a los granos de cereales que son de interés para alimentación humana, además de presentar bajos niveles de almidón, siendo ricos en grasa o fibras. En la literatura ha sido reportado el impacto de la sustitución de granos de cereales por subproductos en la alimentación de rumiantes (Mowrey *et al.*, 1999) pero no hemos encontrado trabajos que evalúen la inclusión de subproductos fibrosos en la RTM como fuente de energía alternativa a los granos de cereales para el engorde intensivo de corderos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el metabolismo nitrogenado de corderos alimentados con dietas mixtas, sustituyendo granos de cereales por subproductos fibrosos en la RTM, frente a una dieta exclusivamente pastoril.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 18 corderos Corriedale x Ile de France (edad: 4 meses \pm 15 días), con peso vivo medio de $32,2 \pm 1,82$ kg, alojados individualmente en jaulas metabólicas. Los corderos fueron asignados según un diseño completamente al azar a uno de 3 tratamientos (dietas): T1= corderos alimentados con alfalfa fresca a voluntad durante todo el día; T2= corderos alimentados mediante una dieta mixta compuesta por una RTM, empleando granos de cereales como fuente energética (RTM_A) y alfalfa; T3= corderos alimentados mediante una dieta mixta compuesta por una RTM, empleando subproductos fibrosos (RTM_F) y alfalfa. En la Tabla 1 se presenta la composición química de la alfalfa fresca, RTM_A y RTM_F.

Tabla 1. Composición química de las diferentes raciones ofrecidas a los corderos (g/kg MS) alimentados con alfalfa fresca (T1), alfalfa fresca y RTM amilácea (T2) o alfalfa fresca y RTM fibrosa (T3).

	Alfalfa	RTM A	RTM F
MS (g/kg base fresca) ¹	214	892	898
MO	911	920	920
FND	366	284	437
FAD	223	178	205
PB	226	156	161
CNE	296	445	279
Almidón	70,0	326	130
NIDN (g/kg N)	356	251	391
NIDA (g/kg N)	212	123	185
EE	22,8	34,8	42,6

¹ MS: materia seca; MO: materia orgánica; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; PB: proteína bruta; CNE: carbohidratos no estructurales; NIDN: Nitrógeno insoluble en detergente neutro; NIDA: N insoluble en detergente ácido; EE: Extracto etéreo.

La RTM_A contenía (%MS) grano de maíz (27,2%), grano de trigo (20,2%), harina de soja (15,2%), cascarilla de soja (21,8), y heno de raygrass (9,70%), la RTM_F por su parte se elaboró con lex de maíz (65,0%, subproducto de la extracción del aceite de maíz), cascarilla de soja (19,4%) y heno de raygrass (9,70%). Ambas RTM contenían un núcleo vitamínico- mineral (5,90%).

La duración del periodo experimental fue de 39 días (21 días de adaptación y 18 días de recogida de muestras). Las RTM fueron preparadas diariamente, distribuidas en 2 comidas diarias y ofrecidas al 75% del consumo teórico (NRC, 2007). La alfalfa fue cortada diariamente y ofrecida por 8 h.

El consumo diario de RTM y forraje fresco fue medido pesando las cantidades ofrecidas y rechazadas. La digestibilidad aparente fue medida mediante la recogida y pesado de la excreción fecal diaria e individual. Se preparó una muestra compuesta ("pool") por cada animal. La excreción total de orina fue colectada en recipientes conteniendo 100 ml de ácido sulfúrico 1,8 M. Para ello se recogieron muestras diarias durante 5 días, conservando una sub-muestra de 100 ml de cada cordero y se almacenaron congeladas a -20 °C hasta su análisis. A partir de las muestras de orina de cada cordero se confeccionaron muestras compuestas ("pool") de acuerdo al volumen producido diariamente.

Las muestras (oferta y rechazo) fueron analizadas para materia seca (MS), materia orgánica (MO), extracto etéreo (EE), proteína bruta (PB) de acuerdo a AOAC (2000). La fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) según Van Soest et al. (1991) y el contenido de almidón fue analizado según McCleary et al. (1994).

En las muestras del pool de orina se analizó el contenido de N y derivados púricos (DP) según Balcells et al. (1992). Se calculó el N retenido (g) por animal y por día como: N ingerido (g/d) – (N eliminado en heces (g/d) + N eliminado por orina (g/d)). La síntesis de N microbiano ruminal (SNM) fue estimada a partir de los DP totales eliminados en la orina de acuerdo a la ecuación propuesta por Puchala y Kulasek (1992): $Y = \exp(0,747 + 1,817 X)$, donde: Y es el flujo duodenal de N microbiano (g/d) y X es la excreción urinaria de N de DP totales (NDP, g/d). La eficiencia de SNM ruminal fue expresada como g/ MO aparentemente digestible ingerida (MODI, kg), obtenida a partir de los valores de digestibilidad. El análisis estadístico se realizó mediante el procedimiento mixto de SAS (versión 9.0; SAS Institute, Cary, NC, USA). Para las variables analizadas se utilizó el modelo: $Y_{ijk} = \mu + T_i + e_{ijk}$, donde Y_{ijk} fue la variable dependiente, μ fue la media general, T_i el efecto fijo del tratamiento ($i = T_1, T_2, \text{ o } T_3$) en k repeticiones de animal ($n = 6$ corderos), y e_{ijk} el error residual. Las comparaciones entre medias se realizaron mediante contrastes ortogonales para estudiar los efectos de una dieta 100% forrajera frente a las dietas mixtas ($C_1 = T_1$ vs dietas mixtas) y las fuentes de energía de la RTM entre ellas ($C_2 = T_2$ vs T_3). Se declararon diferencias significativas para $P \leq 0,05$ y los valores de P entre 0,05 y 0,10 fueron considerados como tendencias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 refleja los datos del balance de nitrógeno y síntesis de proteína microbiana de los corderos. La excreción urinaria (ml/d) y N urinario fueron mayores en los corderos alimentados únicamente con forraje fresco (T_1) mientras que presentaron menor consumo de N y menor excreción fecal de N comparado con los corderos alimentados con dietas mixtas (T_2 y T_3) ($P < 0,01$). La sustitución de granos de cereales por subproductos fibrosos en la RTM provocó mayor excreción de N fecal, menor N urinario y una menor retención de N ($P < 0,05$). La síntesis de proteína microbiana no fue afectada por el tipo de dieta. Las principales diferencias en la composición química de los alimentos ofrecidos se debieron al bajo nivel de MS y elevado nivel de PB de la alfalfa fresca en comparación a las RTM. La RTM_F presentó un 53,9% más de FND y un 60,1% menos de almidón en comparación a la RTM_A. La diferencia en la composición de las raciones ofrecidas afectó la excreción urinaria, siendo mayor en los corderos alimentados únicamente con alfalfa fresca ($P < 0,001$), mientras que el N ingerido fue mayor en los corderos alimentados con dietas mixtas ($P < 0,05$). En promedio, el N ingerido por los corderos estuvo en el rango de valores esperado según NRC (2007). La fuente de carbohidratos afecta a la eficiencia de síntesis microbiana (Hespell, 1988), lo cual no se evidenció en el presente trabajo, pudiendo deberse al elevado nivel de consumo de forraje fresco en los tres tratamientos, ya que la relación al elevado nivel de consumo de forraje fresco RTM/forraje fue 54/46 para T_2 y 53/47 para T_3 .

En conclusión, la oferta de forraje fresco y RTM formulada únicamente con subproductos fibrosos permitió aumentar el consumo de N comparado con los corderos alimentados únicamente con forraje fresco y alcanzar consumos similares a una dieta mixta formulada con granos de cereales.

Tabla 2. Excreción urinaria total, balance de nitrógeno y síntesis de proteína microbiana en corderos alimentados con alfalfa fresca (T1), alfalfa fresca y RTM amilácea (T2) o alfalfa fresca y RTM fibrosa (T3).

	Tratamiento			EEM ^d	P valor ^e	
	T1	T2	T3		T1 vs. Mix	T2 vs. T3
Excreción urinaria						
Total, ml/día	3204	1451	1410	170	0,001	0,833
Balance de N, g/d						
N ingerido	31,7	35,6	35,1	1,52	0,043	0,787
N fecal	8,94	9,26	17,2	0,643	0,001	0,001
N urinario	2,83	2,60	2,13	0,153	0,013	0,040
N retenido	19,9	23,8	15,8	1,62	0,922	0,002
Síntesis de proteína microbiana						
NDP, g/d ^a	0,200	0,269	0,265	0,056	0,330	0,951
SNM, g/d ^b	3,06	3,47	3,50	0,375	0,344	0,941
SNM, g/kg DOMI ^c	5,91	4,03	5,07	0,674	0,108	0,192

^a excreción de N de derivados puricos totales; ^b síntesis de N microbiano; ^c eficiencia de síntesis de N microbiano expresada en relación a la MO aparentemente digestible ingerida ^d error estándar de las medias (n=6 / tratamiento), ^e nivel de significancia

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 2000. • Balcells, J., Guada, J.A. & Peiró, J.M. 1992. J. Chromatogr. 575: 153-157. • Ertl, P., Knaus, W., Metzler-Zebeli, B.U., Klevenhusen, F., Khiaosa-Ard, R. & Zebeli, Q. 2015. J. Dairy Sci. 98: 4762-4771. • Hespell, R.B. 1988. Microbiol Sci. 5:362-365. • McCleary, B.V., Solah, V. & Gibson, T.S. 1994. J Cereal Sci. 20: 51-58. • Mowrey, A., Eilersierck, M.R. & Spain, J.N. 1999 J. Dairy Sci. 82:2709-2715. • Pérez-Ruchel, A., Repetto, J.L. & Cajarville, C. 2017. Animal 11: 2175-2183. • Puchala, R. & Kulasek, G.W. 1992. Can. J. Anim. Sci. 72:821-830. • Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. J. Dairy Sci. 74: 3583–3597.

Agradecimientos: Trabajo financiado por ANII proyecto Innovagro FSA_1_2013_1_12561 y beca de doctorado POS_NAC_2016_1_130922.

NITROGEN METABOLISM IN LAMBS FED A TOTAL MIXED RATION (AMYLACEOUS OR FIBROUS) SUPPLEMENTED WITH FRESH ALFALFA

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate different energy sources (amylaceous or fibrous) included in the total mixed ration (TMR) on the nitrogen metabolism in lambs fed with mixed diets (pasture + TMR). Eighteen lambs Corriedale×Ile de France (32.2±1.82 kg) fitted with permanent rumen catheters, were individually housed in metabolism cages and randomly assigned to three treatments: alfalfa pasture *ad libitum* “T1”, TMR using amylaceous “T2” or fibrous “T3” energy source offered at 75% of the potential intake in two equal meals/day, supplemented with fresh alfalfa cut. Samples of feed (offered and refused), feces and urine from each lamb were collected daily for determination of chemical analysis. Results were analyzed by using the MIXED procedure of SAS. The model contained the fixed effects of treatment on n=6 replicates of animals. The N urinary was higher and intake was lower in lambs fed fresh forage (T1) compared with lambs fed mixed diets (T2 and T3) (P <0.01). The inclusion of fibrous by-products in the TMR resulted in greater excretion of N fecal, lower N urinary and a lower N retention (P <0.05). The synthesis of microbial protein was not affected by diet.

Keywords: lambs, nitrogen metabolism, alfalfa, total mixed ration

OPTIMIZACIÓN DE LA PROTEÍNA BRUTA DEL PIENSO DE CEBO DE CORDEROS LIGEROS DE RAZA RASA ARAGONESA

Baila¹, C., Blanco¹, M., Casasús¹, I., Lobon¹, S. y Joy¹, M.

¹Centro de Investigación y Tecnología Alimentaria de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza. Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España.

mjoy@cita-aragon.es

INTRODUCCIÓN

El concentrado utilizado para la cría y cebo de corderos contiene entre un 20-15,5% de proteína bruta (PB), según sea en la primera fase (14-18 kg PV) o en el acabado (18-25 kg). El INRA (2018) ha revisado las necesidades en PB de corderos en razas francesas, fijándolas entre 16,2-15,1 % de PB según la fase de crecimiento del cordero. En España, las razas autóctonas comúnmente explotadas son de formato medio-pequeño, por lo que es probable que la oferta de PB en el pienso sea excesiva para sus necesidades, incrementando el precio del pienso y la excreción de nitrógeno al medio ambiente. Por ello tiene interés la reducción del contenido en PB del pienso, aunque debe asegurarse que la digestibilidad de nutrientes y los rendimientos productivos no estén afectados por dicha reducción. El objetivo del trabajo es evaluar la digestibilidad *in vivo* de dos piensos isoenergéticos con un aporte de PB bajo o comercial en dos fases de crecimiento en corderos de raza Rasa Aragonesa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron dos ensayos *in vivo* con 12 corderos de raza Rasa Aragonesa cada uno, en los cuales, se evaluaron dos piensos isoenergéticos con diferente contenido de PB. El primer ensayo se realizó en la fase de crecimiento del cordero (14±0,9 kg de PV) y el segundo ensayo en la fase de acabado (18±0,8kg de PV). En ambas fases se evaluaron piensos con dos niveles en proteína: 20 vs. 18% PB en crecimiento y 19 vs. 17% PB en acabado. La composición química de los piensos está recogida en la Tabla 1 y los ingredientes se pueden consultar en Pelegrín et al. (2019).

Tabla 1. Composición química de los piensos utilizados.

fase Ítem ¹	Crecimiento		Acabado	
	18% PB	20% PB	17%PB	19% PB
PB (%MS)	18,3	20,4	17,4	19,2
GB (% MS)	2,2	2,1	2,2	2,4
FND (%MS)	18,6	21,0	26,43	25,5
FAD (%MS)	7,05	8,2	8,47	7,86
LAD (%MS)	1,23	1,31	1,14	1,08
Almidón (%MS)	44,9	41,9	44,4	43,4
Energía bruta (MJ/kg)	12,73	12,54	12,27	12,48

¹ PB= proteína bruta, GB= grasa bruta; FND= fibra neutro detergente; FAD=fibra ácido detergente, LAD= lignina ácido detergente

Los corderos se alojaron en jaulas individuales de digestibilidad con comedero de pienso, bebedero de agua y colector de excreciones con separador para heces y orina (recolectada en cubos y acidificada con una solución de H₂SO₄). La oferta de pienso a los corderos se ajustaba individual y diariamente con una oferta un 10-20% por encima de su consumo del día anterior para asegurar una ingestión a voluntad. También tuvieron agua y bloques de minerales a libre disposición. Los corderos se adaptaron al pienso experimental durante 7 días, 2 de ellos ya alojados en las jaulas. El periodo de control fue de 5 días. Los animales se pesaron en los días de inicio y final de cada periodo. Diariamente a primera hora de la mañana, se registró la oferta y rehusado de alimento, 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 la composición química. Las muestras se secaron a 60 °C y se molieron. Una muestra de orina (10% del volumen total) 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 con los métodos de la 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) usando un analizador de fibras (Ankom 200/220, Ankom Technology Corporation, NY, EE.UU.). 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. Todos los contenidos se corrigieron en contenido libre de cenizas. El N de los alimentos, heces y rehusados se determinó con el método de combustión Dumas utilizando un analizador de nitrógeno (Modelo NA 2100, CE Instruments, Thermoquest SA, Barcelona, España) y el de la orina mediante Kjeldhal (AOAC, 1999). A partir de estos datos, se procedió al cálculo de la ingestión, excreción y las digestibilidades aparentes y se realizó su tratamiento estadístico mediante un análisis GLM con el programa estadístico SAS (SAS statistical software, v.9.3; SAS Inst. Inc., Cary, NC; EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reducción en el contenido de PB en el pienso no afectó a la ingestión ni en la fase de crecimiento ni en la de acabado ($P>0,05$). Únicamente, la reducción del contenido de PB incrementó la ingestión de LAD en la fase de acabado ($P=0,02$). Purroy et al. (1998) en corderos Rasa Aragonesa de 16 kg PV observaron mayores ingestiones al incrementar el porcentaje de PB de la dieta de 12%PB a 15% o 18%, pero no observaron efecto cuando se incrementaba de 15 a 18%PB. En este sentido, Rocha *et al.* (2004) no observaron diferencias entre dietas isoenergéticas de 14%, 16%, 18% y 20% de PB. Estos resultados sugieren que la concentración energética es más limitante que la variación de la PB (Beauchemin et al., 1995; Ríos-Rincón et al., 2014).

Tabla 2. Efecto del contenido en proteína bruta de los piensos en la fase de crecimiento y cebo en la ingestión, la digestibilidad aparente y el balance nitrogenado.

	Crecimiento				Acabado			
	18%	20%	EE ¹	P-valor	17%	19%	EE ¹	P-valor
Ingestión, g								
MS ²	547	516	47	0,65	745	693	40	0,38
MO	508	477	44	0,62	689	636	38	0,35
N	16,1	17,0	1,5	0,68	20,9	21,3	1,2	0,83
FND	96	108	10	0,40	181	177	10	0,75
FAD	37	43	4	0,35	58	55	3	0,50
LAD	7,0	6,8	0,6	0,84	9,4	7,5	0,5	0,02
Digestibilidad aparente, %								
MS	82,71	81,58	1,10	0,49	84,12	84,92	1,07	0,61
MO	84,08	82,89	1,02	0,43	85,40	85,79	1,06	0,80
N	79,02	78,23	1,67	0,75	78,68	79,92	1,65	0,61
FND	53,73	61,51	3,02	0,10	68,93	73,6	2,26	0,17
FAD	48,33	57,8	3,15	0,06	64,09	64,04	3,13	0,99
Balance nitrogenado (g/d)								
N ingerido	16,1	17,0	1,5	0,68	20,9	21,3	1,2	0,83
N excretado orina	2,54	2,4	0,21	0,65	2,99	4,28	0,46	0,07
N excretado heces	3,37	3,61	0,35	0,65	4,49	4,14	0,32	0,46
N excretado total	5,91	6,01	0,45	0,89	7,48	8,42	0,35	0,08
N retenido	10,1	10,9	1,2	0,64	13,41	12,84	1,0	0,69

EE¹: error estándar. ² MS= materia seca; MO=materia orgánica; N= nitrógeno; FND= fibra neutro detergente; FAD=fibra ácido detergente, LAD= lignina ácido detergente

La reducción de PB del pienso no afectó a la digestibilidad ni en la fase de crecimiento ni en la de acabado ($P>0,05$), sólo tendió a reducir la digestibilidad de FND ($P=0,10$) y FAD ($P=0,06$) en el periodo de crecimiento. Los resultados de los estudios del incremento de PB en el pienso no son concluyentes. Gao et al. (2016) observaron que el incremento del contenido en PB del pienso de 11 a 13% no afectó a la digestibilidad de la MS (DMS) ni a la digestibilidad aparente del nitrógeno (DNa). Sin embargo, en otros estudios donde se incrementó la concentración proteica de 14,5 a 18,9% (Fluharty y McClure, 1997) y de 10% a 13% y 16% (Kaya et al., 2009) sí se observó un aumento de ambas digestibilidades (DMS y DNa).

La reducción del contenido en PB tampoco modificó el N retenido en ninguna de las fases ($P>0,05$), de acuerdo con lo observado por Ma et al., (2017). En la fase de acabado se observó una tendencia a la reducción del nitrógeno excretado en orina ($P=0,07$) y del nitrógeno excretado total ($P=0,08$) cuando el contenido en PB disminuía. Estos resultados permiten concluir que la reducción del contenido proteico del concentrado en los periodos de crecimiento y acabado no tuvo efectos sobre la ingestión y digestibilidad de los nutrientes de la ración, pudiéndose reducir el contenido en PB de los piensos. La tendencia a la reducción de la excreción de nitrógeno en la fase final sería favorable en términos ambientales, al reducir las emisiones contaminantes. No obstante, habría que evaluar si tiene efecto sobre otros factores como los rendimientos y la calidad del producto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 1999. Official Methods of Analysis of AOAC.
- Beauchemin et al., 1995. *J. Anim. Sci.*, 75(3), 387-395.
- Fluharty, F. L & McClure K.E. 1997. *J. Anim. Sci.* 75(3), 604-610.
- Gao et al., 2016. *Animal Sci. J.*
- INRA, 2018. INRA feeding system for ruminants.
- Kaya et al., 2009. *J Anim Vet Adv*, 8(8), 309-312.
- Kioumarsis et al., 2008. *Asian J. Anim. Vet. Adv*, 3, 307-313.
- Ma et al., 2017. *Anim Feed Sci. Technol.* 231, 19-28.
- Pelegrin et al., 2019. *XVIII Jornadas de Producción Animal*.
- Purroy et al., 1992. *Liv. Prod. Sci.*, 34(1-2), 93-100.
- Ríos-Rincón et al., 2014. *Asian Austral J Anim*, 27(1), 55.
- Van Soest et al., 1991. *J Dairy Sci.* 74(10), 3583-3597.

Agradecimientos: al INIA (RTA2017-0008-C02-01, RZP2017-00001; y contrato M. Blanco (FSE)) y al personal del CITA.

OPTIMIZATION OF CRUDE PROTEIN CONCENTRATIONS OF THE DIET ON GROWING LIGHT LAMBS OF RASA ARAGONESA

ABSTRACT: Light lambs of autochthonous breeds are usually fed concentrates with a high crude protein (CP) content, ranging from 20% (growing phase) to 15% (finishing phase). The aim of this study was to evaluate the effects of a reduction of CP content in the concentrates fed to lambs during the growing and finishing period. Two *in vivo* trials were conducted with 12 lambs to evaluate the digestibility of two iso-energetic concentrates. The first trial evaluated 2 concentrates containing 18 vs. 20% CP in the growing phase and the second trial compared two concentrates containing 17 and 19% CP in the finishing phase. The content of CP did not affect any parameters of ingestion and digestibility evaluated. Nevertheless, nitrogen excretion in urine decreased when CP content was lower in the finishing period, which can have environmental consequences. To conclude, according to these results lambs can be fed the concentrates with the lower CP content, however, the performance and meat quality should be evaluated.

Keywords: dietary protein, lamb, digestibility.

ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE ANIMALES ADULTOS CON CABRITOS DURANTE LA LACTANCIA SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL

Palma-Hidalgo, J.M., Arbaoui, A., Martín-García, A.I., Yáñez-Ruiz, D.R. y Belanche, A.
Estación Experimental del Zaidín, CSIC. C/ Profesor Albareda 1, 18008, Granada, España;
juanm.palma@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción lechera comercial, las crías recién nacidas son típicamente separadas de sus madres tras nacer, lo que puede comprometer una adecuada colonización microbiana (Abecia et al., 2014). La utilización de antibióticos ha sido una solución para promover el crecimiento y mejorar la salud del animal, pero, debido a la posible resistencia que podrían adquirir los microorganismos frente a estas sustancias y su posterior paso al ser humano, la Unión Europea decide limitar, en 2006, la administración de estos para uso terapéutico. Esta prohibición, junto con el mayor requerimiento de producción en sistemas intensivos, ha generado en el sector una demanda de productos con efectos similares a los antibióticos para modular los procesos digestivos en el tracto gastrointestinal, especialmente en períodos críticos de la vida de los animales como el destete y el posparto. Desde la prohibición de antibióticos, numerosos investigadores han tratado de desarrollar productos que tienen un potencial promotor como moduladores del ecosistema microbiano intestinal como, principalmente, los prebióticos, los probióticos y los compuestos activos de plantas (Gaggia et al., 2010). Un estudio piloto reciente realizado en nuestro grupo empleó microbiota ruminal de animales adultos como probiótico para administrarla por inoculación directa a cabritos recién nacidos (Belanche et al., 2019). El resultado de esta experiencia fue positivo sobre el desarrollo microbiológico ruminal, reduciendo el estrés del destete, lo que incluso podría permitir realizar un destete precoz con el consiguiente ahorro económico en lactoreemplazante. No obstante, esta práctica no es aceptable en granja, por lo que se planteó el siguiente trabajo para estudiar el efecto de la inoculación indirecta de la microbiota presente en animales adultos sobre cabritos durante la lactancia, con el fin de evaluar el efecto de la posible transferencia de microbiota por simple contacto entre unos animales y otros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 32 cabritos recién nacidos de la raza Murciano-Granadina, los cuales permanecieron con su madre durante las 24h posteriores al parto, durante las cuales se alimentaron de calostro materno. A partir de ese momento, se distribuyeron en 2 grupos experimentales con un peso medio inicial similar en ambos grupos y con el mismo número de hembras que de machos. Uno de los grupos (CTL) se mantuvo aislado completamente de otros animales hasta el final del ensayo. El segundo grupo (ADL) estuvo en contacto continuo con dos cabras adultas diferentes a sus madres. Ambos grupos recibieron leche artificial y pienso de arranque desde el primer día de vida y heno de avena a partir de la segunda semana, todos ellos *ad libitum*. Los animales tuvieron libre acceso a agua en todo momento. La lactancia se detuvo a las 7 semanas, mientras que la toma de pienso y forraje se mantuvo hasta el final del ensayo. En el grupo ADL, se dispuso una valla que permitiera el acceso a la leche y el pienso únicamente a los cabritos y no a los adultos. Se monitorizó el peso de los animales semanalmente desde el nacimiento hasta las 9 semanas. Se llevaron a cabo muestreos de contenido ruminal mediante sondaje gástrico con vacío a las 5, 7 y 9 semanas de vida. Las muestras fueron filtradas a través de una gasa, dispensadas en alícuotas y congeladas para su posterior análisis. Se midió el pH del líquido ruminal *in situ* y, más adelante, se determinaron las concentraciones de NH₃-N por espectrofotometría y de los distintos ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases. Se realizó, de forma independiente para los datos de cada muestreo, un análisis ANOVA con el grupo experimental (CTL vs. ADL) como único efecto fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este ensayo muestran las escasas diferencias existentes en la fermentación ruminal de cabritos criados con o sin animales adultos durante la lactancia (Tabla 1). Las características del rumen de estos animales a las 5 semanas de vida (pre-destete) eran similares en cuanto a pH, concentraciones de NH₃-N y de AGV, salvo en el caso del ácido acético (apenas un 3% más alto en el grupo CTL) e isobutírico (+32% en ADL). Estas

diferencias se repitieron cuando los animales tenían 7 semanas (+3% ácido acético en el grupo CTL; +23% ácido butírico en el ADL).

Tabla 1. Patrón de fermentación del rumen de los cabritos de los grupos CTL (aislados de otros animales) y ADL (en compañía de animales adultos) a las 5, 7 y 9 semanas (S5, S7 y S9, respectivamente).

	S5				S7				S9			
	CTL	ADL	EE	Valor P	CTL	ADL	EE	Valor P	CTL	ADL	EE	Valor P
pH	6,53	6,65	0,04	ns	6,42	6,55	0,05	ns	7,00	7,08	0,05	ns
NH ₃ -N, mg/dL	17,6	18,6	1,22	ns	15,3	14,1	1,23	ns	2,82	8,16	1,37	*
AGV, mM	25,0	23,9	1,60	ns	31,8	32,4	2,19	ns	30,6	36,4	1,85	ns
% Acético	74,7	72,5	0,61	t	71,4	69,0	0,63	t	64,0	63,6	1,56	ns
% Propiónico	13,5	13,7	0,32	ns	16,1	16,6	0,47	ns	19,0	17,1	0,79	ns
% Isobutírico	2,04	2,69	0,16	*	1,50	1,59	0,09	ns	2,29	2,38	0,21	ns
% Butírico	4,83	6,06	0,38	ns	7,04	8,68	0,39	*	6,28	11,55	0,55	***
% Isovalérico	2,61	2,91	0,15	ns	1,92	2,12	0,13	ns	2,21	3,40	0,21	**
% Valérico	2,29	2,22	0,07	ns	2,09	2,02	0,08	ns	2,04	2,02	0,11	ns
Ac/Pro	5,69	5,39	0,16	ns	4,61	4,27	0,15	ns	3,94	3,82	0,26	ns

EE: Error estándar de la media; *** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; t: 0,05<P<0,1; ns no significativo.

El pH ruminal tanto en el grupo CTL como en el ADL fue notablemente superior a las 9 semanas con respecto a las 7 semanas (+8%); sin embargo, seguían sin existir diferencias entre ambos grupos. En cuanto a la concentración de amonio en el rumen, ésta era considerablemente mayor en el grupo ADL (P=0,049; +189%) con respecto al CTL a las 9 semanas. Los ácidos butírico e isobutírico siguieron siendo más abundantes en el grupo ADL (+84%, +54% respectivamente) en el post-destete. La monitorización de los pesos (Figura 1) reveló un patrón de crecimiento similar en los dos grupos experimentales desde el día de nacimiento hasta el final del ensayo. De Paula Vieira et al (2012) sí observaron una mayor ganancia de peso en terneros en edad temprana criados en presencia de animales de mayor edad, sin embargo, estas diferencias se deberían, en gran medida, a la influencia de los animales mayores en el comportamiento alimentario de los pequeños. La inoculación directa de líquido ruminal en cabritos en edad temprana ha demostrado favorecer una pronta colonización del rumen y una mayor producción de AGV a las 5 semanas de vida (Belanche et al., 2019).

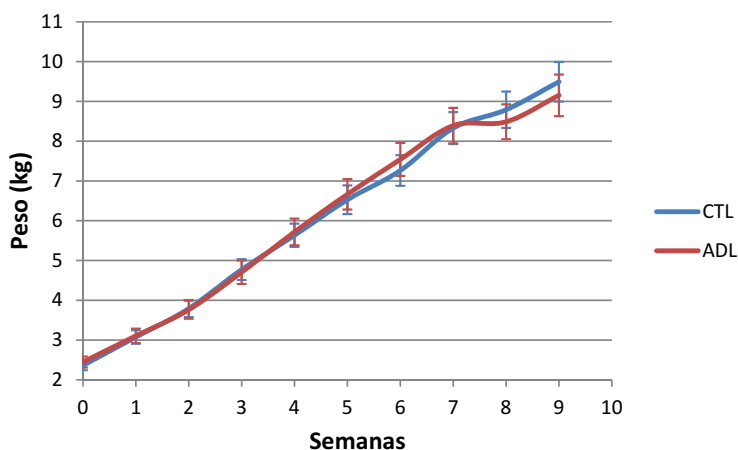


Figura 1. Evolución semanal de los pesos de los cabritos de los dos grupos experimentales CTL y ADL durante las 9 primeras semanas de vida.

Además, se ha comprobado que cabritos recibiendo lactancia natural presentaban una mayor concentración de AGV a partir de los 3 días de vida con respecto a cabritos con lactancia artificial y en ausencia de adultos. (Abecia et al., 2014). En este ensayo se observó un incremento notable de la proporción de butirato en el grupo ADL a partir de las 7 semanas de edad, que unido al incremento de la concentración de amonio ruminal (9 semanas) parece indicar que estos animales presentaron unos mayores niveles de protozoos ruminales fruto de la transferencia de animales adultos. Dicha presencia de protozoos podría favorecer el proceso de destete vía un mayor consumo de alimento sólido y digestión del mismo. Sin embargo, estos efectos beneficiosos en el metabolismo energético podrían ser compensados por el efecto negativo sobre el metabolismo proteico (degradación de proteína dietética y predación bacteriana) resultando en una ausencia de diferencias entre los tratamientos. El estudio del perfil microbiológico del rumen de los animales de este ensayo y de las posibles fuentes de inoculación ayudaría a determinar las vías por las que se podría favorecer el establecimiento de las distintas comunidades microbianas en el rumen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia, L. et al. 2014. Feeding management in early life influences microbial colonisation and fermentation in the rumen of newborn goat kids. *An. Prod. Sci.* 54:1449-1454
- Belanche, A. et al. 2019. Por publicar.
- De Paula Vieira, A. et al. 2012. Presence of an older weaned companion influences feeding behavior and improves performance of dairy calves before and after weaning from milk. *J. Dairy Sci.* 95 :3218–3224
- Gaggia, F. et al. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int. J. Food Microb.* 141: S15–S28.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido parcialmente financiado por MINECO AGL2017-86938-R1 y FPU16/01981.

STUDY OF THE PRESENCE OF ADULT ANIMALS WITH GOAT KIDS DURING THE MILK FEEDING PERIOD ON RUMINAL FERMENTATION

ABSTRACT: In intensive dairy production systems, newborn ruminants rarely stay with their dams or adult animals. This situation may limit the rumen microbial colonization leading to disorders in rumen development, growth and feeding behaviour. This study aimed to test in vivo whether the sole contact of goat kids with adult animals could have a positive effect on ruminal fermentation and weight gain during the milk feeding period. A total of 32 newborn goats were separated into 2 groups after staying 1 day with their dam: the first group was isolated from any other animals (CTL), the second was in direct contact with adult goats (ADL). Animals had access to water, milk replacer and starter *ad libitum* from the first day. After 2 weeks, hay forage was also provided *ad libitum*. Ruminal samples were taken at 5, 7 and 9 weeks of age to describe ruminal fermentation. Weight gain was monitored weekly. No big differences were found in the fermentation pattern between the two groups. Results indicated that ADL animals had a higher butyrate molar proportion from week 7, which together with the greater ammonia concentration (week 9) seems to indicate the presence of an active protozoal community in the rumen. The study of the persistency of the effects, as well as a more detailed analysis of the rumen microbiota is needed to determine the microbial implications of this intervention later in life.

Keywords: lactation, rumen, adults influence, fermentation

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE MICROBIOTA RUMINAL A EDADES TEMPRANAS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y FERMENTACIÓN RUMINAL DURANTE LA PRIMERA LACTACIÓN

Belanche, A., Palma-Hidalgo, J.M., Martín-García, A.I. y Yáñez-Ruiz, D.R.
Estación Experimental del Zaidin, CSIC. C/ Profesor Albareda 1, 18008, Granada, España;
a.belanche@csic.es

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente el uso de probióticos en rumiantes se ha centrado en animales adultos altamente productivos para prevenir acidosis ruminal o incrementar la productividad. Entre ellos, el más ampliamente utilizado es la levadura *Saccharomyces cerevisiae* dada su capacidad para consumir oxígeno y favorecer la proliferación ruminal de microorganismos degradadores de fibra y consumidores de lactato (Newbold *et al.*, 1996). Sin embargo, los resultados productivos del uso de probióticos en animales adultos son altamente variables y dependientes del tipo de animal, nivel productivo y tipo de dieta, además de precisar de un tratamiento continuado. Esta elevada variabilidad de resultados parece deberse a la inherente dificultad de modificar una microbiota ruminal estable y altamente redundante típica del animal adulto (Weimer, 2015).

Por contrario, el proceso de colonización microbiana del tracto digestivo que ocurre tras el nacimiento podría representar una oportunidad para inducir cambios duraderos en la microbiota ruminal, dado que durante ese proceso se establece el reconocimiento de dicha microbiota por parte del sistema inmunitario del hospedador (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2015). Como consecuencia, el uso de probióticos en rumiantes jóvenes ha arrojado resultados positivos consistentes y encaminados a favorecer la salud intestinal y el desarrollo ruminal. En animales jóvenes los probióticos más utilizados son microorganismos intestinales como *Bacillus*, *Lactobacillus* y *Enterococcus*, sin embargo, la inoculación de microorganismos ruminales a modo de probiótico ha sido mucho menos estudiada.

En un reciente estudio *in vitro* estudiamos los factores que determinan la actividad de la microbiota ruminal (Belanche *et al.*, 2019). Los resultados demostraron que el líquido ruminal fresco procedente de animales alimentados con dietas ricas en concentrado y muestreado a 3h tras la ingestión de alimento, representa la microbiota ruminal más activa y por lo tanto con un mayor potencial para ser utilizada como probiótico. En base a ello realizamos un siguiente estudio en el que crías de cabra recién nacidas fueron inoculadas diariamente con diferentes tipos de líquido ruminal (Belanche *et al.*, 2018). Los resultados de este ensayo mostraron que la inoculación de animales jóvenes con líquido ruminal fresco aceleró la colonización microbiana del rumen, la instauración de la función ruminal y ejerció efectos positivos durante la fase de destete. Sin embargo, la persistencia de estos efectos a largo plazo era desconocida.

Por lo tanto, el objetivo de este ensayo es continuar con dicho estudio para evaluar la persistencia de los efectos a largo plazo en animales adultos. Para ello se realizó un seguimiento de las cabras inoculadas a edades tempranas con microbiota ruminal durante su primera lactación para valorar el impacto de dichas intervenciones sobre la fermentación ruminal, la producción de leche y la composición de la misma.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 32 cabras recién nacidas de la raza Murciano-Granadina que se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos de 8 animales cada uno. El primero fue inoculado diariamente desde el día 1 al 70 con líquido ruminal autoclavado a modo de prebiótico (AUT), líquido ruminal fresco adaptado a una dieta rica en concentrado (LRC), líquido ruminal fresco adaptado a una dieta forrajera (LRF), y ausencia de inoculación (CTL). El inóculo se extrajo diariamente de cabras adultas canuladas a nivel ruminal y alimentadas con una dieta rica en concentrado (33:77 ratio F:C) o 100% forraje (heno de alfalfa). El líquido ruminal, tras ser filtrado, fue dosificado oralmente a razón de 1 ml/kg PV. Los grupos experimentales se mantuvieron físicamente separados durante el transcurso de todo el experimento, pero manejados de forma idéntica. Los animales fueron destetados a las 7 semanas de edad, y tras ser engordados durante 8 meses, fueron inseminados y comenzaron la lactación a los 15 meses de edad. La tasa de fertilidad fue del 75% por lo que se dispuso de 6 animales

lactantes y 2 animales no-lactantes para cada grupo experimental. Durante toda la lactación las cabras fueron alimentadas con heno de alfalfa *ad libitum*, mientras que la cantidad de concentrado fue de 1,2, 0,6 y 0 kg/d por animal durante el primer (1-50 días en leche), segundo (51-100 días en leche) y tercer tercio de la lactación (101-150 días en leche), respectivamente, con el objetivo de evaluar los efectos bajo varias situaciones nutricionales. Durante toda la lactación se registró diariamente la producción de leche individual y se tomaron muestras semanales para determinar la composición química. Durante los últimos 7 días de cada tercio de gestación se realizó un control individual de la ingestión y se tomaron muestras de contenido ruminal a los 50, 100 y 150 días en leche, respectivamente. La extracción de contenido ruminal se realizó por sondaje oro-gástrico a las 09:00h antes de que los animales recibiesen el alimento concentrado. Dicho contenido ruminal fue filtrado, se midió inmediatamente el pH y se tomaron muestras para determinar la concentración ruminal de amonio, lactato y ácidos grasos volátiles (AGV). Tras realizar el promedio de los tres muestreos, los datos de la fermentación ruminal fueron sometidos a un análisis de varianza en el que se consideró el tipo de inoculación (CTL vs. PRE vs. LRC vs. LRF) como efecto fijo y el estado fisiológico (láctate vs. no-lactante) como bloque ($n=8$). Para los datos de la producción lechera, el tipo de inoculación fue considerado como efecto fijo y el tipo de parto (simple vs. múltiple) como bloque ($n=6$). La producción de leche corregida para el contenido en energía fue calculada para un 4% de grasa y 3,3% de proteína (Gerber *et al.*, 2011), mientras que la eficiencia de conversión se determinó como el cociente entre la producción de leche corregida y la ingestión individual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inoculación con líquido ruminal autoclavado, a modo de prebiótico, originó un incremento en la concentración molar de butirato en el rumen (+12%) en comparación con el grupo CTL ($P<0,001$), mientras que el resto de los parámetros ruminales fueron similares para ambos tratamientos (Tabla 1). La inoculación de líquido ruminal fresco a modo de probiótico (tratamientos LRC y LRF) ocasionó un incremento incluso superior en la proporción de butirato en el rumen (+31%) con respecto al grupo CTL. El incremento de butirato (principalmente a expensas de propionato) es considerado un signo de una mayor actividad fibrolítica en el rumen (Noziere *et al.*, 2011), principalmente asociado a la presencia de una mayor cantidad o actividad de los protozoos ruminales (Newbold *et al.*, 2015). Además, dicho incremento en butirato en los tratamientos LRC y LRF fue acompañado de un descenso sustancial en la concentración ruminal de lactato (-25%) en comparación con el grupo control. Una menor concentración de lactato en los animales inoculados podría indicar un efecto preventivo frente a la acidosis ruminal, posiblemente porque los carbohidratos solubles son almacenados o consumidos por una microbiota más diversa, en vez de ser transformados en lactato como producto de fermentación en el grupo CTL. Además, los tratamientos LRC y LRF indujeron un descenso en la concentración ruminal de iso-butilato (-21%) e iso-valerato (-27%). Ambos ácidos grasos ramificados proceden mayoritariamente de la degradación de proteínas en el rumen (Firkins, 1996), por lo que su descenso parece indicar una menor proteólisis ruminal.

En lo referido a parámetros productivos, no se encontraron diferencias entre tratamientos en la ingestión de alimento, producción de leche, producción de leche corregida o eficiencia de conversión ($P>0,05$). Tampoco se encontraron diferencias en la composición de la leche en lo que concierne al nivel de proteína en leche, lactosa, extracto seco y células somáticas. Sin embargo, la inoculación con líquido ruminal fresco ejerció un efecto positivo sobre el porcentaje de grasa en leche ocasionando un incremento significativo (+5,1%) respecto al grupo control. Dicho incremento en el contenido de grasa en leche es compatible con el incremento de la concentración ruminal de butirato dada la naturaleza lipogénica de dicho producto de fermentación. No se encontraron diferencias entre los tratamientos LRC y LRF, por lo que los efectos de la inoculación temprana con microbiota ruminal parecen ser independiente del tipo de microbiota utilizada como inóculo.

En conclusión, este ensayo demostró que la programación microbiana del rumen es posible mediante intervenciones nutricionales a edades tempranas permitiendo modular parcialmente la fermentación ruminal o la calidad de la leche. Estos resultados deberían ser validados utilizando un mayor número de animales.

Tabla 1. Efecto de la inoculación de diferentes tipos de microbiota ruminal a edades tempranas sobre la fermentación ruminal durante la primera lactación.

	CTL	AUT	LRC	LRF	SED	Valor P
Fermentación ruminal						
pH	7,24	7,19	7,19	7,13	0,081	0,618
mg NH ₃ -N/100ml	14,8	16,2	14,1	13,2	1,328	0,186
Lactato (mM)	0,57 ^b	0,59 ^b	0,37 ^a	0,48 ^{ab}	0,056	0,001
AGV totales (mM)	44,2	45,1	50,3	50,4	4,590	0,377
Acetato (%)	65,6	65,9	65,5	66,2	0,652	0,659
Propionato (%)	16,9	16,5	15,3	15,5	0,764	0,124
Butirato (%)	9,24 ^a	10,3 ^b	12,5 ^c	11,8 ^c	0,426	<0,001
Iso-burirato (%)	2,94 ^b	2,58 ^{ab}	2,36 ^a	2,27 ^a	0,254	0,054
Valerato (%)	1,54	1,45	1,61	1,47	0,086	0,229
Iso-valerato (%)	3,71 ^c	3,35 ^{bc}	2,73 ^{ab}	2,69 ^a	0,302	0,004
Productividad						
Ingestión (kg MS/d)	1,55	1,63	1,58	1,62	0,114	0,888
Leche (kg/d)	1,21	1,41	1,13	0,95	0,268	0,448
Leche corregida (kg/d)	1,28	1,44	1,25	1,02	0,280	0,546
Grasa (%)	4,44 ^b	4,09 ^b	4,73 ^a	4,61 ^{ab}	0,207	0,040
Proteína (%)	3,59	3,64	3,65	3,46	0,163	0,612
Lactosa (%)	4,75	4,75	4,68	4,77	0,078	0,551
Extracto seco (%)	13,6	13,4	13,9	13,6	0,326	0,411
Cél. somáticas (log/ml)	5,32	5,01	5,61	5,60	0,264	0,124
Eficiencia (kg/kg)	0,82	0,86	0,77	0,62	0,137	0,360

CTL: control sin inoculación; AUT, líquido ruminal autoclavado; LRC, líquido ruminal adaptado a dieta rica en concentrado; LRF, líquido ruminal adaptado a dieta forrajera. Dentro de una misma línea, letras distintas denotan diferencias significativas ($P < 0,05$)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Belanche, A. et al. 2018 Ann. Nutr. Metab. 72: 1-76
- Belanche, A. et al. 2019 J. Sci. Food Agric. 99: 163-172
- Firkins, J. L. 1996 J. Nutr. 126: 1347-1354
- Gerber, P. et al. 2011 Lives. Sci. 139: 100-108
- Newbold, C. J. et al. 1996 Br. J. Nutr. 76: 249-261
- Newbold, C. J. et al. 2015 Front. Microbiol. 6: 1-14
- Noziere, P. et al. 2011 Animal 5:403-414
- Weimer, J. P. 2015 Front. Microbiol. 6:1-16
- Yáñez-Ruiz, D. R. 2015 Front. Microbiol. 6: 1-12

EFFECT OF EARLY-LIFE INOCULATION OF RUMEN MICROBIOTA ON THE RUMEN FERMENTATIO AND MILK YIELD DURING THE FISRT LACTATION IN DAIRY GOATS

ABSTRACT: A total of 32 newborn Murciano-Granadina kids were randomly divided into four groups and daily inoculated during 11 weeks with autoclaved rumen fluid (AUT), fresh rumen fluid from adult animals adapted to either concentrate (LRC) or forage diets (LRF) and absence of inoculation (CTL). Experimental groups were kept physically separated. Milk yield and composition were recorded throughout the first lactation and rumen samples were taken at 50, 100 and 150 days in milk. Results indicated that AUT goats had higher rumen butyrate proportion (+12%) than CTL goats. Treatments LRC and LRF promoted an even greater increment in butyrate levels (+31%) suggesting a high protozoal activity. Treatments LRC and LRF also had lower levels of rumen lactate (-25%), iso-butyrate (-21%) and iso-valerate (-27%) than the CTL group. No differences across treatments were noted in terms of feed intake, milk yield and feed efficiency. However, LRC and LRF goats had higher milk fat content (+5.1%); possibly due to a greater fibrolytic activity derived from a more complex microbial community. No differences were noted between LRC and LRF treatments. These results suggest that rumen microbial programming through early-life interventions is possible in order to modulate rumen fermentation or milk quality in later life.

Keywords: dairy goats, early-life intervention, milk yield, rumen fermentation

EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE SOJA POR UREA EN LA DIETA DE CORDEROS PESADOS DE RAZA ASSAF DURANTE EL CEBO

Martín, A.¹, Saro, C.^{1*}, Mateo, J.², Andrés, S.¹, Bodas, R.³, López, S.¹ y Giráldez, F.J.¹

¹Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). Finca Marzanas. 24346. Grulleros, León.

²Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de León, 24071 León.

³Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Junta de Castilla y León. 47071. Valladolid;

*cristina.saro@unileon.es

INTRODUCCIÓN

El censo de ovino en España ha sufrido un descenso considerable en los últimos diez años, así como su importancia económica en la producción final agraria (MAPAMA, 2016), debido a la confluencia de diferentes factores, entre los que se puede destacar un cambio en los hábitos de consumo y una menor eficiencia en comparación con otras especies, que se traduce en mayores costes de producción y una desventaja en la competencia por los recursos. Además, en los sistemas de producción ovina basados en la explotación de la raza assaf la producción de cordero está orientada fundamentalmente al cordero lechal, presentando desajustes estacionales entre la oferta y la demanda, que determinan periodos en los que el coste de producción del cordero es mayor que el valor de mercado.

La situación actual del mercado internacional relacionado con el sector ovino ofrece posibilidades de exportación, que permitirían compensar la escasez estacional de demanda interna. Sin embargo, la demanda internacional es de corderos de cebo de elevado peso (mayor de 45 kg), muy superior al sistema tradicional español (28-30 kg), y existe muy poca información científico-técnica sobre la respuesta productiva y las características de la canal y de la carne de corderos pesados de la raza assaf.

Estudios realizados por nuestro grupo de investigación en corderos de raza assaf seleccionados para sementales (Fernández et al., 2005) han demostrado que la sustitución completa de torta de soja (20% en el pienso) por urea convencional (fuente de nitrógeno no proteico, NNP) en el pienso, en el periodo comprendido entre los 30 y los 60 kg de peso, reduce la ganancia diaria de peso (aprox. 30%) y empeora el índice de conversión (aprox. 20%). Estos resultados desaconsejan, inicialmente, la supresión completa de suplementos proteicos, pero también señalan que existe un margen muy amplio para explorar combinaciones que permitan reducir la utilización de suplementos proteicos

Teniendo en consideración lo expuesto, se planteó el presente trabajo cuyo objetivo fue evaluar la ingestión, el rendimiento productivo y las características de la canal de corderos de raza assaf criados desde los 29 hasta los 50 kilos con dietas con diferente proporción de urea.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 36 corderos de raza assaf (29,3±3,10 kg de peso corporal y 81±0,8 días de edad), distribuidos en 3 grupos experimentales de 12 animales cada uno (CON, URE1 y URE2). Los animales del grupo control (CON) recibieron *ad libitum* una ración mixta completa sin urea y con harina de soja (190 g/kg) como suplemento proteico. Los animales de los otros dos grupos recibieron *ad libitum* una ración mixta completa en las que se incluyó urea en una proporción del 0,6 (URE1) o 0,95% (URE2), sustituyendo, respectivamente un 25% y un 39% de la harina de soja. Las dietas se formularon para que fueran isoproteicas e isoenergéticas. La proporción de materias primas que integran los piensos compuestos utilizados en el experimento, así como su composición química, se recoge en la Tabla 1.

Los corderos se alojaron en jaulas individuales y dispusieron de agua fresca a libre disposición. La prueba tuvo una duración de 9 semanas. Diariamente se controló la ingestión de alimento y semanalmente se registró el peso de los animales. Al finalizar el periodo experimental, los animales se sacrificaron. Se pesó la canal inmediatamente tras el sacrificio (PCC) y tras 24 horas de oreo a 4 °C se midió el pH y se volvió a registrar el peso, para determinar las pérdidas por oreo (PO) y el rendimiento comercial (RC). A continuación, se dividió la canal a la mitad y se despizó la media canal izquierda, registrando el peso de las diferentes piezas comerciales de acuerdo con la metodología descrita por Colomer-Rocher et al (1988). Las piezas se agruparon en primera (pierna y costilla), segunda (espalda) y

tercera (cuello, falda, badal y cola) categoría. La ganancia diaria de peso se estimó por regresión del peso frente a la edad.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los piensos experimentales

	CON	URE1	URE2
Ingredientes (g/kg)			
Cebada	440	470	491
Maíz	180	189	189
Harina de soja	190	142	115
Paja de cebada	150	150	150
Melaza	10	10	10
Urea	-	6	9,5
Aceite de soja	-	3	6
Corrector vitamínico/mineral	25	25	25
Bicarbonato	5	5	5
Composición química (g/kg MS)			
Materia seca (g/kg)	889	895	897
Fibra neutro detergente	193	201	200
Proteína bruta	160	156	163
Extracto etéreo	22	20	24
Cenizas	68	68	67

Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc., EEUU), siendo considerada la dieta como efecto fijo y el animal anidado al tratamiento como error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los valores medios de ingestión de materia seca, ganancia diaria media de peso, índice de conversión y peso final de los animales. Como puede apreciarse, no se observaron diferencias entre tratamientos experimentales ($P > 0,05$) ni en la ingestión de materia seca ni en la ganancia diaria de peso. Los valores obtenidos son similares a los señalados por Abo Omar y Naser (2011), utilizando dietas con similar o menor contenido de proteína bruta. Fernández et al. (2005) observaron una ganancia diaria de peso ligeramente superior al valor medio registrado en el presente estudio con una similar ingestión de materia seca, si bien la proporción de paja en la dieta consumida en el citado estudio fue muy inferior (3 vs. 15%).

Tabla 2. Valores medios de ingestión de materia seca, ganancia diaria de peso, índice de conversión, y peso final de los corderos que consumieron las dietas control (CON), 0,6% de urea (URE1) y 0,95% de urea (URE2).

	CON	URE1	URE2	EED	Valor de P
Ingestión de materia seca (g)	1514	1399	1457	73,7	0,309
Ganancia media diaria (g)	312	310	318	18,9	0,912
Índice de conversión (g/g)	4,91	4,55	4,61	0,194	0,149
Peso final (kg)	50,5	48,8	49,3	1,89	0,666

EED: Error estándar de la diferencia

Los valores medios de las características de la canal (PCC, PO, RC y proporción de las diferentes piezas comerciales) para cada uno de los tratamientos experimentales se presentan en la Tabla 3.

Las características de la canal están fundamentalmente determinadas por el peso al sacrificio y la dieta recibida, en especial por la proporción de forraje y la relación proteína/energía que influyen en la ingestión y en la composición de la ganancia de peso. En el presente estudio las dietas fueron isoproteicas e isoenergéticas y, en concordancia con la ausencia de

diferencias en la ingestión y en la ganancia diaria de peso, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) en ninguna de las características de la canal evaluadas.

Tabla 3. Valores medios del peso de la canal, pérdidas por oreo, rendimiento comercial y proporción de piezas comerciales para los grupos control (CON), 0,6% de urea (URE1) y 0,95% de urea (URE2).

	CON	URE1	URE2	ESD	Valor de P
Peso de la canal caliente (kg)	25,2	24,6	24,7	1,07	0,786
Pérdidas por oreo (%)	2,17	2,32	2,36	0,242	0,694
Rendimiento comercial (%)	49,0	49,1	48,8	0,94	0,947
Piezas 1ª categoría	52,1	52,4	52,6	0,60	0,653
Piezas 2ª categoría	17,7	18,5	17,6	0,48	0,148
Piezas 3ª categoría	30,2	29,1	29,7	0,84	0,402

ESD: Error estándar de la diferencia

Los resultados obtenidos permiten concluir que la harina de soja en la ración de corderos pesados de raza assaf puede ser sustituida hasta en un 39% por nitrógeno no proteico (urea), sin efectos perjudiciales en el rendimiento productivo y en las características de la canal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abo Omar, J.M. & Naser, O. 2011. *Revue Méd. Vét.*, 7:377-383 • Colomer-Rocher et al. 1988. Cuadernos INIA, 17: 19-41 • Fernández, M. et al. 2005. *Theriogenol.* 63:2206-2218. • MAPAMA. 2016. Subdirección General de Productos Ganaderos

Agradecimientos: Proyecto CSI042-P17 Junta de Castilla y León. Cristina Saro disfrutó de un contrato posdoctoral financiado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

EFFECT OF THE SUBSTITUTION OF SOYBEAN MEAL BY UREA IN THE DIET OF HEAVY ASSAF FATTENING LAMBS

ABSTRACT: Thirty-six assaf lambs (average body weight 29.3 ± 3.10 kg, 81 ± 0.8 days old) were randomly allocated into 3 groups that received diets differing in the amount of soybean meal and urea. Urea was incorporated at 0 (CON), 0.6% (URE1) and 0.95% (URE2) and soybean meal was reduced by 25 and 39% (in URE1 and URE2, respectively). Lambs were housed individually throughout the experimental period (9 weeks) and fed ad libitum. Feed intake and body weight were measured daily and weekly, respectively. At the end of the experimental period, lambs were slaughtered and carcass quality parameters were evaluated. Neither daily dry matter intake (1457 ± 52.1 g DM/day) nor average daily body weight gain (313 ± 13.4 g/day) were affected ($P>0.05$) by diet. No differences ($P>0.05$) were found between the control and the urea-supplemented diets in hot carcass weight (24.8 ± 0.76 kg), chilling losses (2.3 ± 0.18), carcass yield (49 ± 0.7) and joint composition (1st category: 52 ± 0.4 %; 2nd category: 18 ± 0.3 %; 3rd category: 30 ± 0.6 %). The results obtained allow us to conclude that soybean meal in the diet of heavy assaf lambs could be replaced up to 39% by non-protein nitrogen (urea), without detrimental effects on animal performance and carcass characteristics.

Keywords: urea, fattening lambs, protein

EFFECTO DEL NIVEL DE PROTEÍNA BRUTA EN EL PIENSO DE CEBO DE CORDEROS SOBRE SUS RESULTADOS PRODUCTIVOS

Pelegrin¹, J., Villalba¹, D., Molina¹, E., Serrano-Pérez¹, B., Espinal², J., Joy³, M., y Álvarez-Rodríguez¹, J.

¹Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Lleida, Lleida, España. ²BonÀrea agrupa, Guissona, Lleida, España. ³CITA de Aragón, Zaragoza, España; jonathan.pelegrin@udl.cat

INTRODUCCIÓN

En la mayoría de explotaciones españolas, la producción de corderos de cebo (20-25 kg de PV) se realiza con razas de pequeño formato y dietas a base de concentrado y paja *ad libitum*. La inclusión de concentrados de proteína vegetal (como la harina de soja y colza) en los piensos ha incrementado los costes de alimentación y la excreción de nitrógeno, por lo que la optimización del uso de ingredientes contribuiría en la mejora de la eficiencia productiva y ambiental. Actualmente, los concentrados de cebo de corderos tienen entre un 15% y 20,5% de proteína bruta (PB) sobre materia seca (MS) (Bello et al., 2016). En general, se utiliza habitualmente un pienso de iniciación (hasta los 14-16 kg de PV) con un 19-21% de PB (sobre MS) y un único pienso de cebo con un nivel de PB de entre el 15,5% y el 20% (sobre MS), en función del potencial de crecimiento de la raza (autóctonas o cruce industrial) y la densidad energética de los piensos (FEDNA, 2008). Este trabajo se planteó para evaluar el efecto de la reducción del nivel de PB en los piensos de cebo de corderos sobre sus resultados productivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 120 corderos macho destetados de raza Ripollesa de 45-60 días de edad y peso vivo (PV) de 15,0 (\pm 1,5) kg, repartidos en dos épocas (60 corderos en enero-febrero y 60 corderos en abril-mayo). Los animales de ambos lotes se alojaron en 12 corrales (5 corderos/corral, 1,04 m²/animal), distribuyéndose en grupos homogéneos según su PV inicial. La mitad de los corderos se sometieron a un régimen alto de PB en el pienso (20,4% PB de 14-19 kg y 19,1% PB de 19-25 kg) y la otra mitad a un régimen bajo de PB (18,3% PB de 14-19 kg y 17,4% PB de 19-25 kg) (12 corrales/tratamiento) durante el cebo, hasta los 25 kg de PV, en las instalaciones de la granja experimental el Nial (BonÀrea Agrupa, Guissona, Lleida). Todos los piensos fueron isoenergéticos (1 UFC/kg) y se formularon con los mismos ingredientes y aditivos, modificando únicamente el porcentaje de inclusión de los concentrados de proteína vegetal (Tabla 1).

Tabla 1. Ingredientes y valor nutricional de los piensos utilizados.

Ingredientes	ALTO		BAJO	
	14-19 kg PV 20% PB	19-25 kg PV 19% PB	14-19 kg PV 18% PB	19-25 kg PV 17% PB
Trigo	29,9	29,9	30,0	29,9
Cebada	20,5	23,1	21,8	25,5
Maíz	20,5	23,3	21,9	23,6
Harina de soja 47	16,0	10,7	13,3	7,9
Granos de destilería de maíz secos	6,0	6,0	6,0	6,0
Harina de colza europea	3,0	3,0	3,0	3,0
Carbonato cálcico	2,3	2,4	2,3	2,4
Sal	0,5	0,5	0,5	0,5
Cloruro amónico	0,5	0,5	0,5	0,5
Corrector vitamínico-mineral	0,3	0,3	0,3	0,3
Premezcla de aceites/surfactante	0,2	0,2	0,2	0,2
Valor nutricional analizado				
Proteína bruta (% sobre MS)	20,4	19,1	18,3	17,4
Grasa bruta (% sobre MS)	2,87	2,81	2,67	2,69
Fibra neutro-detergente (% sobre MS)	14,5	14,2	13,6	13,8

Sólo el pienso de crecimiento (14-19 kg de PV) incluyó coccidiostático (decoquinato). El estudio se distribuyó en dos periodos: fase de crecimiento (14-19 kg de PV), con una duración

de 21 días para ambos lotes, y la fase de engorde (19-25 kg de PV) con una duración de 21 ± 2 días para el lote 1 y de 18 ± 5 días para el lote 2. El consumo medio diario (CMD) de pienso y paja se controló mediante el registro de la oferta y el rehusado de ambos ingredientes por corral un día por semana. Los animales se pesaron individualmente una vez por semana para calcular su ganancia media diaria (GMD) en cada fase. Se calculó el índice de conversión (IC) como el cociente entre CMD y GMD. Al sacrificio, se registraron los PV y pesos canal de la mitad de los corderos, 30 por tratamiento, y se calculó el rendimiento de ésta. Para el análisis estadístico, se eliminaron los datos individuales de 3 corderos del tratamiento con baja PB (1 del lote 1 y 2 del lote 2) por muerte o retraso patológico de crecimiento. Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP Pro13 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU), con un modelo por mínimos cuadrados incluyendo el tratamiento y el bloque (lote) como efectos fijos. La interacción doble entre ambos efectos no afectó a ningún parámetro y se eliminó del modelo final. Se describen las medias mínimo-cuadráticas y su error estándar. La separación de medias se realizó con el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los PV de los corderos en la fase de crecimiento y engorde no difirieron entre los piensos estudiados ($P > 0,05$). Del mismo modo, el nivel de PB del pienso no afectó a la GMD de los corderos ni en la fase de crecimiento ni en la fase de engorde ($P > 0,05$) (Tabla 2). En razas rústicas de Túnez, se observó que el uso de piensos bajos en PB (11% PB sobre MS) para corderos menores de 44 kg no afectaba a sus parámetros productivos, promoviendo las mismas tasas de crecimiento que los alimentados con niveles de proteína más altos y mejorando así la rentabilidad de la explotación (Hajji et al., 2016).

Tabla 2. Ganancia media diaria (GMD) y peso vivo (PV), consumos medios diarios (CMD) del pienso y paja en la fase de crecimiento y en la fase de engorde según el nivel de proteína utilizado: alto o bajo.

Ítem	ALTO	BAJO	EE ¹	P-Valor
PV al inicio de la fase de crecimiento (kg)	14,9	14,9	0,2	0,97
GMD pienso de crecimiento (g)	235	234	10	0,91
PV al inicio de la fase de engorde (kg)	19,8	19,7	0,3	0,76
GMD pienso de engorde (g)	254	269	10	0,32
PV final (kg)	24,5	24,8	0,3	0,48
CMD pienso de crecimiento (g)	715	710	22	0,89
CMD pienso de engorde (g)	878	854	24	0,48
CMD paja en crecimiento (g)	108	107	6	0,97
CMD paja en engorde (g)	125	125	8	0,95

¹EE: Error estándar.

La reducción del nivel de PB en el pienso de crecimiento y engorde no afectó al CMD de pienso y paja de los corderos ($P > 0,05$) (Tabla 2). De media, la ratio de consumo concentrado:forraje fue de 87:13, tanto en crecimiento como en engorde. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Purroy et al., (1993), quienes administraron dietas con 12, 15 y 18% de PB (sobre MS) a corderos de 15 a 25 kg de PV y observaron que los animales alimentados con un 12% de PB tuvieron un CMD significativamente menor ($P < 0,05$) que los grupos del 15 y 18%, entre los que no se encontraron diferencias significativas para el CMD ($P > 0,05$).

El IC del pienso de crecimiento fue de 3,11 vs. $3,06 \pm 0,13$ g/g para el pienso alto en PB y bajo en PB, respectivamente ($P = 0,82$). Sin embargo, el IC del pienso de engorde mostró una tendencia a ser superior para el pienso alto en PB respecto al pienso bajo en PB ($3,50$ vs. $3,21 \pm 0,11$ g/g respectivamente; $P = 0,07$). Esto podría deberse a que el incremento de PB en el pienso no se tradujo en una mejora del crecimiento de ese grupo de estudio. En este sentido, en la reciente revisión de las necesidades de nutrientes para rumiantes del INRA (2018), se estima que un cordero entre los 15 y los 25 kg de PV, con ganancias diarias de 250g, requiere entre 110 y 103 PDI/kg de MS. Esto supondría unas necesidades de entre 16,2% y 15,1% de PB (sobre MS), respectivamente. No obstante, la bibliografía indica que los

IC aumentarían también en los corderos alimentados con niveles de PB bajos, por debajo del 12% (Purroy et al., 1993). Por tanto, para los piensos dentro del rango 13-18% PB (sobre MS), el IC parece no aumentar y se estabilizaría (Purroy et al., 1993; Karim y Santra, 2003). El promedio entre ambas fases (crecimiento y engorde) obtuvo resultados de IC similares entre los piensos altos y bajos en PB (3,34 vs. 3,17±0,09 g/g; P=0,21, respectivamente).

En los corderos cuyas canales se controlaron (n=60), el nivel de PB del pienso no afectó al PV del sacrificio (24,82 vs. 24,89±0,21 kg; P=0,80), tampoco al peso de la canal (11,83 vs. 11,70±0,16 kg; P=0,55), ni al rendimiento de la canal (47,72 vs. 46,96±0,49%; P=0,28); obteniendo resultados similares entre los animales alimentados con piensos altos y bajos en PB, respectivamente. Del mismo modo, Hajji et al., (2016) concluyeron, en corderos de 32 a 44 kg de PV alimentados con dietas bajas en PB (11% sobre MS), que podían producir con la misma eficacia que los alimentados con una dieta elevada en PB (16% sobre MS) y obteniendo un PV final similar. Se ha observado que la reducción de un 16% a un 11% de PB en el pienso aumenta la proporción de piezas de mayor valor comercial (pierna y espalda) y reduce la proporción de las piezas más engrasadas (bajos, cuello y cola). Además, al reducir el nivel de PB en el pienso se han observado reducciones de la proporción de grasa de la canal sin verse afectada la proporción de músculo de la misma (Hajji et al., 2016).

En conclusión, los resultados de este estudio mostraron que la reducción del nivel de PB de los piensos de cebo no perjudicó la productividad de los corderos ligeros de razas autóctonas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bello et al., 2016. *Small Rum. Res.*, 142, 78–82.
- FEDNA, 2008. Necesidades nutricionales para ruminantes de cebo.
- Hajji et al., 2016. *Anim. Pro. Sci.*, 56, 2115–2121.
- INRA, 2018. INRA feeding system for ruminants.
- Karim, S. A., & Santra, A., 2003. *J. Anim. Sci.*, 16(5), 665–671.
- Purroy et al., 1993. *Liv. Prod. Sci.*, 34(1–2), 93–100.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto RTA2017-00008-C02-02 (Financiado por el MINECO). Los autores agradecen el apoyo técnico del personal de la explotación El Nial (Bonàrea Agrupa).

EFFECT OF CRUDE PROTEIN LEVEL IN LAMB FEED ON PRODUCTIVE PERFORMANCE

ABSTRACT: This study compared the dietary crude protein (CP) level for intensive light lambs (20-25 kg BW). A total of 120 Ripollesa male lambs were used, distributed in two consecutive equal lots. The feed was administered in two phases (growth from 14 to 19 kg and fattening from 19 to 25 kg). Half of the lambs received a high CP in feed (20% and 19% on a dry matter basis, respectively) and the remaining lambs received low CP (18% and 17% on a dry matter basis). The results showed that dietary CP did not affect either the average daily gain or average daily feed intake (feed and straw) in any phase (P>0.05). The feed conversion rate (FCR) for the growth phase showed no difference between the dietary CP levels studied. However, the FCR of the fattening phase tended to be greater in lambs fed high CP feed compared to low CP feed (P=0.07). Dietary CP did not affect either slaughter weight, carcass weight or carcass yield. In conclusion, the results of this study showed that the reduction in the CP level in lambs' feed did not affecting their growth performance.

Keywords: dietary protein, lamb, growth, feed intake.

EFFECTO DE LA HORA DEL DÍA SOBRE LOS CATABOLITOS DE PROTEÍNA EN CORDEROS CON DISTINTO NIVEL DE PROTEÍNA BRUTA EN EL PIENSO

Pelegrin, J., Serrano-Pérez, B., Villalba, D., Molina, E. y Álvarez-Rodríguez, J
Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Lleida. Avda. de l'Alcalde Rovira Roure
191, 25198 Lleida. España; jonathan.pelegrin@udl.cat

INTRODUCCIÓN

Los niveles de proteína bruta (PB) utilizados en los concentrados de cebo de corderos españoles oscilan entre el 15% y 20,5% sobre materia seca (MS) (Bello et al., 2016), en función del potencial de crecimiento de la raza (autóctonas o cruce industrial) y la densidad energética de los piensos (FEDNA, 2008). Para optimizar el contenido de PB en las dietas de rumiantes de cebo se podrían monitorizar los niveles en sangre de los catabolitos de proteína (Costa et al., 2017), pero en el ovino existe poca información sobre las concentraciones de urea y creatinina según los niveles de PB de las dietas y no está clara su variación a lo largo del día en condiciones de alimentación con concentrado *ad libitum*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la hora del día sobre los catabolitos de proteína sanguíneos en corderos de cebo con distinto nivel de PB en la dieta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 24 corderos macho destetados de raza Ripollesa de 45-60 días de edad y peso vivo (PV) de 14,5 (\pm 1,3) kg, en la época de enero-febrero 2018, alojados en un grupo de 60 corderos repartidos en 12 corrales (5 corderos/corral, 1,04 m²/animal), distribuyéndose en grupos homogéneos según su PV inicial. La mitad de los corderos se sometieron a un régimen alto de PB en el pienso (20,4% PB de 14-19 kg y 19,1% PB de 19-25 kg) y la otra mitad a un régimen bajo de PB (18,3% PB de 14-19 kg y 17,4% PB de 19-25 kg) (6 corrales/tratamiento) durante el cebo hasta los 25 kg de PV, en las instalaciones de la granja experimental el Nial (BonÀrea Agrupa, Guissona, Lleida). Todos los piensos fueron isoenergéticos (1 UFC/kg) y se formularon con los mismos ingredientes y aditivos, modificando únicamente el porcentaje de inclusión de los concentrados de proteína vegetal (Pelegrin et al., 2019). Sólo el pienso de crecimiento (14-19 kg PV) incluyó coccidiostático (decoquinato). Se ofreció paja de cereal *ad libitum* como fuente de fibra. La fase de crecimiento (14-19 kg de PV) y la fase de engorde (19-25 kg de PV) duraron 21 días cada una. En la última semana de cada fase (crecimiento y engorde), se extrajo sangre (5 ml) de 2 animales por corral al azar de la vena yugular a distintas horas del día (8:00h, 12:00h y 16:00h) mediante tubos de vacío con anticoagulante EDTA. Las muestras se centrifugaron *in situ* después de cada extracción para separar el plasma. El análisis de la concentración plasmática de urea (método enzimático) y creatinina (método cinético) se realizó mediante un analizador automático (GernonStar, RAL/TRANSASIA, Dabhel, India). Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP Pro13 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU), con un modelo mixto de medidas repetidas que incluyó la hora del día, el nivel de PB y su interacción como efectos fijos y el corral como efecto aleatorio. Se describen las medias mínimo-cuadráticas y su error estándar. La separación de medias se realizó con el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las figuras 1, 2 y 3 se muestran los valores de urea, creatinina y la ratio urea/creatinina sanguínea en crecimiento y engorde en función de la hora del día. La urea en sangre es un indicador del nivel de proteína ingerida o movilizada, mientras la creatinina en sangre refleja la degradación de creatina implicada en el metabolismo energético muscular (Bilancio et al., 2014).

La hora del día no afectó a la concentración plasmática de urea en crecimiento y engorde ($P>0,10$). En las 12 h siguientes a la administración de alimento, Valkeners et al. (2008) observaron variaciones mínimas de urea sanguínea en terneros, que mostraba, a su vez, un desfase de 3 h con la síntesis de NH₃ ruminal. Por su parte, la concentración de creatinina en crecimiento no difirió entre horas del día, pero en la fase de engorde fue superior a las 8:00h y 12:00h que a las 16:00h (0,93 \pm 0,03 y 0,90 \pm 0,03 mg/dL vs. 0,79 \pm 0,03 mg/dL, respectivamente, $P<0,05$). Esto podría explicarse mediante la variación postprandial de este catabolito en sangre, reflejando en este estudio una mayor excreción urinaria en el último muestreo (16:00 h). Vivian et al. (2017) observó una disminución de la creatinina entre las 0h

y 12h posteriores al consumo de pienso en corderos de la fase de acabado ($36,5 \pm 1,0$ kg de PV). A su vez, la ratio urea/creatinina de la fase de engorde fue inferior a las 8:00h y 12:00h que a las 16:00h ($42,58$ y $42,67 \pm 2,42$ mg/dL vs. $51,46$ mg/dL, respectivamente; $P < 0,05$), lo que reflejaría una mayor síntesis de urea que creatinina en el último muestreo, posiblemente ligada a la digestión postprandial.

En conjunto, las concentraciones de urea en la fase de crecimiento mostraron una tendencia a ser superiores para el pienso alto en PB respecto al bajo en PB ($P = 0,06$) (Tabla 1), mientras en la fase de engorde, tanto la urea como la ratio urea/creatinina fue mayor en los corderos alimentados con alta PB que con baja PB ($P < 0,05$). Similares resultados obtuvo Mahmoud (2013), quien concluyó que los corderos alimentados con niveles altos de PB (17% sobre MS), tenían concentraciones de urea en sangre más elevadas que los alimentados con niveles de PB medios (14%) y bajos (11%). El nitrógeno ureico en sangre puede servir para estimar el nitrógeno urinario excretado, que debe mantenerse entre $0,20$ y $0,30$ g N/día/kg PV para una adecuada cobertura de las necesidades de proteína y reducción del nitrógeno excretado (INRA, 2018), lo que redundaría en una menor emisión de NH_3 y N_2O a partir de la orina. En este estudio, la excreción de nitrógeno urinario estimado (INRA, 2018) fue de $0,29$ y $0,30$ g N/día/kg PV para el lote alto en PB y de $0,26$ y $0,25$ g N/día/kg PV para el lote bajo en PB, en crecimiento y engorde, respectivamente.

La creatinina no difirió entre niveles de PB en el pienso en ninguna fase ($P > 0,10$), lo que confirmaría la ausencia de diferencias en la síntesis y degradación diaria de proteína muscular.

En conclusión, la urea plasmática es un buen indicador del aporte de proteína bruta en la dieta de corderos de cebo, con independencia de la hora de extracción de la muestra, mientras la creatinina plasmática se reduce a lo largo del día y no varía con la proteína bruta de la dieta.

Tabla 1. Medias mínimo cuadráticas de urea (mg/dL), creatinina (mg/dL) y ratio urea/creatinina en la fase de crecimiento y engorde según el nivel de proteína utilizado.

n	ALTO	BAJO	EE ¹	Significancia ²	
	12	12		PB [†]	H [†]
Crecimiento (14-19 kg)					
Urea	44,27	37,47	2,28	t ³	NS
Creatinina	0,85	0,87	0,04	NS	NS
Ratio urea/creatinina	51,86	43,90	2,28	*	NS
Engorde (19-25 kg)					
Urea	43,01	34,60	2,02	*	NS
Creatinina	0,85	0,90	0,03	NS	**
Ratio urea/creatinina	51,54	39,60	2,38	**	**

[†]PB= PB del pienso; H= Hora del día. ¹EE: Error estándar. ²La interacción entre PB y H no fue significativa en ningún parámetro ($P > 0,10$). ³t= tendencia estadística ($P = 0,06$).

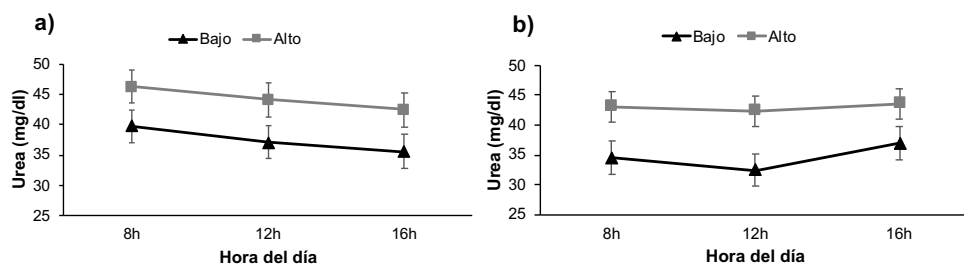


Figura 1. Nivel de urea según el contenido de PB del pienso en la fase de crecimiento (a) y engorde (b). Las barras indican el error estándar de la media.

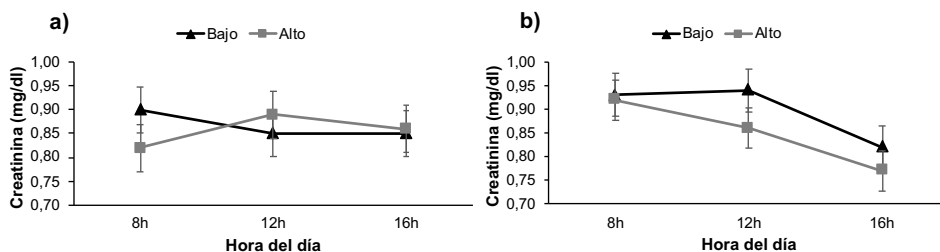


Figura 2. Nivel de creatinina según el contenido de PB del pienso en la fase de crecimiento (a) y engorde (b). Las barras indican el error estándar de la media.

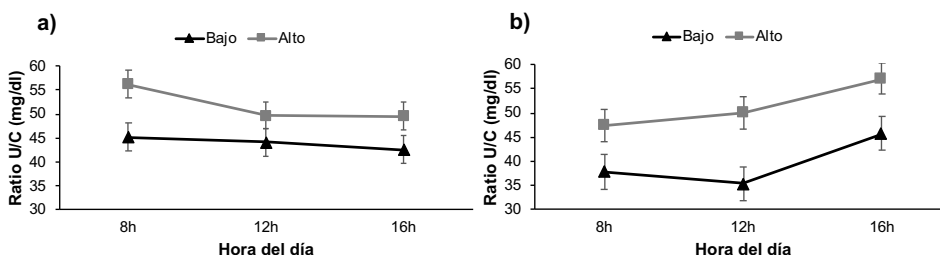


Figura 3. Ratio urea/creatinina (U/C) según el contenido de PB del pienso en la fase de crecimiento (a) y engorde (b). Las barras indican el error estándar de la media.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bello et al. 2016. *Small Rum. Res.*, 142, 78–82.
- Bilancio et al. 2014. *PLoS ONE*, 9(9), 1–7.
- Costa et al. 2017. *AIDA. XVII J. Prod. Ani.*, 85, 324–326.
- FEDNA, 2008. Necesidades nutricionales para rumiantes de cebo.
- INRA, 2018. INRA feeding system for ruminants.
- Mahmoud, A. E. 2013. *Egypt. J. Nut. and Feeds*, 16(May), 195–202.
- Pelegrin et al. 2019. *XVIII J. Prod. Anim.*
- Valkeners et al. 2008. *J. of Ani. Sci.*, 86(3), 680–690.
- Vivian et al. 2017. *Semina:Cien. Agr.*, 38(2), 919–930.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto RTA2017-00008-C02-02 (Financiado por el MINECO). Los autores agradecen el apoyo técnico del personal de la explotación El Nial (Bonàrea Agrupa) y J.C. Melo (UdL).

EFFECT OF TIME OF DAY ON BLOOD PROTEIN CATABOLITES IN LAMBS FED DIFFERENT PROTEIN LEVELS

ABSTRACT: This work studied blood urea and creatinine levels according to dietary crude protein (CP) concentration in intensive light lambs (14–25 kg BW) at different times of the day (08:00, 12:00 and 16:00 h). A total of 24 Ripollesa male lambs were used. Two feeding phases were set (growth from 14 to 19 kg and fattening from 19 to 25 kg). The results showed that, in the growth period, blood urea and creatinine were not affected by the time of day. However, in the fattening period, urea did not differ but creatinine decreased after noon ($P < 0.05$). Dietary CP did not affect creatinine levels in the growth or fattening phase ($P > 0.05$), but blood urea tended (growth) ($P = 0.06$) or was higher (fattening) ($P < 0.05$) in lambs fed high CP feed compared to low CP feed. In conclusion, plasma urea can be used as an indicator of protein status in intensive light lambs, regardless of the daily time of sampling.

Keywords: urea, creatinine, lamb, dietary protein.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES EN LA ALIMENTACIÓN DE CORDEROS DE CEBO

De Evan, T.¹, Cabezas, A.², de la Fuente, J.² y Carro, M.D.¹

¹ Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. ² Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid, España; tdeevan@ucm.es

INTRODUCCIÓN

España encabeza la producción a nivel europeo en el sector del aceite de oliva y en el de los cítricos y además es el cuarto productor comunitario de cereales (MAPA, 2016). El subproducto cítrico más abundante de la industria es la pulpa de cítricos, formado por la piel, restos del fruto y semillas, y representa entre el 50-70% del peso de la fruta fresca (Martínez Pascual y Fernández Carmona, 1980). En la extracción del aceite de oliva, el subproducto obtenido mayoritariamente es el orujo de aceituna, siendo el 80% del fruto procesado y está formado por la pulpa, piel, huesos de la aceituna y agua, (Molina-Alcaide et al, 2014). En la industria de los carburantes se emplean granos de cereales para la obtención de bioetanol, generándose subproductos correspondientes a la fracción no amilácea del grano, los DDGS (Dried Distillers Grains with Solubles). Todas estas industrias producen anualmente una enorme cantidad de residuos, su gestión es crucial por el impacto que causan en el medio ambiente y por su posible valorización como subproducto. Una de las alternativas de uso puede ser emplearlos en la alimentación de rumiantes, pero para ello es necesario evaluar su capacidad para reemplazar otros ingredientes que se utilizan habitualmente en las raciones. Por ello, el objetivo de este estudio fue analizar el efecto de la inclusión de pulpa de cítricos, DDGS de maíz y orujo de aceituna, en el pienso de corderos en cebo, sobre la ingestión y los parámetros productivos de los animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se formularon dos piensos experimentales (Tabla 1): un pienso control y un pienso con subproductos (SUB). El pienso con subproductos contenía un 18% de pulpa de cítricos, un 18% de DDGS de maíz y un 8% de orujo de aceituna, en sustitución de diferentes porcentajes de maíz, cebada, harina de soja 47%, harina de palmiste y salvado de trigo. Los piensos se formularon para contener una composición química (en % de la materia seca) similar en fibra neutro detergente (19,5 y 20,1% el control y SUB, respectivamente) y proteína bruta (PB), pero el contenido en PB fue ligeramente mayor en el pienso SUB (17,5%) que en el control (16,2%). Las UFC del pienso control y tratado fueron 1,00 y 0,96, respectivamente. Se utilizaron 24 corderos de la raza Lacaune recién destetados (13,8 ± 2,5 kg peso vivo) que se distribuyeron homogéneamente en dos grupos según su peso vivo. A cada grupo se le asignó al azar uno de los dos tratamientos experimentales. Durante el experimento, los corderos fueron alojados individualmente en jaulas de 1m², con ambiente controlado y dispusieron de pienso, paja de cereales y agua *ad libitum*. Durante el ensayo se pesaron los animales semanalmente, y se controló la ingestión de pienso y paja dos veces por semana. El sacrificio de los animales se realizó en dos días diferentes, al alcanzar estos un peso vivo de aproximadamente 26 kg, sacrificándose cada día el mismo número de corderos de cada tratamiento experimental. Los animales se pesaron inmediatamente antes del sacrificio y las canales se pesaron en caliente y a las 24 horas de oreo en una cámara fría a 4°C. Se midió el pH de los músculos *Longissimus* y *Semitendinosus* a las 0 y 24 horas, y el pH del contenido ruminal y cecal inmediatamente después del sacrificio. Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía usando el paquete estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó que la mezcla de estos tres subproductos en la dieta fue bien aceptada por los animales, no encontrándose afectada la ingestión de pienso (P=0,568) ni la de paja (P=0,341). Tampoco se vieron influenciados la ganancia media diaria (GMD) ni el índice de conversión (IC) por el tipo de alimentación recibida (P>0,05) (Tabla 2). Los parámetros medidos se encuentran dentro del rango descrito por otros autores (Caparra et al., 2007) cuando emplearon dietas con alguno de estos subproductos en cebo de corderos.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los piensos experimentales: control (sin subproductos) y con subproductos agroindustriales (SUB; pulpa de cítricos, orujo de aceituna y DDGS de maíz).

Item	Control	SUB
Ingredientes (%)		
Maíz	33	26,8
Cebada	20	-
Trigo	10	10
Harina de soja 47%	12,2	10,2
Harina de palmiste	8,8	-
Harina de colza 00	2,5	2,5
Salvado de trigo	10	3
DDGS maíz	-	18
Pulpa de cítricos	-	18
Orujo de aceituna	-	8
Otros ¹	3,5	3,5

¹ En los dos piensos (en % de la materia fresca): Jabón cálcico (1,2%), carbonato cálcico (1,0%), bicarbonato sódico (0,8%), sal (0,3%) y corrector vitamínico-mineral (0,2%).

No hubo diferencias entre tratamientos ($P \geq 0,704$) en el peso vivo al sacrificio, el peso de la canal caliente y fría y el rendimiento de la canal (Tabla 3). Estos resultados concuerdan con los de Idalsoaga (2008), quien empleó diferentes proporciones de orujo de aceituna en corderos de cebo y encontró rendimientos similares, y con los de Schauer et al. (2008), quienes obtuvieron una ganancia media diaria muy similar utilizando dietas con proporciones crecientes de DDGS de maíz.

Tabla 2. Peso inicial, consumo de pienso, paja y total, ganancia media diaria (GMD) e índice de conversión (IC) de corderos en cebo alimentados con un pienso control (Control) o un pienso con subproductos (SUB; pulpa de cítricos, DDGS de maíz y orujo de aceituna).

Item	Control	SUB	EEM ¹	P =
Peso inicial (kg)	13,6	13,9	0,95	0,595
Consumo pienso (g/d)	828	854	77,9	0,568
Consumo paja (g/d)	40,3	47,7	13,40	0,341
Consumo pienso y paja (g)	869	902	77,9	0,463
GMD (g)	284	288	32,9	0,844
IC (g concentrado/g GMD)	2,96	3,00	0,320	0,747

¹ Error estándar de la media.

El pienso recibido no afectó a los valores de pH medidos ni en el músculo *Longissimus*, ni en el *Semitendinosus* a las 0 y 24 horas post-mortem (Tabla 3), estando dentro de los rangos adecuados para carnes normales de cordero (Braña et al., 2011). Tampoco se detectaron diferencias significativas en el pH del rumen y del ciego, pero se observó una tendencia ($P=0,080$) a un pH ruminal más elevado en aquellos animales que consumían el pienso SUB. Los bajos valores de pH ruminal concuerdan con los obtenidos por otros autores en corderos en cebo con una alimentación similar (Haro et al., 2017).

Tabla 3. Peso inicial, consumo de pienso, paja y total, ganancia media diaria (GMD) e índice de conversión (IC) de corderos en cebo alimentados con un pienso control (Control) o un pienso con subproductos (SUB; pulpa de cítricos, DDGS de maíz y orujo de aceituna).

ITEM	Control	SUB	EEM ¹	P =
Peso sacrificio (kg)	26,2	26,4	1,25	0,744
Peso canal caliente (kg)	14,4	14,2	0,76	0,704
Peso canal fría (kg)	13,6	13,6	0,90	0,987
Rendimiento canal (%)	51,9	51,5	2,149	0,765
pH <i>Longissimus</i> 0 h	6,67	6,63	0,149	0,605
pH <i>Longissimus</i> 24 h	5,88	5,81	0,201	0,577
pH <i>Semitendinosus</i> 0 h	6,28	6,18	0,157	0,315
pH <i>Semitendinosus</i> 24 h	5,99	5,82	0,222	0,189
pH rumen	5,29	5,62	0,309	0,080
pH ciego	6,10	6,01	0,165	0,333

¹ Error estándar de la media.

En resumen, el uso de una combinación de pulpa de cítricos, DDGS de maíz y orujo de aceituna en proporciones de 18, 18 y 8 %, respectivamente, en el pienso de corderos de cebo, no afectó a la ingestión ni a los rendimientos productivos de los animales. Por ello, estos subproductos pueden ser una buena fuente de energía y proteína que sustituya parte de los cereales y concentrados proteicos en las raciones de corderos de cebo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Braña-Valera, D. et al. 2011. *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal*. Folleto: 11.
- Caparra, P. et al. 2007. *Small Ruminant Research* 68: 303-311.
- Idalsoaga, M. 2008. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Departamento de Producción Animal. 79 pp
- MAPAMA. 2017. Ed. MAPAMA, Madrid.
- Martínez Pascual J. y Fernández Carmona J. 1980. *Anim. Feed Sci. Technol.* 5:1-10.
- Molina-Alcaide, E., et al. 2014. *Albeitar*. 140.
- Schauer, C.S., et al. 2008. *Sheep & Goat Research Journal*. 23: 15-19.
- Haro, A. et al. 2017. *ITEA, XVII Jornadas sobre Producción Animal*. 315-317.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyectos AGL2016-75322-C2-1-R financiado por el MINECO.

EFFECTS OF INCLUDING AGROINDUSTRIAL BY-PRODUCTS IN FATTENING LAMBS FEEDING

ABSTRACT: The aim of this study was to determine the effects of including agroindustrial by-products (citrus pulp, DDGS, and olive cake) in a concentrate for fattening lambs on feed intake, growth rate and feed efficiency. Twenty-four Lacaune lambs ($13,8 \pm 2,5$ kg body weight (BW)) were distributed into two homogeneous groups, which were fed either a control concentrate or a concentrate (SUB) containing citrus pulp, DDGS and olive cake in proportions of 18, 18 and 8%, respectively. Lambs were fed concentrate and straw *ad libitum*, and feed intake and BW changes were determined. Lambs were slaughtered at 26 kg BW. There were no differences ($P > 0.05$) between groups in feed intake, growth performance, carcass weight, muscle pH and pH of cecal content, but ruminal pH of SUB-fed lambs tended to be greater ($P = 0.080$) than that of lambs fed the control concentrate. The results indicate that fattening lambs can be fed a concentrate including 44% of agroindustrial by-products without affecting negatively animal performance.

Keywords: citrus pulp, DDGS, olive cake, lambs.

FACTORES MATERNALES (NIVEL DE PRODUCCION) Y EL EFECTO SOBRE EL PESO AL NACIMIENTO DE SUS CORDEROS EN OVEJAS LECHERAS

Pesántez Pacheco^{1,2*}, J.L., Heras Molina², A., Torres Rovira², L., Sanz Fernández², M.V., García Contreras², C., Vázquez Gómez⁴, M., Feyjoo⁴, P., Cáceres⁴, E., Mateos⁴, M., Hernández³, F., Vázquez Mosquera¹, J., Martínez Ros⁵, P., González Martín^{4,6}, J.V., González Bulnes^{2,4}, A. y Astiz², S.

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca. ²SGIT-INIA, Madrid. ³Granja Cerromonte SL, Ávila. ⁴Facultad de Veterinaria, UCM. ⁵Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera, Valencia. ⁶TRIALVET SL, Madrid; * jose.pesantez@ucuenca.edu.ec

INTRODUCCIÓN

La lactación y la gestación son etapas de alta demanda de nutrientes para la oveja de alta producción lechera. Además durante estas etapas pueden producirse incluso procesos patológicos como toxemias de gestación y cetosis (Mohammadi, Anassori y Jafari, 2016). La aparición de estas patologías pueden prevenirse mediante la monitorización del perfil metabólico de los animales (Bell y Bauman, 1997). Este perfil metabólico puede verse influido por factores dependientes tanto del animal como de su entorno (raza, edad, estado nutricional, tamaño de la camada y época del año) (Piccione et al., 2012), y actualmente se sabe que puede afectar no sólo a la madre sino también al desarrollo pre- y postnatal del cordero (peso al nacimiento, equilibrio salud/enfermedad y tasa de crecimiento y rendimientos productivos) (Kamal et al., 2014). Por ello, el objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de diferentes niveles de producción (bajo, medio y alto) de ovejas lecheras de raza Lacaune sobre su propio perfil metabólico durante la gestación y sobre el peso al nacimiento de su descendencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una granja lechera comercial ("Granja Cerromonte", San Juan de la Encinilla, Ávila) e incluyó datos de 285 ovejas Lacaune adultas gestantes y su descendencia (346 corderos; 157 machos y 189 hembras). En estas ovejas (a mitad (75±5 días) y final de gestación (142±4 días) y en el postparto (52±5 días pp), se tomaron datos de peso y condición corporal y muestras de sangre (previo ayuno) para la determinación de parámetros metabólicos: [glucosa (GLU), lactato (LAC), urea (UR), colesterol (CHO), triglicéridos (TGL), β-hidroxibutirato (βHB) y ácidos grasos no esterificados (NEFAs, de sus siglas en inglés)]. Los corderos fueron pesados y medidos al nacimiento y a los 17±5 días de edad. Para el análisis las ovejas adultas se clasificaron según el nivel de producción teniendo en cuenta la producción total de la lactación (PL), la producción diaria durante la gestación (PD) y la producción diaria durante el mes de concepción (PC). Las categorías resultantes fueron las siguientes: Categorización PL: baja (BPL; n=57; PL< 220 l); media (MPL; n=91; 220>PL< 371 l) y alta (APL; n=80; PL>371 l.). Categorización PD: baja (BPD; n=54; PD<0,77 l/d); media (MPD; n=93; 0,77>PD<1,12 l/d) y alta (APD; n=81; PD>1,12 l/d). Categorización PC: baja (BPC; n=57; PC< 0,91 l/d); media (MPC; n=91; 0,91>PC< 1,35 l/d) y alta (APC; n=80; PC>1,35 l/d). Las diferencias entre grupos y sus interacciones se valoraron mediante análisis de varianza con medidas repetidas y test de Kruskal-Wallis cuando los datos no siguieron una distribución normal. Los valores medios se representaron acompañados del error estándar de la media (EEM) y se consideraron estadísticamente significativos a partir de $P<0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran que los parámetros metabólicos de la oveja se vieron afectados sólo por los valores de producción total por lactación (PL), mientras que el peso al nacimiento de los corderos se vio afectado también por los valores de PL y producción diaria durante el mes de concepción (PC), por el contrario, no se observó efecto de PD. Por otro lado, hay que resaltar el hecho de que todos los valores observados en los parámetros metabólicos estuvieron enmarcados en límites fisiológicos en todos los casos. Concretamente, los valores de PL, afectaron significativamente a la evolución de las concentraciones plasmáticas de GLU (Tabla 1; $P<0,01$); así, los niveles de GLU se incrementaron durante la gestación y disminuyeron en el postparto en las ovejas clasificadas

como APL mientras que en las ovejas BPL se observó una elevación continua durante la gestación y el postparto. Esta diferencia puede reflejar una mayor eficiencia en la captación mamaria de glucosa en las ovejas más productoras (Bell y Bauman, 1997).

Tabla 1. Metaboloma durante la gestación y lactación en ovejas adultas categorizadas por la producción total por lactación (PL), en una granja comercial de ovejas Lacaune de alta producción.

	Categoría	Mitad de gestación	Final de gestación	Postparto	Interacción Tiempo × PL
Glucosa (mg/dl)	BPL	61,7±1,3	66,9±1,9 ^g	69,6±1,1	0,01
	MPL	65,3±2,4	69,4±1,8 ^{gh}	67,1±0,7	
	APL	62,3±1,3	72,6±2,0 ^h	67,6±0,7	
Lactato (mg/dl)	BPL	18,0±1,7 ^e	12,9±1,2	12,8±1,2 ^e	ns
	MPL	17,6±1,2 ^{ef}	13,6±0,8	11,8±1,1 ^{ef}	
	APL	14,2±0,6 ^f	13,3±0,5	9,6±0,3 ^f	
Urea (mg/dl)	BPL	57,1±1,5	37,4±1,2 ^a	59,9±2,2 ^a	0,005
	MPL	56,3±1,4	39,9±1,2 ^a	67,8±1,7 ^b	
	APL	58,7±1,3	45,3±1,4 ^b	72,1±1,7 ^b	
Colesterol (mg/dl)	BPL	102,4±4,6 ^a	103,1±3,6 ^c	100,8±3,2	0,0001
	MPL	120,0±3,4 ^b	112,4±3,0 ^{cd}	99,4±2,4	
	APL	127,6±3,8 ^b	121,4±3,2 ^d	101,1±2,8	
Triglicéridos (mg/dl)	BPL	24,7±1,5	27,8±1,8	17,1±0,8 ^c	ns
	MPL	24,2±1,0	25,5±1,2	14,8±0,5 ^d	
	APL	22,2±0,8	24,1±1,1	14,1±0,4 ^d	
βHB (mmol/l)	BPL	0,54±0,02	0,70±0,06	0,61±0,03 ^a	0,001
	MPL	0,57±0,03	0,70±0,04	0,83±0,03 ^b	
	APL	0,61±0,03	0,64±0,04	0,85±0,03 ^b	
NEFAs (mmol/l)	BPL	0,61±0,4 ^a	0,67±0,4	0,57±0,3 ^a	0,0001
	MPL	0,45±0,2 ^b	0,72±0,4	0,45±0,2 ^b	
	APL	0,39±0,2 ^b	0,63±0,3	0,50±0,2 ^b	

β-hidroxibutirato (βHB) y ácidos grasos no esterificados (NEFAs). Los datos se expresan como valores medios ± EEM. Diferentes superíndices dentro de una misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas entre grupos (a≠b $P<0,0001$; c≠d $P<0,001$; e≠f $P<0,01$; g≠h $P<0,05$).

Las ovejas de mayor producción presentaban, durante la gestación mayores concentraciones de colesterol ($P<0,0001$), urea ($P<0,05$), β-hidroxibutirato (βHB) y NEFAs ($P<0,001$ para ambos). En el postparto, las concentraciones de colesterol disminuyeron en todas las ovejas; el perfil de colesterol estable durante la gestación y su bajada tras el parto se ha relacionado con la necesidad de un aporte continuo para el desarrollo fetal y su máximo uso al final de la gestación (Antunovi et al., 2002; Haffaf y Benallou, 2016). En cuanto a los niveles plasmáticos de UR, las hembras de mayor producción mostraron un incremento durante el postparto, que indicaría un adecuado estado de alimentación y flujo eficiente de nitrógeno desde el rumen (Bjerre Harpøth et al., 2012). En el caso de βHB y NEFAs, a pesar de los mayores valores en ovejas de alta producción, se observó que todos los animales presentaban un aumento de βHB durante la gestación y que las ovejas de producción alta y media presentaban también un aumento de los valores de NEFAs. En el postparto, se observó una disminución de βHB sólo en las ovejas menos productoras, lo que refleja probablemente la incapacidad de estos animales de reclutar suficientes cuerpos cetónicos para mantener una producción elevada (Ospina et al., 2013), mientras que NEFAs disminuyeron en todos los animales, aunque de manera menos drástica en las menos productoras, coincidiendo con resultado previos de Mohammadi, Anassori y Jafari (2016) y que se podría relacionar con una mayor eficiencia de uso de NEFAs en las ovejas de mayor producción. El análisis de los efectos del nivel de producción (PL) sobre el peso al nacimiento de los corderos muestra que las ovejas de baja producción tuvieron corderos significativamente más pesados que las ovejas de producción media (Tabla 2; $P<0,05$); sin embargo, las diferencias con los corderos de madres de alta producción no llegaron a ser significativas ($P>0,05$). En la pesada realizada alrededor de los 17 días de vida, se observó que los corderos de madres de alta producción eran más pesados que los corderos

procedentes de madres de baja y media producción ($P < 0,0001$), debido a una mayor ganancia de peso diaria. Sin embargo, la categorización de las ovejas según la producción materna durante el mes de concepción mostró que el peso al nacimiento de sus corderos de ovejas de alta PC fue mayor que en ovejas de baja PC ($P < 0,05$), lo que puede relacionarse con una mayor eficiencia metabólica pero también con mecanismos epigenéticos (Bell y Greenwood, 2016). En conclusión, el nivel de producción (alto, medio y bajo) de la oveja lechera tiene una importante influencia sobre el metabolismo del animal durante la gestación y el parto y sobre el peso al nacimiento de sus corderos, reflejando un más o menos eficiente uso de los nutrientes. En todo momento, los índices metabólicos no se desviaron de los valores fisiológicos, lo que demuestra el alto nivel de adaptación metabólica que presenta la oveja Lacaune lechera de alta producción, en condiciones adecuadas de manejo, para compatibilizar un adecuado nivel productivo y un óptimo mantenimiento de la gestación.

Tabla 2. Peso (kg) de corderos al nacimiento y a los 17 días de edad y ganancia diaria media de peso (GDMP) clasificados según el nivel productivo de sus madres durante la gestación, en una granja comercial de ovejas Lacaune de alta producción.

Parámetros	Corderos nacidos de ovejas adultas clasificadas por								
	PL			PD			PC		
	BPL	MPL	APL	BPD	MPD	APD	BPC	MPC	APC
	(n=78)	(n=118)	(n=121)	(n=82)	(n=119)	(n=116)	(n=81)	(n=122)	(n=114)
Peso al nacer (kg)	4,41 ^d	4,09 ^e	4,29 ^{de}	4,08	4,31	4,31	4,10 ^d	4,20 ^{de}	4,40 ^e
Peso a los 17d* (kg)	7,40 ^a	8,88 ^b	9,63 ^c	8,68 ^{de}	8,46 ^d	9,23 ^e	8,65	8,87	8,83
GDMP (g/d)	228 ^d	246 ^{ed}	253 ^e	243	240	250	238	253	239

*: edad de los corderos a los 17±5 días. Datos expresados como valores medios. Diferentes superíndices en la misma línea señalan diferencia estadística significativa entre grupos (a, b y c $P < 0,0001$; d≠e $P < 0,05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antunovi, Z., Sencic, D., Speranda, M. & Liker, B. (2002). S R Res, 45:39–44.
- Bell, A. W. & Bauman, D. E. (1997). J of Ma Gl Bi and Ne. 2:265–278.
- Bell, A. & Greenwood, P.L. (2016). Ani Pro Sci. 56: 1217-1232.
- Bjerre Harpøth, V., Friggens, V.N., Thorup, V.M., Larsen, T., Damgaard, B.M., Ingvarsen, K. L. & Moyes, K.M. (2012). J of D Sc. 95:2362–2380.
- Haffaf, S. & Benallou, B. (2016). A Pa Jof Tro B 6:256–258.
- Kamal, M. M., Van Eetvelde, M., Depreester, E., Hostens, M., Vandaele, L., & Opsomer, G. (2014). J of D Sc. 97:5448–5458.
- Mohammadi, V., Anassori, E. y Jafari, S. (2016). V r f: an in q j 7:35–9.
- Ospina, P. A., Jessica, A, McArt., Thomas, R., Overton, Tracy, Stokol, & Daryl, V. Nydam. (2013). V Cl of No Am - F An Pr. 29:387–412.
- Piccione, G., Alberghina, S., Marafioti, C., Giannetto, S., Casella, A., Assenza, & Fazio, F. (2012). Rep in D An, 47:591–595.

MATERNAL FACTORS (LEVELS OF PRODUCTION) ON LAMBS' BIRTH WEIGHT IN DAIRY SHEEP

ABSTRACT: Pregnancy and lactation are states of greatest nutrients' demand that triggers a metabolic challenge in sheep that can indeed affect their offspring. The aims of this study were to evaluate the effect of the level of milk yield of the mothers (high, medium and low) on the metabolic status of the ewe's self and on the birth weight of the offspring. Adults ewes with total yield per lactation classified as high showed a high level of glucose, cholesterol, non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate (β HB) and lower levels of urea (UR) during pregnancy, while, after lambing these metabolites decreased except for β HB and UR that increased when compared to adults' ewes with lower milk yields. Lambs born to ewes with high milk yields during the month of conception were heavier at birth. In conclusion, metabolic profiles of high yielding Lacaune dairy sheep can be modulated by milk yields. However, these high levels of yield did not influence negatively the birth weight of lambs.

Keywords: Metabolic profile, High milk yield, birth weight.

RESPUESTA PRODUCTIVA Y METABÓLICA DE VACAS NODRIZAS ANTE UNA SUBNUTRICIÓN BREVE E INTENSA AL INICIO DE LA LACTACIÓN

Orquera, K.¹, Blanco, M.¹, Bertolín, J.R.¹, Ferrer, J.² y Casasús, I.¹

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. icasasus@cita-aragon.es

INTRODUCCIÓN

La capacidad de un animal para responder y recuperarse de los desafíos nutricionales es un rasgo cada vez más valorado en la producción ganadera (Friggens et al., 2016), puesto que la disponibilidad o el precio de los alimentos hacen que con frecuencia el animal se vea sometido a fases de subnutrición. En ganado vacuno de carne, el nivel de nutrición puede afectar aspectos como el crecimiento, producción de leche, desempeño reproductivo y longevidad (De la Torre et al., 2015). En vacuno de leche, el balance energético negativo que experimentan al inicio de la lactación puede originar trastornos metabólicos y reproductivos (Ntallaris et al., 2017), y aunque la respuesta individual a la subnutrición depende del nivel de producción de leche, las estrategias para hacerle frente son diferentes en función de la fase de lactación (Bjerre-Harpøth et al., 2012). Ante la escasez de estudios similares en vacuno de carne, en este trabajo se aborda la respuesta metabólica y productiva en vacas nodrizas ante un desafío nutricional en el segundo mes de lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo con 16 vacas adultas ($8,0 \pm 3,4$ años) de raza Parda de Montaña con parto en otoño (20-oct $\pm 3,9$ días). Las vacas se alojaron en grupo en corrales con camas de viruta, alimentadas con una dieta a base de heno de pradera (9,9% proteína bruta (PB), 9,7 MJ energía metabolizable (EM)/kg materia seca (MS)) y concentrado (14,9% PB, 15,0 MJ EM/kg MS), calculada para cubrir el 100% de las necesidades de mantenimiento de una vaca de 615 kg de peso y una producción de 8,5 kg leche/día (8 kg heno y 3 kg concentrado/día, en fresco, suministrados individualmente). Los terneros se alojaron en cubículos adyacentes, con acceso a la vaca para mamar dos veces al día (06:30 y 13:30) durante 30 minutos.

Al inicio del segundo mes de lactación (29 días post-parto) se realizó un reto nutricional consistente en una drástica reducción de la energía aportada por la dieta (50%, 7 kg heno/día) durante 4 días consecutivos, seguidos de una semana de recuperación de nuevo con la dieta basal. En torno al reto se realizaron dos muestreos basales (semana previa), 4 durante la restricción y 5 en la semana de recuperación (días 1, 2, 3, 4 y 7). En ellos se registró el peso de la vaca y se estimó su producción de leche mediante la doble pesada del ternero antes y después de los dos periodos de amamantamiento diarios; la ganancia media diaria (GMD) de los terneros se estimó por regresión lineal entre su peso y la fecha. Las vacas se pesaron diariamente tras el primer amamantamiento y se tomaron muestras de sangre para determinar los niveles plasmáticos de metabolitos relacionados con el estado nutricional. Las concentraciones de urea (test UV cinético) y beta-hidroxi-butilato (BHB) se determinaron mediante un analizador automático (GernonStar). Los ácidos grasos no esterificados (AGNE) se analizaron por colorimetría enzimática (kit Randox Laboratories), y el malondialdehído (MDA) se determinó por cromatografía líquida en un cromatógrafo ACQUITY UPLC H-Class (Waters, Milford, Massachusetts, USA) con detector de absorbancia y fluorescencia.

Se realizó un análisis de varianza de medidas repetidas (PROC MIXED) para todos los parámetros, considerando el día de muestreo como factor fijo y el animal como efecto aleatorio. Se presentan las medias mínimo cuadráticas y las diferencias entre ellas (establecidas en $P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se presenta el peso vivo de las vacas, influido por el día de registro ($P < 0,001$). Se observa una disminución durante la restricción, en parte asociada al cambio de contenido digestivo, que no recuperó los valores basales tras la realimentación.

La producción lechera se redujo significativamente durante el periodo de restricción (Figura 1), con una respuesta inmediata desde el inicio de esta fase y valores medio un 11% inferior con respecto a los basales, que se recuperaron completamente durante la realimentación. Bjerre-Harpøth et al. (2012) observaron una pauta similar en vacas de leche bajo una subnutrición energética del 50% durante 4 días, aunque en su caso la caída de la producción fue mucho mayor. Estos resultados, obtenidos en el pico de lactación, confirmarían la mayor resiliencia de las vacas nodrizas, capaces de priorizar la producción de leche ante una restricción alimenticia (De la Torre et al., 2015). El crecimiento de los terneros se vio afectado por el periodo ($P < 0,001$) en el mismo sentido que la producción lechera. Su ganancia se redujo considerablemente de la fase basal (1,203 kg/d, e.e. 0,105) a la restricción (0,443 kg/d, e.e. 0,091), pero el ritmo de crecimiento no llegó a recuperarse completamente durante la realimentación de las vacas (0,854 kg/d, e.e. 0,065).

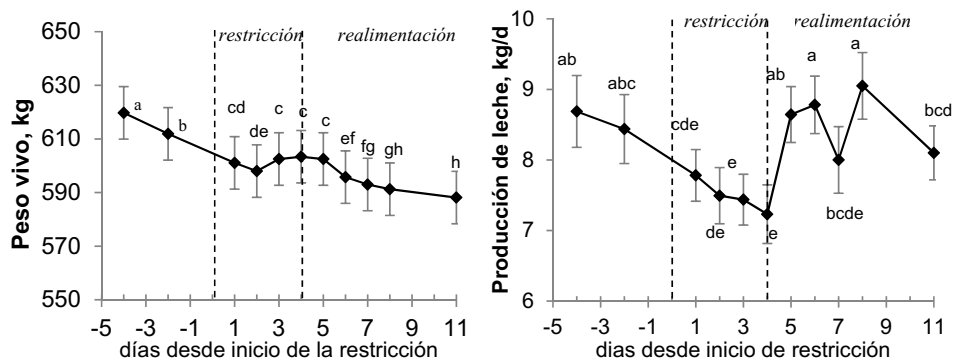


Figura 1. Evolución del peso vivo y producción de leche de las vacas. Medias con distinta letra difieren $P < 0,05$.

El día de muestreo también afectó a la concentración plasmática de los diversos metabolitos ($P < 0,001$) (Figura 2). Tanto los AGNE como el BHB se incrementaron a lo largo del periodo de restricción, alcanzando valores muy superiores a los basales el 4º día de subnutrición, pero recuperando inmediatamente los valores basales en el inicio de la realimentación (a pesar de los valores finales particularmente altos de BHB). Estos parámetros son indicadores del balance energético negativo sufrido durante la restricción, ya que cuando la ingesta de sustratos energéticos es insuficiente se produce una movilización de la grasa corporal y ambos aumentan. Sin embargo, la respuesta al inicio de la lactación en vacuno de leche podría ser insuficiente para afrontar la subnutrición, mientras que en fases medias o tardías una mayor movilización de grasa, con mayor producción de AGNE, permitiría compensar la restricción energética (Bjerre-Harpøth et al., 2012). Los valores observados en este ensayo no se corresponderían con una cetosis subclínica, para lo que la concentración de BHB debería superar 1,0 mmol/l (Li et al., 2015).

La concentración plasmática de MDA, producto de la peroxidación lipídica e indicador del estrés oxidativo en circunstancias de homeorresis (Castillo et al., 2006), también tuvo una respuesta inmediata a la subnutrición y una recuperación completa tras la realimentación.

En el caso de la concentración de urea la respuesta fue menos clara, ya que a diferencia de lo observado por Bjerre-Harpøth et al. (2012) ésta no se redujo durante la restricción pero sí lo hizo en la fase de realimentación. Puesto que la urea plasmática procede tanto de la fermentación de la proteína de la dieta como del catabolismo del tejido muscular para afrontar el déficit energético (Rodríguez-Sánchez et al., 2018), quizá éste último compensó la reducción de la proteína ingerida durante la restricción. La reconstrucción del tejido movilizado en la realimentación y la captación de la urea del torrente sanguíneo (Bourgon et al., 2017) podrían ser responsables de los bajos niveles observados en esta fase.

En conclusión, estos resultados preliminares permiten identificar las rutas mediante las que las vacas tratan de mantener la homeostasis metabólica y sus niveles de producción ante un

reto nutricional. En el futuro se estudiarán los condicionantes de la diferente respuesta individual y el posible efecto de la fase de lactación.

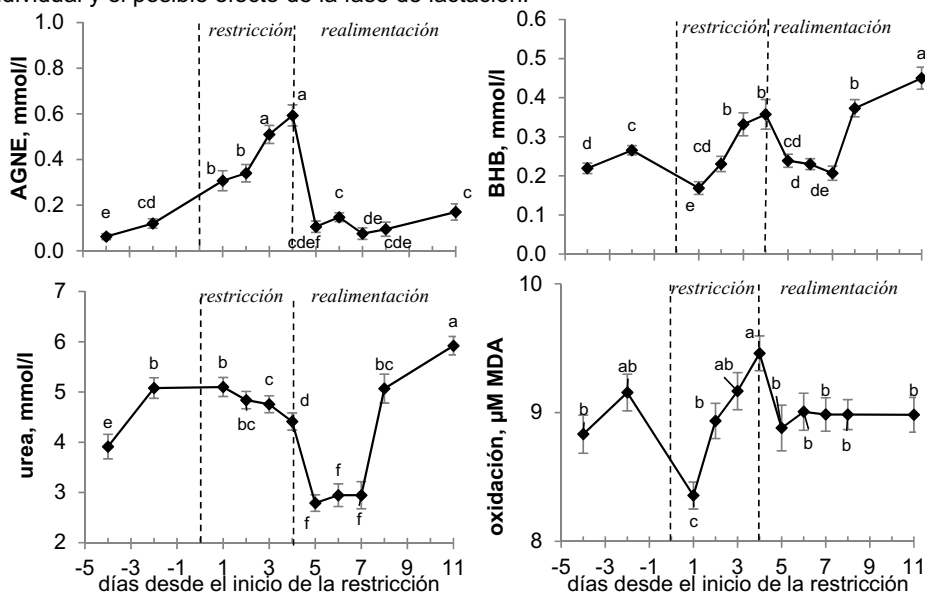


Figura 2. Evolución los ácidos grasos no esterificados (AGNE), beta-hidroxi-butilato (BHB), urea y oxidación lipídica en el suero de las vacas. Medias con distinta letra difieren $P < 0,05$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bjerre-Harpøth, V., et al., 2012. J. Dairy Sci. 95: 2362-2380. • Bourgon, S.L., et al., 2017. Livest. Sci. 195, 27-37. • Castillo, C., et al., 2006. Res Vet Sci. 80:133-9. • De La Torre, A., et al., 2015. Livest. Sci. 176, 75–84. • Friggens, N.C., et al., 2016. J. Dairy Sci. 99:1-15. • Li, Y., et al., 2016. J. Anim. Phys & Anim. Nutri. 100, 844-851 • Ntallaris, T., et al., 2017. Theriogenology. 90, 276-283. • Rodríguez-Sánchez, J. A., et al., 2018. Domest Anim Endocrinol 65: 24-37.

Agradecimientos: Al personal técnico de la Finca Experimental La Garcipollera y el CITA. Financiación de la Unión Europea (GenTORE, H2020 contrato 727213) e INIA-FEDER (RZP2015-01), y contrato predoctoral de K. Orquera del Gobierno de Aragón y contrato de M. Blanco cofinanciado por INIA-FSE.

METABOLIC AND PRODUCTIVE RESPONSE OF SUCKLER COWS TO A SHORT NUTRITIONAL CHALLENGE IN EARLY LACTATION

ABSTRACT: The metabolic and production profiles of 16 Parda de Montaña suckler cows were analyzed in response to a 4-day 50% reduction of dietary energy 1 month post-calving, in order to evaluate the strategies used to cope with undernutrition. Prior to restriction and a week post-challenge cows received a 100% diet. Daily measurements were made before, during and after the challenge. Milk yield was reduced in the restriction (-12%) and regained basal values in a week; calf gains were reduced accordingly, but did not recover previous gains. Non-esterified fatty acids, beta-hydroxy-butyrate and malondyaldehyde increased immediately during the challenge and recovered thereafter, but urea responded differently. Differences in individual response and response patterns at different stages of lactation will be further explored.

Keywords: beef, sub nutrition, lactation.

FUNCIONALIDAD INTESTINAL Y CRECIMIENTO DE TERNERAS ALIMENTANDAS CON LECHE EN POLVO ENRIQUECIDA EN ÁCIDO GLUTÁMICO

Terré¹, M., Ahangarhani¹, M., Vidal¹, M., Bach^{2,1}, A., Valent³, D., Ruiz-Herrera³, S., y Bassols³, A.

¹IRTA Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui; ²ICREA, 08010 Barcelona; ³UAB-Bioquímica Clínica, 08193 Bellaterra.; marta.terre@irta.cat

INTRODUCCIÓN

Como en la mayoría de los mamíferos, el tracto gastrointestinal de los terneros sufre cambios fisiológicos y morfológicos durante las primeras semanas de vida. El ácido glutámico (precursor de la glutamina) es la principal fuente de energía para las células intestinales (Burrin y Stoll, 2009) y del sistema inmunitario (Huang y col., 2003), y por tanto, un nutriente esencial para mantener la función de barrera protectora de la mucosa intestinal y la respuesta inmunitaria. Algunos autores consideran la glutamina como aminoácido esencial en los neonatos (Wu et al., 2014).

El objetivo de este trabajo fue valorar el crecimiento, metabolismo y la permeabilidad intestinal de terneros suplementados o no con ácido glutámico en la leche en polvo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sesenta terneros Holstein de una misma explotación comercial fueron trasladados a las instalaciones del IRTA en Torre Marimon con 3 días de vida y 45 kg de PV. Al llegar a la explotación se les atribuyó uno de los dos tratamientos experimentales: lacto-reemplazante (LR) sin suplementación (CTRL, 24,8% PB y 19,1% grasa) o LR suplementado con 0,3% de ácido glutámico (GLU. 25,1% PB y 20,3% grasa). Los animales se alojaron en corrales individuales encamados con virutas y siguieron el mismo programa de alimentación: 4 L/d de LR al 12,5% de concentración MS durante los 4 primeros días, 5 L/d a la misma concentración los siguientes 3 días, 6 L/d al 12,5% MS del día 8 al 14, y luego se aumentó a 6 L/d al 15% de MS hasta el día 49, cuando se redujo a una toma de 3 L/d al 15% MS hasta el destete el día 56. El pienso se ofreció de forma limitada para minimizar su impacto en el estudio, y la paja se ofreció a libre disposición desde el inicio del estudio. Todos los terneros tenían acceso a agua a disposición.

A lo largo del estudio se controló la ingestión de LR, pienso y paja, y los animales se pesaron semanalmente, calculando la eficiencia alimentaria como la ratio entre la ganancia media diaria y el consumo total de MS. Se obtuvieron muestras de cada LR y el pienso para valorar su composición de aminoácidos. Se obtuvo una muestra de sangre los días 14 y 35 de estudio para medir parámetros generales de bioquímica y el perfil de aminoácidos. El día 10 de estudio se realizó un test de permeabilidad intestinal utilizando la lactulosa y el D-manitol como marcadores en el LR, y tomando una muestra de sangre 1 h después de su suplementación. Los datos se analizaron usando un modelo de efectos mixtos con medidas repetidas utilizando la matriz autoregresiva de covarianza y siendo los parámetros fijos la suplementación con Glu, la semana de estudio y su interacción, y el ternero el efecto aleatorio. El peso y la edad inicial fueron utilizados como covariables en el modelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La suplementación con ácido glutámico cambió el perfil de aminoácidos del LR incrementando la proporción de ácido glutámico, histidina, arginina, valina, y triptófano, y en cambio disminuyendo la proporción de glicina, lisina, y prolina. Ni el crecimiento ni el consumo de LR o pienso fueron afectados por la suplementación de ácido glutámico, en cambio se observó una ligera mejora numérica ($P=0.11$) en la eficiencia alimentaria de los animales suplementados con GLU. Los terneros GLU consumieron ($P<0.01$) más paja durante las dos últimas semanas de estudio, pero este incremento no tuvo ningún impacto en los parámetros productivos valorados en este estudio.

Tabla 1. Datos productivos de terneros alimentados con leche en polvo suplementada (GLU) o no (CTRL) con ácido glutámico al 0.3%.

	Tratamiento		SEM ²	P-valor ¹		
	CTRL	GLU		T	t	Txt
PV inicial, kg	44.4	44.9	1.14	0.789	-	-
PV final, kg	89.0	89.4	0.743	0.448	<0.001	0.621
AG ³ inicial, kg	0.82	0.82	0.007	0.498	-	-
AG ³ final, kg	0.93	0.93	0.004	0.846	<0.001	0.634
GMD, g/d	800	809	18.5	0.731	<0.001	0.609
Consumo, g						
Lacto-reemplazante	750	749	1.8	0.663	<0.001	0.564
Pienso	475	442	36.7	0.520	<0.001	0.808
Paja	32	37	3.4	0.251	<0.001	0.008
Total	1,258	1,227	37.5	0.559	<0.001	0.896
Eficiencia alimentaria	0.66	0.68	0.011	0.108	<0.001	0.591

¹ T = efecto de la suplementación con ácido glutámico al 0.3% en la leche en polvo; t = efecto de la semana de estudio; Txt = efecto de la interacción de los dos factores anteriores

² error estándar de la media

³ altura a la grupa

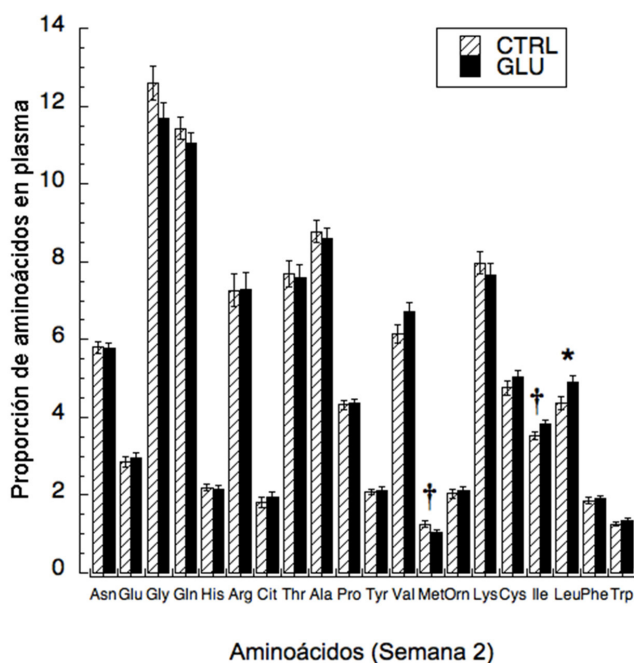


Figura 1. Proporción de aminoácidos en el plasma de terneros durante la segunda semana de estudio alimentados con una leche en polvo con o sin un 0.3% de ácido glutámico. * indica diferencias $P < 0.05$ entre los dos tratamientos, † indica P -valor entre 0.10 y 0.05

Los animales CTRL presentaron una mayor ($P < 0.05$) concentración de glucosa en sangre y una tendencia ($P = 0.09$) a una menor concentración del enzima superóxido dismutasa en comparación con los terneros GLU, pero en el resto de parámetros bioquímicos (urea, creatinina, colesterol, triglicéridos, NEFA, proteínas totales, enzimas hepáticos (ALT, AST,

GGT), y glutatión peroxidasa) analizados no se obtuvieron diferencias entre los dos grupos de animales ($P>0,05$). Tampoco se obtuvieron diferencias en el test de permeabilidad intestinal realizado en ambos grupos a los 10 días de estudio ($P>0,05$). Las concentraciones de aminoácidos en plasma fueron similares en los dos grupos de animales en ambos días de muestreo, pero el perfil de algunos de los aminoácidos ramificados (Ile, Leu) en plasma se vio modificado durante la segunda semana de estudio siendo inferior ($P<0,05$; Leu) y tendiendo a ser menor ($P=0,06$ Ile) en los animales CTRL que en los terneros suplementados con GLU (Figura 1). Los aminoácidos ramificados son precursores de Glu (Hutson y col., 2005), lo que podría indicar una mayor necesidad de Glu durante las primeras semanas de vida del ternero que no tienen que estar ligadas forzosamente al crecimiento del animal. El aporte de Glu durante las primeras semanas de vida del ternero produce cambios en el metabolismo de algunos aminoácidos ramificados, sin llegar a tener un impacto sobre el crecimiento de los animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Burrin, D. & Stoll, B. 2009. Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* 90 (suppl.):850S-856S. •Huang, Y., Shao, X. M., & Neu, J. 2003. Immunonutrients and neonates. *Eur. J. Pediatr.* 162:122-128. •Hutson, S. M., A. J. Sweatt, & K. F. LaNoue. 2005. Branched-chain amino acid metabolism: implications for establishing safe intakes, in 4th Amino Acid Assessment Workshop, 1557S-1564S. •Wu, G., Bazer, F. W., Dai, Z., Li, D., Wang, J., & Wu, Z. 2014. Amino acid nutrition in animals: protein synthesis and beyond. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2:387-417.

Agradecimientos: Este estudio ha recibido financiación del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2015-68463-C2-1-P y AGL-2015-68463-C2-2).

CHANGES IN THE MILK REPLACER AMINOACID PROFILE: GLUTAMIC ACID

ABSTRACT:

Glutamic acid is the main energy source for intestinal cells, and it might be essential for neonates. Sixty Holstein male calves were enrolled in the study to evaluate the potential effects on growth and intestinal integrity of supplementing milk replacer (MR) with 0.3% of glutamic acid. Calves were fed the same MR (24% CP, 19.6% fat) and weaned at 56 d of age. Straw was offered ad libitum, and concentrate starter was limited to reduce its impact on the study. Daily MR, concentrate, and straw intake were recorded daily, calves were weighted and heighted weekly, and feed efficiency was calculated. Blood samples were obtained at 14 and 35 d of study, and a permeability test using manitol and lactulose as markers was conducted at 10 d of study. There were no differences on performance. Straw intake was greater in GLU than in CTRL calves during the last 2 weeks of study. The proportion of plasma Leu decreased ($P<0,05$), and that of Ile tended ($P=0,06$) to decrease in CTRL compared with GLU calves at 2 weeks of study. Although changes in the amino acid profile were achieved when supplementing glutamic acid at 0.3% in the MR, these changes did not improve calf performance when using a 24% CP and 19.6% fat MR.

Keywords: calves, glutamic acid, milk replacer

INFLUENCIA DEL TIPO DE ENSILADO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE DE VACA CON Y SIN PASTOREO

S. De La Torre-Santos, L. J. Royo, A. Martínez-Fernández, F. Vicente
Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo
Agroalimentario (SERIDA). 33300 Villaviciosa, Asturias, España;
senen.torresantos@serida.org

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, un nuevo concepto de calidad, no solo relacionado con el valor nutricional de la leche, sino también con la relevancia de otros componentes, como los ácidos grasos sobre la salud humana, y la conservación del medio ambiente, ha puesto en valor su gran importancia para la industria y los consumidores. Su composición es el reflejo de múltiples factores que pueden ser o no modificados a través de diferentes prácticas. Las leguminosas tienen un haz convergente de efectos positivos sobre la fijación de nitrógeno en el suelo, lo que garantiza una menor dependencia de fertilizantes nitrogenados, un menor uso y contaminación del agua y unaproducción de materia prima proteica en las propias explotaciones ganaderas, lo cual permite a los productores la reducción de costes y la protección del medio ambiente (Preissel et al., 2015 y Cellier et al., 2016). En general, el contenido en ácidos grasos de la leche cambia en cantidad y calidad dependiendo de factores relacionados principalmente con la dieta y en menor medida con el animal y el ambiente (Hernández-Ortega et al., 2014 y Schwendel et al., 2015). El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de la inclusión en la dieta, con y sin pastoreo, de leguminosas con creciente implantación en la cornisa cantábrica sobre la producción y composición de la leche.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en la finca experimental del SERIDA de Villaviciosa (43° 28' 20" N, 5° 26' 10" O; 10 msnm) en Asturias (España). Se realizaron dos ensayos *in vivo* en paralelo, siguiendo ambos un diseño cuadrado latino 3 x 3, con tres períodos de 19 días, que incluyeron 13 días de adaptación y seis días de muestreo y mediciones. Dieciocho vacas Holstein en la segunda mitad de lactación fueron seleccionadas y distribuidas al azar en dos grupos y a su vez subdivididas en tres subgrupos de tres vacas, sobre los que se estudiaron seis tratamientos: 1) estabulación permanente y *unifeed* de ensilado de raigrás italiano *ad libitum*, 2) estabulación permanente y *unifeed* de ensilado de habas *ad libitum*, 3) estabulación permanente y *unifeed* de ensilado de guisantes *ad libitum*, 4) pastoreo continuo y oferta de dos horas tras cada ordeño de *unifeed* de ensilado de raigrás italiano, 5) pastoreo continuo y oferta de dos horas tras cada ordeño de *unifeed* de ensilado de habas y 6) pastoreo continuo y oferta de dos horas tras cada ordeño de *unifeed* de ensilado de guisantes. Las tres raciones *unifeed* fueron isoenergéticas (7,16 MJ EM/kg MS) e isonitrogenadas (151,2 g PB/kg MS). Todos los tratamientos se suplementaron diariamente con 3 kg de concentrado (868 g MS/kg, 225 g PB/kg MS y 12,6 MJ EM/kg MS) ofrecidos durante los ordeños. El pastoreo se llevó a cabo en praderas polifitas con manejo rotacional. En cada período experimental, las praderas se asignaron a los grupos correspondientes de animales teniendo en cuenta la masa de forraje fresco disponible previa al pastoreo. El ensilado de las raciones *unifeed* provenía del forraje cosechado durante la primavera anterior. Durante el período de muestreo, se tomaron muestras de ración *unifeed*, pasto y concentrado para determinar su valor nutritivo mediante NIRS. Las ingestas individuales diarias de *unifeed* en el pesebre y de concentrado en el ordeño se registraron mediante un sistema computarizado de control de la ingesta individual. Las ingestiones de pasto se estimaron utilizando el método de rendimiento animal (Macon et al., 2003). La producción de leche se registró y muestreó diariamente en cada sesión de ordeño. Las muestras de ambos ordeños se mezclaron proporcionalmente de acuerdo con la leche producida, con el fin de obtener una muestra única diaria por vaca. La determinación de grasa, proteína y urea de la leche fue realizada en el Laboratorio Interprofesional Lechero y Agroalimentario de Asturias (LILA) mediante MilkoScan FT6000. El perfil de ácidos grasos presentes en la leche se determinó de acuerdo con los métodos estándares ISO 14156:2001/IDF 172 para la extracción de los lípidos e ISO 15885:2002/IDF 184 para la determinación de los ácidos grasos por Cromatografía de Gases con detector de ionización de llama (GC-FID) en el

Laboratorio Interprofesional Gallego de Análisis de Leche (LIGAL). La ingesta de materia seca, la producción de leche y la composición de la leche se analizaron mediante ANOVA utilizando el paquete estadístico R (R Core Team, 2017) con el tipo de manejo, la dieta, sus interacciones y el período como efectos fijos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados de ingestión de alimento, producción y composición de la leche. El consumo de materia seca total fue ligeramente mayor en los tratamientos que incluían pastoreo ($P<0,1$). La producción y contenido en grasa de la leche no se vio afectada por los diferentes tratamientos, aunque con el pastoreo se obtuvo una tendencia a una mayor producción de leche (30,1 kg/d vs 28,2 kg/d con y sin pastoreo respectivamente, $P<0,1$). Sin embargo, los contenidos en proteína y urea disminuyeron con el pastoreo ($P<0,001$). Asimismo, la inclusión de ensilado de leguminosas disminuyó la concentración de proteína ($P<0,01$) e incrementó la de urea ($P<0,001$) en la leche, especialmente en los animales estabulados.

En el perfil de ácidos grasos de la leche se observaron fuertes cambios relacionados con el consumo de diferentes tipos de ensilado en la dieta y al manejo con y sin pastoreo, con una mayor concentración de ácidos grasos saturados (AGS) en los tratamientos sin pastoreo (69,89 g/100g AG vs. 64,98 g/100g AG, $P<0,001$) y una mayor concentración en los tratamientos con leguminosas de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI): 27,03 g/100g AG y 26,19 g/100g AG vs. 25,81g/100g AG para Habas, Guisante y Raigrás respectivamente, $P<0,001$, poliinsaturados (AGPI): 4,20 g/100g AG y 4,11 g/100g AG vs. 3,94 g/100g AG para Habas, Guisante y Raigrás respectivamente, $P<0,001$, y en la suma de ácido linoleico conjugado (1,42 g/100g AG y 1,34 g/100g AG vs. 1,25 g/100g AG para Habas, Guisante y Raigrás respectivamente, $P<0,001$, así como en la ratio t11/t10-C18:1 8,31g/100g AG, 7,66 g/100g AG vs. 7,08 g/100g AG, para las dietas con Guisantes, Habas y Raigrás respectivamente, $P<0,001$.

Tabla 1. Consumo de alimento (kg/d), producción (kg/d), composición (g/kg) y perfil de ácidos grasos (g/100g AG) de la leche según alimentación con ensilado de raigrás (RG), haba (H) o guisante (G), con o sin pastoreo.

	Estabulación			Pastoreo			DER	P	D	P*D
	RG	H	G	RG	H	G				
Consumo										
MSI	21,4	22,8	22,9	24,0	28,3	23,0	5,73	NS	NS	NS
Leche										
Producción	28,3	28,5	27,9	30,2	30,1	30,1	4,39	NS	NS	NS
Grasa	4,14	4,36	4,31	4,14	4,07	4,17	0,387	NS	NS	NS
Proteína	3,76 ^a	3,63 ^{ab}	3,61 ^{abc}	3,52 ^{bc}	3,46 ^c	3,54 ^{bc}	0,153	***	**	NS
Urea	253 ^{bcd}	272 ^{bc}	325 ^a	234 ^d	238 ^{cd}	278 ^b	33,4	***	***	NS
Ácidos Grasos										
AGS	71,05 ^a	68,80 ^b	69,83 ^{ab}	65,29 ^c	64,35 ^c	65,31 ^c	1,128	***	***	NS
AGMI	23,53 ^b	25,29 ^b	24,48 ^b	28,08 ^a	28,76 ^a	27,90 ^a	0,937	***	***	NS
ratio t11/t10-C18:1	3,15 ^c	3,66 ^c	3,36 ^c	11,01 ^b	11,65 ^b	13,26 ^a	0,661	***	***	*
AGPI	3,44 ^b	3,74 ^b	3,59 ^b	4,43 ^a	4,65 ^a	4,63 ^a	0,249	***	***	NS
Σ CLA	0,74 ^c	0,85 ^c	0,75 ^c	1,76 ^b	1,99 ^a	1,93 ^{ab}	0,107	***	***	NS
n6/n3	2,74 ^a	3,05 ^a	2,99 ^a	2,13 ^b	2,16 ^b	2,22 ^b	0,186	***	***	NS

²Significancia: Pastoreo (P), Dieta (D) y Pastoreo * Dieta (P*D). Letras diferentes indican diferencias significativas. NS: $P>0,05$, **: $P<0,01$, ***: $P<0,001$.

DER: Desviación estándar residual; MSI: Materia seca ingerida; AGS: Ácidos grasos saturados; AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados; CLA: Ácido linoleico conjugado

Estos resultados demuestran que el perfil de ácidos grasos varía dependiendo del sistema de alimentación. Cuando se sustituye el ensilado de raigrás italiano por ensilado de leguminosas, la grasa de la leche tiene una mayor proporción de ácidos grasos insaturados, especialmente con la inclusión de ensilado de haba en la ración. La práctica del pastoreo en la alimentación de las vacas influye directamente en la composición de la leche, mejorando su calidad al disminuir la proporción de ácidos grasos saturados e incrementar el contenido en insaturados, monoinsaturados, poliinsaturados y ácido linoleico conjugado, proporcionando de esta manera un perfil de ácidos grasos más saludable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Cellier, P., Odoux, J. F., Thiebeau, P. & Vertes, F. 2016. In Les Journées de l'AFPF (pp. 247-p). •Hernández-Ortega, M., Martínez-Fernández, A., Soldado, A., González, A., Arriaga-Jordán, C.M. Argamentería, A., de la Roza-Delgado, B. & Vicente, F. 2014. Journal of Dairy Research. 81: 471- 478. •Macon, B., Sollenberger, L.E., Moore, J.E., Staples, C.R., Fike, J.H. &Portier, K.M. 2003. Journal of Animal Science 81: 2357-2366. •Preissel, S., Reckling, M., Schläfke, N. & Zander, P. 2015. Field Crops Research 175: 64-79. •R Core Team. 2017. R Foundation for Statistical computing, Vienna, Austria. •Schwendel, B.H., Wester, T.J., Morel, P.C.H., Tavendale, M.H., Deadman, C., Shadbolt, N.M. & Otter, D.E. 2015. Journal of Dairy Science 98: 721-746.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo cofinanciado por el proyecto INIA RTA2014-00086-C02, por PCTI 2018-2020 (GRUPIN NYSA: IDI2018-000237) y Fondos FEDER. S. De La Torre Santos está financiado por una beca de doctorado SENACYT-IFARHU.

INFLUENCE OF TYPE OF SILAGE ON THE FATTY ACID PROFILE OF COW MILK

ABSTRACT: Milk production optimization includes a rational use of forages, respect for the environment, and offers better quality to consumers. The aim of this study was to evaluate the effect of different types of silages intake on fatty acids concentration in milk. A 3x3 Latin square assay was performed with 18 cows in the second half of lactation. Experimental treatments consisted on raygrass silage *unifeed*, faba bean silage *unifeed* or pea silage *unifeed*, offered *ad libitum* in housing or offered at two hours of access to raygrass silage *unifeed*, faba bean silage *unifeed*, or pea silage *unifeed* after each milking and grazing the rest of the day. The results show that grazing cows had a tendency to a higher dry matter intake and greater milk yield, however housing cows had higher concentration of protein and urea in milk. Milk fat from cows feeding legume silages had a higher proportion of unsaturated fatty acids, with significant differences in the proportion of monounsaturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, and the sum of conjugated linoleic acids and in the ratio t11-C18:1/t10-C18:1. As well as, grazing cows denote a diet with high consumption of polyunsaturated fatty acids from fresh grazing grass with a healthier fatty acid profile of milk.

Keywords: Raygrass silage, faba bean silage, pea silage, fatty acids.

OPTIMIZACIÓN DEL APORTE DE PROTEÍNA EN LA DIETA DE VACUNO LECHERO PARA MEJORAR LA GESTIÓN DE PURINES COMO FERTILIZANTE AGRÍCOLA

Elouadaf, D., Martínez-Fernández, A., Soldado, A., Jiménez-Calderón, J.D. y Vicente, F.
Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo
Agroalimentario (SERIDA). 33300 Villaviciosa (Asturias); fvicente@serida.org

INTRODUCCIÓN

La evolución de la agricultura durante la segunda mitad del siglo XX ha estado marcada por una creciente fertilización con nitrógeno (N), factor determinante del aumento de la productividad agrícola. La ganadería transforma el N vegetal ingerido en productos animales, eliminando una parte del mismo en forma de deyecciones, que puede ser reutilizada como fertilizante. Sin embargo, el desarrollo de la producción animal ha conducido a una concentración de N excretado en el medio ambiente, convirtiendo algunas áreas en vulnerables. En los rumiantes, la eficiencia de utilización del N es baja y varía en promedio de 0 a 35%, según el tipo de producción. Por ejemplo, el ganado lechero emplea aproximadamente el 25-35% del N consumido en la síntesis de leche y el crecimiento, por lo que la práctica totalidad del N restante se excreta en la orina y las heces (Wanapat et al., 2009). La mayoría del N urinario se excreta en forma de urea y puede perderse como amoníaco en la atmósfera (Broderick, 2003). Dietas con diferente concentración de proteína presentan excreciones similares de N fecal pero difieren en la excreción de N urinario (Edouard et al., 2016). Esto es debido a que el factor de mayor influencia sobre el N fecal excretado es el tamaño y el peso vivo del animal (Nennich et al., 2005). El N urinario es el resultado del catabolismo de las proteínas corporales y de los excedentes de N aportado por la ración, que implican un exceso de N degradable en el rumen que no es aprovechado por la microbiota ruminal o un exceso de aminoácidos no degradados a nivel intestinal no utilizados por el animal (Calsamiglia et al., 2010). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes niveles de proteína en la ración de vacas lecheras sobre la calidad de los purines utilizados como fertilizante (N-P-K) sin que la producción ni a la calidad de la leche se vea afectada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Seis vacas lecheras Holstein en su primer tercio de lactación y un peso inicial de $677 \pm 37,34$ kg fueron utilizadas en un diseño de doble cuadrado latino de 3x3 con tres dietas con diferente nivel de proteína bruta, 17% (AP), 15% (MP) y 13% (BP) sobre MS. El ensayo se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad de Leche del SERIDA en Villaviciosa (Asturias) conforme al RD 53/2013 (resolución de autorización PROAE 26-2018). Las vacas se alojaban en 6 jaulas metabólicas con comedero y bebedero individual y alimentadas *ad libitum*. El experimento se realizó en tres períodos consecutivos de 14 días, incluyendo 10 días de adaptación al tratamiento y 4 de control de ingestión de alimento, de producción de leche y de excreciones de heces y orina. Durante el período de muestreo se tomaron muestras diarias de cada una de las raciones y de las excretas. La leche se muestreó en los días 2 y 4 de cada período de muestreo en ambos ordeños de mañana y tarde. Las muestras de alimentos se secaron a 60 °C, se molieron a 0,75 mm y se analizaron 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 se agruparon por cada vaca proporcionalmente a la producción de cada ordeño en botes con Azidol como conservante y fueron enviadas al Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias (LILA) para sus análisis de grasa (%) y proteína (%). La eficiencia del N (EN) se calculó como la relación entre el N de la leche y el N ingerido. Los contenidos en N, P y K en las excretas se estimaron a partir de ecuaciones de predicción establecidas por ASAE (2005). 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 (R Core Team, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados de ingestión de alimento, producción y composición de la leche, excreción de heces y orina, así como el contenido de N, P y K excretado. La ingesta de materia seca varió de 21,2 a 22,4 kg MS/vaca/día y no se vio afectada por el tratamiento. El resultado de este estudio es contrario al de Broderick (2003), quien informó que la ingesta de MS disminuía linealmente cuando el nivel de proteína de la ración pasaba de 18,4 a 15,1%. Otros estudios previos también han observado que la ingesta diaria aumenta a medida que aumenta el nivel de la proteína en la dieta (Hwangbo et al., 2009).

La producción media de leche fue de 31,9 kg por día, lo que demuestra que, en este rango, las concentraciones de proteína en la dieta más bajas no limitaron el rendimiento de leche de los animales. Tampoco se vieron modificados entre tratamientos los contenidos en proteína, lactosa y grasa cuando disminuyó el nivel de proteína dietética de 17% a 13%. Otros estudios tampoco han encontrado diferencias significativas en la producción lechera debidas a una disminución de la proteína dietética (Arriola-Apelo et al., 2014; Edouard et al., 2016). Mientras que Cyriac et al. (2008) y Lee et al. (2011) observaron que la producción de leche y su proporción de proteína disminuían cuando se reducía la proteína dietética.

La EN fue del 26,94%, 28,07% y 29,08% respectivamente en los tratamientos de alta (AP), media (MP) y baja (BP) proteína. Aunque la EN fue dos puntos más alta en el tratamiento BP que en el AP no alcanzó a mostrar diferencias significativas. Broderick et al. (2008) observaron que con dietas de bajo nivel de proteína se incrementaba la EN.

La excreción del N, P y K estimada fue similar para todos los tratamientos. La excreción promedio de N fue de 42,89 g/kg de purín sólido y no difirió entre los tratamientos, lo que corrobora los resultados de Edouard et al. (2016) y Bahrami-Yekdangi (2014), que encontraron excreciones similares de N fecal con diferentes contenidos de proteína dietética. Edouard et al. (2016) explican que cuando se ofrecen bajas cantidades de proteína degradable con cantidades de proteína metabolizable adecuadas para el ganado, mejora la eficiencia en el uso del N y se reducen las emisiones de amoníaco a nivel de estable.

Tabla 1. *Ingestión de alimento, producción de leche, composición de la leche, excreción de heces y orina y contenido estimado de N, P y K en el purín.*

	AP	MP	BP	e.e.	Sig.
Alimento (kg MS/vaca/día)	22,38	21,54	21,24	1,330	ns
Leche (kg/vaca/día)	33,00	31,87	30,76	2,571	ns
Grasa (%)	4,14	4,11	4,27	0,237	ns
Proteína (%)	2,98	2,95	2,90	0,038	ns
Heces (kg/día)	63,56	67,21	64,79	4,770	ns
Orina (L/día)	25,21	24,35	23,76	1,256	ns
N excretado (g/kg purín)	43,89	41,66	43,06	1,837	ns
P excretado (g/kg purín)	7,43	7,05	7,28	0,301	ns
K excretado (g/kg purín)	9,35	8,77	8,98	0,297	ns

AP: alta proteína (17%); MP: media proteína (15%); BP: baja proteína (13%).

e.e.: error estándar. Sig.: significancia; ns: no significativo ($P > 0,05$)

A partir de los resultados de este trabajo se muestra que la disminución en los niveles de proteína en la dieta no afecta a la ingestión de materia seca, a la producción y composición de la leche ni a las excreciones de N, P y K en el purín. El aporte de cantidades más bajas de proteína bruta en la dieta no afecta el rendimiento de las vacas, al producir lo mismo que las vacas alimentadas con un nivel elevado de proteína y con misma eficiencia alimentaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arriola-Apelo, S.I., Bell, A.L., Estes, K., Ropelewski, J., de Veth, M.J. & Hanigan, M.D. 2014. *Journal of Dairy Science*, 97: 5688-5699. ● ASAE 2005. *Manure Production and Characteristics*, ASAE D384.2. ● Bahrami-Yekdangi, H., Khorvash, M., Ghorbani, G. R., Alikhani, M., Jahanian, R. & Kamalian, E. 2014. *Journal of Dairy Science*, 97: 3707-3714. ● Broderick, G.A. 2003. *Journal of Dairy Science*, 86: 1370-1381. ● Broderick, G.A., Stevenson, M.J., Patton, R.A., Lobos, N.E., & Colmenero, J.O. 2008. *Journal of Dairy Science*, 91: 1092-1102. ● Calsamiglia, S., Ferret, A., Reynolds, C.K., Kristensen, N.B. & Van Vuuren, A.M. 2010. *Animal*, 4: 1184-1196. ● Cyriac, J., Rius, A.G., McGilliard, M.L., Pearson, R.E., Bequette, B.J. & Hanigan, M.D. 2008. *Journal of Dairy Science*, 91: 4704-4713. ● Edouard, N., Hassouna, M., Robin, P. & Faverdin, P. 2016. *Animal*, 10: 212-220. ● Hwangbo, S., Choi, S.H., Kim, S.W., Son, D.S., Park, H.S., Lee, S.H. & Jo, I.H. 2009. *Journal of Dairy Science*, 22: 1133-1139. ● Lee, C., Hristov, A.N., Heyler, K.S., Cassidy, T.W., Long, M., Corl, B.A. & Karnati, S.K.R. 2011. *Journal of Dairy Science*, 94: 5544-5557. ● Nennich, T.D., Harrison, J.H., Vanwieringen, L.M., Meyer, D., Heinrichs, A.J., Weiss, W.P., St-Pierre, N.R., Kincaid, R.L., Davidson, D.L. & Block, E. 2005. *Journal of Dairy Science*, 88: 3721-3733. ● R Core Team. 2017. R Foundation for Statistical computing, Vienna, Austria. ● Wanapat, M., Polyorach, S., Boonnop, K., Mapato, C. & Cherdthong, A. 2009. *Livestock Science*, 125: 238-243.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido co-financiado por el proyecto INIA RTA2015-00058-C06-02, por PCTI 2018-2020 (GRUPIN NYSA: IDI2018-000237) y Fondos FEDER. Douaa Elouadaf es beneficiaria de una beca CIHEAM/IAMZ.

OPTIMIZATION OF THE PROTEIN CONTRIBUTION IN THE DAIRY COWS DIET TO IMPROVE THE MANURE MANAGEMENT AS FERTILIZER

ABSTRACT: Six Holstein multiparous dairy cows with an initial body weight of 677 ± 37.34 kg were organized according to a 3×3 Latin square design to evaluate the effect of three different levels of crude protein (CP) in the diet on feed intake, milk production and its chemical composition and the excretions of nitrogen, potassium and phosphorus in the manure. The crude protein levels in the total mixed rations (TMR) were 17%, 15% and 13% on dry matter (DM). It has been found that DM intake was not affected by treatments. Milk yield (31.9 ± 2.57 kg per day) and their percentages of protein ($2.9 \pm 0.03\%$) and fat ($4.1 \pm 0.24\%$) were not affected by the different CP levels. The nitrogen efficiency was 26.94%, 28.07% and 29.08% for high (HP), medium (MP) and low (LP) protein respectively ($p > 0.05$). Decreasing CP level in the lactating Holstein cow diets didn't affect feed efficiency obtaining the same productive response in the cows. The different levels of protein in the diets neither affect the nitrogen, potassium, and phosphorus excretions.

keywords: protein level, nitrogen, potassium, phosphorus.

EFFECTO DE LA UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES EN DIETAS PARA CAPRINO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE

Marcos C.N.¹, Carro M.D.¹, Fernández-Yepes J.² y Molina-Alcaide E.²

¹ Departamento de Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España.

² Estación Experimental del Zaidín (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), Profesor Albareda, 1, 18008 Granada. España; navarro-88@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el uso de subproductos agroindustriales en la nutrición de pequeños rumiantes se ha convertido en una práctica habitual, ya que no solo ayuda a reducir costes sino que también contribuye a disminuir la contaminación medioambiental (Romero-Huelva et al., 2017). Algunos de estos subproductos, abundantes en nuestro país, son los DDGS (en inglés, *Distillers Dried Grains*), la pulpa de cítricos y el orujo de aceituna. Los DDGS son un subproducto que tiene su origen en la producción de etanol a partir de la fermentación del almidón de algunos cereales y pueden utilizarse en alimentación animal como fuente de energía y proteína (Pezzanite et al., 2006). La pulpa de cítricos es el residuo de la producción de zumos de frutas como la naranja o el limón y se puede incluir en dietas como sustituto de los cereales (Bampidis et al., 2006; Romero-Huelva et al., 2017). El orujo de aceituna es el subproducto mayoritario de la industria oleícola y su valor nutritivo es escaso, pero su elevado contenido en grasa puede ayudar a mejorar la calidad de la carne y la leche (Chiofalo et al., 2004; Molina-Alcaide et al., 2010). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la inclusión de una mezcla de estos subproductos en sustitución de materias primas convencionales en una dieta para caprino lechero sobre la producción y calidad de la leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se formularon una dieta control (CON) para caprino lechero y una dieta experimental (SUB), que incluía subproductos agroindustriales (DDGS de maíz, pulpa de cítricos y orujo de aceituna) cuya composición en ingredientes se muestra en la Tabla 1. En el concentrado de la dieta SUB la cebada y la harina de palmiste se reemplazaron totalmente y se redujo la cantidad de maíz, harina de soja y salvado de trigo y en su lugar se utilizó la mezcla de subproductos previamente mencionada. Los concentrados CON y SUB se formularon para tener un contenido similar en fibra neutro detergente (FND; 24,1 y 24,5% de la materia seca (MS), respectivamente) y proteína bruta (PB), aunque el concentrado SUB presentó un contenido ligeramente mayor en PB que en el concentrado control (17,8 y 18,6%, respectivamente). El contenido en extracto etéreo (EE) de los concentrados CON y SUB fue 3,25 y 5,39%, respectivamente. Se realizó una prueba *in vivo* con 12 cabras de raza murciano-granadina ($47,0 \pm 1,38$ kg peso vivo; $22,7 \pm 2,33$ días de lactación), divididas en dos grupos que recibieron las dos dietas y se llevó a cabo un diseño experimental cruzado con dos períodos experimentales. Cada período consistió en una fase de adaptación a la dieta de 21 días y otra de muestreo, de una semana de duración. La alimentación de las cabras consistió en 1,0 kg de heno de alfalfa (49,8% fibra neutro detergente (FND); 18,1% proteína bruta (PB); 1,11% EE) y 1,0 kg de concentrado, suministrado en dos tomas iguales a las 9:00 y 16:00h. Durante la fase de muestreo se midió diariamente la producción de leche por la mañana antes de alimentar a los animales, se pesaron los restos de alimentos para calcular la ingesta y se tomaron muestras de leche para analizar su contenido en EE, las diferentes fracciones nitrogenadas y perfil de ácidos grasos (AG).

El contenido en nitrógeno (N) de la leche se analizó por el método de combustión Dumas. El N no-proteico (NNP) se analizó en muestras de leche filtradas después de precipitar con una solución al 12% (peso/volumen) de ácido tricloroacético, y el N no-caseínico (NNC) después de precipitar la leche con una solución al 10% (p/v) de ácido acético a un pH de 4,1 y posterior filtrado. Para el análisis del perfil de los AG, se extrajeron estos y esterificaron (Abecia et al., 2012) antes de ser cuantificados por cromatografía de gases usando un cromatógrafo Focus GC (Thermo Scientific, Milán, Italia) equipado con un detector de llama ionizada y una columna de 100 m (TR-CN100; Teknokroma, Barcelona, España) y helio como gas portador. Los datos se analizaron mediante un modelo mixto, en el que la dieta y el período fueron efectos fijos y el animal se consideró un efecto aleatorio. El índice de aterogenicidad se

calculó según la siguiente fórmula: $(C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0) / (\text{Ácidos Grasos Monoinsaturados} + \text{Ácidos Grasos Poliinsaturados})$.

Tabla 1. Composición en ingredientes de los concentrados control (CON) y experimental (SUB)

Item	CON	SUB
Ingrediente (g/kg materia fresca)		
Maíz	330	268
Trigo	100	100
Cebada	200	-
Harina de soja 47%	122	102
Harina de palmiste	88,0	-
Harina de colza 00	25,0	25,0
Salvado de trigo	100	30,0
DDGS maíz	-	180
Pulpa de cítricos	-	180
Orojo de aceituna	-	80,0
Otros ¹	35,0	35,0

¹ En los dos concentrados (en base a materia fresca): Jabón cálcico (12 g/kg), carbonato cálcico (10 g/kg), bicarbonato sódico (8 g/kg), sal (3 g/kg) y corrector vitamínico-mineral (2 g/kg).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No hubo diferencias ($P > 0,05$) entre las dietas CON y SUB en ninguno de los parámetros productivos estudiados (Tabla 2), aunque el consumo de heno y la producción de leche tendieron a ser mayores con el concentrado SUB ($P = 0,059$ y $0,056$, respectivamente). La producción de leche fue mayor ($P = 0,002$) en el primer período que en el segundo, debido a que el primer período coincidió con el pico de lactación.

La leche de las cabras alimentadas con la dieta SUB tuvo mayor cantidad ($P < 0,05$) de PB y grasa, lo que se atribuyó a la composición de la dieta. En un trabajo similar, donde se remplazaron las materias primas convencionales del concentrado por subproductos agroindustriales (pulpa de cítricos, granos fermentados y pulpa de tomate), Romero-Huelva et al. (2017) también obtuvieron un mayor contenido de PB en la leche. La leche de las cabras alimentadas con la dieta SUB tuvo mayor contenido en AG monoinsaturados ($P = 0,002$) y poliinsaturados ($P < 0,001$) y menor contenido en AG saturados ($P = 0,001$) que la leche de las cabras alimentadas con la dieta CON. Molina-Alcaide et al. (2010) también obtuvieron resultados similares, ya que al suministrar orujo graso de aceituna a cabras en lactación se modificó de manera similar el perfil de AG de la leche. Sin embargo, la inclusión del orujo de aceituna en la dieta no explica el cambio del perfil de AG, ya que el orujo de aceituna utilizado en este trabajo tenía una pequeña cantidad de AG monoinsaturados (3,0% de extracto etéreo). Este cambio del perfil de AG podría deberse, además de a la inclusión de orujo de aceituna, a la inclusión de pulpa de cítricos y DDGS. Romero-Huelva et al. (2017) observaron que la cantidad de AG saturados disminuía y que los AG mono y poliinsaturados aumentaban al suministrar a cabras lecheras una dieta que contenía 100 g de pulpa de cítricos por kg de MS junto con otros subproductos, y Pezzanite et al. (2006) indicaron que la inclusión de DDGS en la dieta de rumiantes lecheros puede modificar el perfil de AG de la leche. En nuestro estudio el índice de aterogenicidad se redujo ($P = 0,001$) con el concentrado SUB, por lo que mejoró la calidad saludable de la leche.

En resumen, la inclusión de subproductos agroindustriales en una dieta para caprino de leche mejoró la calidad de la leche y mostró una tendencia a aumentar su producción.

Tabla 2. Ingesta y producción y composición de la leche de cabras que recibían heno de alfalfa y un concentrado sin (CON) y con subproductos agroindustriales (SUB)

Item ¹	Dietas		Error estándar de la media	P = ²
	CON	SUB		
<i>Parámetros productivos</i>				
Consumo de heno (g materia seca (MS)/d)	730	784	17,4	0,059
Consumo de concentrado (g MS/d)	880	883	9,8	0,842
Producción de leche (g/d)	1954	2112	50,6	0,056
<i>Composición de la leche (g/100 g leche)</i>				
Proteína bruta	2,85	3,34	0,074	0,002
Nitrógeno no proteico	0,069	0,074	0,0032	0,347
Nitrógeno no caseínico	0,159	0,177	0,0061	0,087
Grasa	3,87	4,66	0,220	0,039
<i>Perfil de ácidos grasos (% total ácidos grasos)</i>				
Ácidos grasos saturados (AGS)	76,2	73,3	0,46	0,002
Ácidos grasos monoinsaturados (AGM)	19,8	21,9	0,44	0,010
Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)	3,97	4,84	0,060	<0,001
Índice de aterogenicidad	3,28	2,57	0,106	0,001

¹ Índice de aterogenicidad calculado como (C12:0 + 4 x C14:0 + C16:0) / (AGMI + AGPI)

² existieron diferencias significativas (P<0,05) entre periodos en la producción de leche y la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2016-75322-C2-1-R (MINECO) y P12-AGR-587 (Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía).

EFFECTS OF INCLUDING AGROINDUSTRIAL BY-PRODUCTS IN DIETS FOR DAIRY GOATS ON MILK YIELD AND COMPOSITION

ABSTRACT: The objective of this study was to determine the effect of including agroindustrial by-products (DDGS, citrus pulp and olive cake) in dairy goat diets on both milk yield and composition. Two concentrates were formulated, either with (SUB) or without by-products (CON), and they were fed to 12 Murciano-Granadina goats in a cross-over design. Goats were fed daily 1.0 kg of concentrate and 1.0 kg of alfalfa hay. Feed intake and milk production were measured, and samples of milk were taken for analysis of chemical composition and fatty acids (FA) profile. There were no differences (P > 0.05) in concentrate intake, but forage intake and milk production tended to be greater (P = 0.059 and 0.056, respectively) in SUB-fed goats compared with those fed the CON diet. Milk from SUB-fed goats had greater (P < 0.05) PB (3.34 vs 2.85%) and fat (4.66 vs. 3.87%) content, as well as 3.8% less saturated FA and 12.5% more unsaturated FA. Overall, milk quality increased by feeding the diet including agroindustrial by-products.

Keywords: dairy goat, DDGS, citrus pulp, olive cake

ALIMENTACIÓN DE OVINO LECHERO CON TORTA DE COLZA PENSADA EN FRÍO FUERA DE LA FORMULACIÓN DEL PIENSO

Mandaluniz, N*, Díaz de Otálora, X., Arranz, J., García-Rodríguez, A. y Ruiz, R. NEIKER-Tecnalia, Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz.; * nmandaluniz@neiker.eus

INTRODUCCIÓN

La torta de colza pensada en frío (TCPF) presenta características nutricionales adecuadas para la alimentación animal, con un contenido medio de $27\pm 2,7\%$ de proteína y $23,4\pm 2,2\%$ de grasa, y esta grasa tiene un perfil de ácidos grasos insaturados interesante en C18:1, C18:2 y C18:3 (Nájera *et al.*, 2017). Durante esta última década se está empleando la TCPF en la alimentación de ovino lechero con resultados satisfactorios tanto a nivel productivo y de calidad de leche y queso (Amores *et al.*, 2014; Nájera *et al.*, 2017), como desde el punto de vista medioambiental (Mandaluniz *et al.*, 2012). Con la intención de difundir su uso a nivel de explotación ganadera en Euskadi, se creó el grupo operativo TURTOLIO (www.turtolio.com), enmarcado dentro de la cooperación e innovación para la mejora de la competitividad y sostenibilidad del sector agrario. Su objetivo es impulsar el uso integral de la semilla de colza producida de forma local en el País Vasco, empleando la torta para la alimentación de ovejas para producir queso Idiazabal y el aceite para las calderas de las instalaciones en donde se elabora este queso. El proyecto fomenta una economía más sostenible, circular y cercana, y ofrece una oportunidad de sustitución a la soja de importación, además de ser un elemento libre de transgénicos, interesante para muchos ganaderos e imprescindible en ganadería ecológica.

Desde el punto de vista de la alimentación animal, la TCPF presenta un alto contenido en grasa que tiene efectos tanto medioambientales como productivos sobre los rumiantes. En el primer caso, la inclusión de grasa en la dieta de los animales puede reducir las emisiones de metano a nivel ruminal y contribuir a disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero (Benhissi *et al.*, 2014); pero en el segundo caso, la grasa tiene un marcado efecto antimicrobiano para los rumiantes, pudiendo implicar una pérdida de la digestibilidad de la dieta (Pineda-Quiroga *et al.*, 2013; Beauchemin *et al.*, 2007), por lo que hay que tener cuidado en su empleo en la formulación de las dietas, y más aún cuando se emplea como un alimento independiente. Bajo esta coyuntura, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la inclusión de TCPF, formulada en ración completa en ovino lechero y fuera del pienso, como un alimento independiente y determinar su efecto sobre los parámetros productivos de las ovejas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para ello se llevó a cabo un ensayo de 6 semanas con ovejas al inicio de lactación en el rebaño experimental de NEIKER-Tecnalia. Se hicieron 4 grupos homogéneos de 12 animales por lote en base a fecha de parto/edad de la oveja, producción de leche, peso vivo y condición corporal. En ensayo fue factorial de 2×2 , con dos tipos de administración de la TCPF (control=TCPF dentro del concentrado vs. TCPF en comida independiente) y dos forrajes (Tabla 1). Los concentrados empleados fueron isoprotéicos (15,8%), isoenergéticos (1,01 UFL) e isograsos (7,6%). Para los dos lotes de animales que consumieron la torta en la paja independiente (Lote 3 y 4), el pienso se compuso de las mismas materias primas del pienso control con la TCPF incorporada (Lote 1 y 2). Respecto a los forrajes, se emplearon dos forrajes de leguminosas, silo de veza (PB=21%, FAD=27% FND=38%) y heno de esparceta (PB=18%, FAD=36%, FND=47%).

El pienso se aportó a los cuatro lotes en los dos ordeños, mitad en el matutino y mitad en el vespertino. Los forrajes se aportaron tras los ordeños, por la mañana (1kg MS/oveja/día) y por la tarde (1 kg MS/oveja/día). En el caso de los lotes 3 y 4 la torta se administró en los pesebres 2 horas después de la oferta de forraje de la mañana, cuando las ovejas habían consumido más de la mitad del mismo y algunos animales empezaban a rumiar.

Tras 2 semanas de adaptación se monitorizaron durante 4 semanas los siguientes parámetros: ofertas y rechazos de los alimentos diariamente, producción de leche diaria individual (PL) 4 días por semana y su composición en grasa-GB, proteína-PB, lactosa- LAC

y urea semanalmente. Finalmente se monitorizaron el peso vivo (PV) y la condición corporal (CC) (Russel, 1984) de las ovejas al inicio y final del ensayo.

Tabla 1. Diseño del ensayo con los forrajes y piensos empleados

	Forraje ¹	Pienso (g MS/oveja/día)	TCPF ² (g MS/oveja/día)
Lote 1	Veza	900g ³	-
Lote 2	Esparceta		
Lote 3	Veza	700g ⁴	200g ²
Lote 4	Esparceta		

¹: veza o esparceta: 2 kg MS/oveja/día administrada en dos comidas, matinal y vespertina.

²: Torta de colza prensada en frío (TCPF).

³: 900 g de pienso compuestos de 200g de TCPF, maíz, cebada, avena y habas.

⁴: 700 g de pienso compuesto de: maíz, cebada, avena y habas.

Todos los datos lecheros, el PV y la CC se analizaron con el procedimiento MIXED del SAS (versión 7.1) considerando como efectos fijos el tipo de pienso (control vs. TCPF independiente), el forraje (veza vs. esparceta) y sus interacciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de PL y su composición a lo largo del ensayo fueron 2184±156 ml /oveja/día; 5,91±0,83% de GB; 4,38±0,28% de PB; 5,08±0,16% de lactosa y 300±66,6 mg urea/litro leche. Los pesos medios y la condición corporal de los animales durante el ensayo fueron 62,7±1,02 kg y 2,56±0,11 respectivamente.

De acuerdo al análisis estadístico, no hubo ninguna diferencia significativa en ninguna de las interacciones. En el caso de los piensos, la inclusión de torta como un alimento independiente en la dieta de las ovejas presentó un incremento del 9% en la producción de leche ($p < 0,001$), con un 4% menos de PB ($p < 0,001$) y un 12% menos de urea en leche ($p = 0,001$) (Tabla 2). Al ser los aportes de TCPF iguales en ambos piensos, se puede pensar que los ácidos grasos y la proteína de la TCPF aportada en el pienso han podido ser afectados de forma negativa por el tratamiento térmico para la elaboración de los pellets del pienso. Además, la mayor producción de leche en los grupos con TCPF fuera del pienso pone en evidencia que no se da una pérdida de la digestibilidad de la dieta citada en algunos trabajos (Pineda-Quiroga *et al.*, 2013), por el hecho de administrar una materia prima grasa en una comida independiente. Finalmente, los valores más bajos de urea se podrían relacionar con un mejor balance proteína/energía de la dieta (Mandaluniz *et al.*, 2012) y un mejor aprovechamiento de la misma. Estos resultados indican que esta forma de inclusión de la TCPF en la dieta de las ovejas presenta resultados positivos tanto en parámetros productivos como medioambientales.

Tabla 2. Efecto del tipo de administración de la TCPF¹ y el tipo forraje sobre los parámetros de producción lechera diaria (PL), grasa (GB), proteína (PB), lactosa y urea en leche. Asimismo, el efecto del pienso y forraje sobre el peso vivo (PV) y la condición corporal (CC) de las ovejas.

	Administración TCPF ²		Forraje	
	Control	TCPF	Veza	Esparceta
PL (ml/d)	2004±26 ^a	2211±26 ^b	2190±26 ^x	2026±26 ^y
GB (%)	5,89±0,09	5,91±0,09	6,07±0,09 ^x	5,74±0,09 ^y
PB (%)	4,48±0,03 ^a	4,28±0,03 ^b	4,43±0,03 ^x	4,32±0,03 ^y
Lactosa (%)	5,08±0,02	5,07±0,02	5,05±0,02	5,11±0,02
Urea (mg/l)	326±7 ^a	287±7 ^b	383±7 ^x	230±7 ^y
PV (kg)	61,9±0,6	61,7±0,6	60,7±0,6 ^x	62,9±0,6 ^y
CC	2,74±0,1	2,73±0,1	2,70±0,1	2,77±0,1

¹ Torta de colza prensada en frío. ² Control =TCPF incluida en el concentrado, TCPF = fuera del concentrado. Distinto superíndice indica diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) dentro de cada fila, ^{a, b} para el efecto fijo "tipo de administración de la TCPF" y ^{x, y} para el efecto fijo "Forraje".

En base a los resultados obtenidos se concluye que la inclusión de 200 g TCPF/oveja/d fuera del pienso en la alimentación de las ovejas incrementa en un 9% su producción lechera, reduce en la leche un 4% el contenido en PB y un 12% el nivel de urea. Como pautas para el empleo de la TCPF en la dieta, siendo una materia prima con un alto contenido en grasa, se recomienda administrarla tras una ingestión de forraje para que no afecte de forma negativa a la flora ruminal y a la digestibilidad de la dieta total.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Amores, G.; Virto M; Nájera, A.I.; Mandaluniz, N.; Arranz, J.; Bustamante, M.A.; Valdivielso, I.; Ruiz de Gordo, J.C.; García-Rodríguez, A.; Barron, L.J.R, de Renobales, M. (2014). Rapeseed and sunflower oilcake as supplements for dairy sheep: animal performance and milk fatty acid concentrations. *J Dairy Res.* 81: 410–416. •Beauchemin, K.A. ; McGinn, S.M.; Petit, H.V. (2007). Methane abatement strategies for cattle : lipid supplementation of diets. *Can. J. Anim. Sci.* 87: 431-440. • Benhissi, H.; Garcia-Rodríguez, A.; Beltrán de Heredia, I. (2014). Effect of type and inclusion level of cold-pressed oilseed cakes on in vitro rumen fermentation. *Animal Prod Sci*, 54: 1709-1713. • Mandaluniz, N.; Arranz, J.; Ruiz, R.; Ugarte, E.; García-Rodríguez, A. (2012). Rapeseed-cake supplementation as strategy to reduce milk urea nitrogen concentration in dairy sheep. *EAAP 63rd Annual Meeting*, Bratislava, pp: 120. • Nájera, I.; Bustamante, M.A.; Albisu, M.; Valdivielso, I.; Amores, G.; Mandaluniz, N.; Arranz, J.; Barron, L.J.R., de Renobales, M. (2017). Fatty acids, vitamins and cholesterol content, and sensory properties of cheese made with milk from sheep fed rapeseed oilcake. *J. Dairy Sci.* 100: 6962–6971. • Pineda-Quiroga, C.; Mandaluniz, N.; García-Rodríguez, A.; Marijuán, S.; Ruiz, R. (2013). Caracterización de raciones parto de ovino lechero manejado bajo distintos sistemas de producción: Resultados preliminares. *XV Jornadas Producción Animal*, 267-269. • Russel AJF (1984). Body condition scoring of sheep. In: *Practice*, vol. 6(3): 91-93.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por las Ayudas a la Cooperación, Artículo 35 del Reglamento (UE) nº1305/2013 y cofinanciado por el Dpto. de Desarrollo Económico y Competitividad del Gobierno Vasco.

EFFECT OF COLD-PRESSED RAPESEED CAKE FORMULATED OUT OF THE CONCENTRATE IN DAIRY SHEEP

ABSTRACT: During last decades cold-pressed rapeseed cake (CPRC) has been used for dairy sheep feeding with satisfactory productive and environmental results. TURTOLIO project's main objective is to impulse the integral use of rapeseed as a sustainable alternative for Idiazabal cheese-making. The objective of the current paper was to determine the effect of feeding dairy sheep with CPRC out of the concentrate formulation, as an independent raw material. According to the results, CPRC administrated out of the concentrate increased 9% dairy milk yield and reduced 4% CP and 12% milk urea levels. As CPRC is a fat-rich raw material, its administration is recommended after a forage intake in order to not affect negatively to ruminal flora and consequently to the diet digestibility.

Keywords: cold-pressed rapeseed cake, dairy sheep, production systems, ruminant feeding.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE POSOS DE CAFÉ EN LA DIETA DE OVEJAS DE RAZA LATXA SOBRE LA PRODUCCIÓN LECHERA, EL COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO Y LA FERMENTACIÓN RUMINAL

Díaz de Otálora¹, X., Ruiz¹, R., Goiri¹, I., Rey¹, J., Atxaerandio¹, R. y García-Rodríguez¹, A.
¹ NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz. xdiaz@neiker.eus

INTRODUCCIÓN

Actualmente el café es uno de los productos más importantes en el comercio mundial debido a su elevado consumo en forma de bebida de café (Mussatto *et al.*, 2011). Los posos de café representan los residuos mayoritarios derivados de la actividad hostelera y de restauración, siendo potencialmente dañinos para el medio ambiente, especialmente en lo que se refiere a la contaminación de suelos. En este contexto, su reutilización y revalorización se presenta como un objetivo de primer nivel. En este proceso de revalorización y reutilización, cobran gran relevancia sus potenciales propiedades como ingrediente funcional debido a la capacidad antioxidante, antihipertensiva y antimicrobiana asociadas a algunos de sus componentes como son las melanoidinas del café y los compuestos fenólicos (Rufián-Henares & Morales, 2007). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de los posos de café, como ingrediente funcional de los piensos, en la digestibilidad aparente de las dietas, la fermentación ruminal, el comportamiento alimentario y la producción y calidad de la leche de un rebaño de ovino lechero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de producción con 48 ovejas de raza Latxa al inicio de lactación divididas en cuatro grupos equilibrados en base a su producción lechera (1918±0,287g) y días en lactación (35,7±8,9 días). A cada grupo se le asignó un tratamiento atendiendo al nivel de inclusión de posos de café en el concentrado suministrado (Control, 3%, 5% y 10%). Los cuatro concentrados se formularon para que fueran isoenergéticos, isotrópicos e isograsos y para satisfacer sus necesidades de producción. El concentrado fue suministrado individualmente en dos dosis de 450g de materia seca (MS) durante el ordeño de la mañana (7:30) y el de la tarde (18:00). Los animales dispusieron como forraje heno de festuca (*Festuca pratensis*) *ad libitum*. La oferta y el rechazo de concentrado se determinó individualmente.

El periodo de experimentación constó de 7 días para determinar la covariable en los que las ovejas fueron alimentadas con la dieta Control, 7 para aclimatación a las dietas y 37 para recogida de datos. Las ovejas fueron ordeñadas diariamente durante el periodo experimental, recogiendo los datos de producción lechera en ambos ordeños (mañana y tarde) de forma electrónica (MM25 SG, DeLaval, Madrid, España). Además, se recogieron muestras de leche (días 17, 31 y 43) y se conservaron con azidiol a 4°C para el posterior análisis de proteína, grasa y lactosa mediante técnicas instrumentales por espectroscopía infrarroja. La ingestión de materia seca (IMS) y la digestibilidad aparente de la materia seca (DMS) se determinaron utilizando sesquióxido de cromo (Cr₂O₃) como marcador externo y ceniza insoluble en ácido como marcador interno, tal y como lo proponen Cochran y Galyean (1994). Se suministraron dos gramos de sesquióxido de cromo diarios en dos cápsulas de gelatina, una en cada ordeño, durante 10 días, recogiendo muestras de heces en los últimos tres para el análisis de cromo y ceniza insoluble. Se realizó un estudio de comportamiento alimentario de los 48 animales en un periodo de 48 horas, registrándose el comportamiento alimentario individual predominante en cada intervalo de 10 minutos. Durante la última semana del periodo de experimentación se realizó una extracción de líquido ruminal utilizando una sonda esofágica (0,9cm de diámetro y 150cm de longitud). Aproximadamente 10ml de líquido ruminal de cada oveja, se congelaron y almacenaron a -20±5°C hasta su posterior análisis de ácidos grasos volátiles (AGV) mediante técnicas cromatografías de HPLC.

Los datos de producción lechera y calidad de la leche se analizaron con el procedimiento MIXED (SAS® Institute INC, Cary, NC, EEUU, Versión 7.15, 2017) para medias repetidas (Littel *et al.*, 1998) con los datos de la semana 0 (0-7 días) como covariable y con el pienso (Control, 3%, 5% y 10%) como efecto fijo. Los datos de MS y DMS se analizaron utilizando el mismo procedimiento pero sin medidas repetidas. Los datos de comportamiento y AGV se

analizaron con el mismo modelo pero sin la inclusión de la covariable. Las medias se separaron utilizando el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pienso con un 5% de posos de café incrementó la producción de leche ($p<0,001$) con respecto al resto de los grupos así como el porcentaje de lactosa en leche ($p=0,003$) con respecto al control (Tabla 1). La inclusión de posos de café en el pienso incrementó los g/kg de proteína bruta de la leche con respecto al control solamente con un nivel de inclusión de 10% ($p=0,001$). Los piensos con un 3% y un 10% de posos incrementaron la grasa bruta de la leche ($p<0,001$) frente al grupo control y el de 10% también frente al grupo con un nivel de inclusión de 5% de posos del café.

Tabla 1. Efectos del tipo de concentrado sobre la producción media diaria y la calidad de la leche.

	Pienso				EEM ¹	p-valor
	Control	3%	5%	10%		
Producción (g/día)	1982 ^b	1984 ^b	2203 ^a	1987 ^b	12,5	<0,001
Proteína bruta (g/kg)	44,0 ^b	45,4 ^{ab}	45,9 ^{ab}	46,8 ^a	0,49	0,001
Grasa bruta (g/kg)	50,7 ^c	57,4 ^b	53,4 ^{bc}	60,0 ^a	1,13	<0,001
Lactosa (g/kg)	50,3 ^b	50,8 ^{ab}	52,4 ^a	51,5 ^{ab}	0,40	0,003

¹: Error estándar de la media. Dentro de una fila, los valores medios con distinto superíndice indican diferencias significativas ($p<0,05$).

En lo que se refiere a la IMS, DMS y comportamiento alimentario de los animales (Tabla 2), no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros determinados, pudiéndose afirmar que la inclusión de los posos de café en diferentes concentraciones no afectó al comportamiento ni a las pautas de ingestión de las ovejas en comparación con aquellas del grupo control.

Tabla 2. Efectos del tipo de concentrado sobre la ingestión de forraje, ingestión total de materia seca, la digestibilidad de la materia seca y el comportamiento alimentario

	Pienso				EEM ¹	p-valor
	Control	3%	5%	10%		
Ingestión forraje (kg MS/d)	1,39	1,31	1,32	1,34	0,101	0,942
Ingestión total(kg MS/d)	2,28	2,20	2,22	2,23	0,101	0,942
DMS ² (g/kg)	618	610	612	612	3,0	0,984
Tiempo ingestión (min)	391	356	374	349	21,1	0,498
Tiempo rumia (min)	539	588	568	548	18,6	0,266
Tiempo masticando (min)	929	943	945	897	33,0	0,736
Tiempo descanso (min)	509	497	498	543	32,9	0,735

¹: Error estándar de la media; ²: Digestibilidad aparente de la materia seca.

En lo correspondiente a las concentraciones de AGV (Tabla 3), se observó un incremento ($p=0,002$) de las concentraciones de ácido acético (C2) en los grupos con inclusión de posos de café frente al grupo control. La concentración mayor de ácido propionico (C3) y el ratio de C3:C2 más alto se observó en el grupo Control ($p<0,001$) con respecto a los grupos con inclusión de posos de café, presentando el grupo del 10% el menor ratio con respecto al 3% y 5%. Las concentraciones de ácido butírico así como el total de los AGV y la concentración de ácido valérico no mostraron diferencias entre los diferentes grupos. En lo referente a la suma de las concentraciones de ácidos isoméricos (isovalérico+isobutírico) se observó un

incremento ($p < 0,001$) en el grupo 10% con respecto al resto de grupos, y del Control frente al 3% y 5%.

Tabla 3. Efectos del tipo de concentrado sobre la concentración de ácidos grasos volátiles ruminales.

	Pienso				EEM ¹	p-valor
	Control	3%	5%	10%		
AGV ² (mmol)	4,2	4,3	4,4	4,7	1,49	0,879
Acético (mmol/100mmol)	64,8 ^b	66,2 ^a	66,6 ^a	66,7 ^a	1,12	0,002
Propiónico (mmol/100mmol)	19,7 ^a	17,6 ^b	17,9 ^b	16,0 ^c	1,17	<0,001
Butírico (mmol/100mmol)	12,3	13,1	12,6	13,5	1,10	0,068
Valérico (mmol/100mmol)	1,4	1,3	1,3	1,3	0,13	0,492
ISOS ³ (mmol/100mmol)	1,8 ^b	1,7 ^c	1,5 ^c	2,5 ^a	0,44	<0,001
Propiónico:Acético	0,30 ^a	0,26 ^b	0,26 ^b	0,24 ^c	0,021	<0,001

¹: Error estándar de la media; ²: Ácidos grasos volátiles totales; ³: Suma de los ácidos grasos isovalérico e isobutírico; Dentro de una fila, los valores medios con distinto superíndice indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En conclusión, los posos de café se pueden formular hasta un 10% en piensos puesto que se consigue una mejora en la calidad de la leche sin comprometer el comportamiento alimentario o el rendimiento productivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cochran, R.C., Galyean, M.I., 1994. Forage Quality, Evaluation and Utilization (ed GF Fahey Jr.), pp. 613-643. Madison, USA • Littell, R.C., Henry, P.R., Ammerman, C.B., 1998. J. Anim. Sci. 76 (4): 1216-1231 • Mussato, S.N., Carneiro, L.M., Silva, J.P.A., Roberto, I.C., Teixeira, J.A., 2011. Carbohydr Polym 83: 368-374 • Rufián-Henares, J.A., Morales, F.J., 2007. Food Res. Int. 40: 995-1002 • SAS 2017. Enterprise's Guide. Release 2017

Agradecimientos: La investigación fue financiada por el Departamento de Desarrollo e Infraestructuras del Gobierno Vasco

Effect of the inclusion of coffee grounds in the diet of Latxa sheep on milk production, feeding behavior and ruminal fermentation

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the effect of coffee grounds, in different concentrations (3%, 5% and 10%), on milk yield and quality, feeding behavior, ruminal short chain volatile fatty acid profile, dry matter intake and apparent digestibility in Latxa dairy ewes. Forty eight dairy ewes were divided in four groups according to parity, milk yield and days in milk. All of the concentrates were formulated to be isonenergetic, isoproteic, isofat and to meet the production needs. Feeding coffee grounds at 5% inclusion level in the concentrate positively affected milk yield (g/day). Feeding coffee grounds at 3 or 10% improved milk quality by increasing milk fat contents. In addition, apparent digestibility as well as feeding behavior was not affected by feeding coffee grounds. The use of coffee ground in different concentrations did not have negative consequences both in the productive parameters and the feeding behavior. In conclusion, coffee grounds could be formulated in a concentrate for dairy sheep up to a level of 10%, observing and improvement in milk quality and without negative effects on feeding behavior or productive performance.

Keywords: By-products, coffee, feed, milk quality.

SÍNTESIS ENDÓGENA DEL ÁCIDO RUMÉNICO (c9t11-CLA) DE LA LECHE: CUANTIFICACIÓN EN OVEJAS MEDIANTE EL USO DE TRAZADORES ISOTÓPICOS

Toral, P. G.*, Frutos, P., Belenguer, A. y Hervás, G.
Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Univ. de León), Finca Marzanas s/n, 24346
Grulleros, León; *pablo.toral@csic.es

INTRODUCCIÓN

La leche de los rumiantes contiene ácidos grasos (AG) bioactivos, entre los que destaca el ácido linoleico conjugado (CLA). Su isómero mayoritario es el ácido ruménico o c9t11-CLA y a él se le atribuyen las principales características beneficiosas del CLA (e. g., anticancerígenas y antiaterogénicas; Palmquist et al., 2005). Por ello, existe un elevado interés en aumentar su concentración en los productos lácteos.

El c9t11-CLA que aparece en la leche puede tener un origen ruminal, al ser un metabolito intermedio de la biohidrogenación de los AG de la dieta. También puede sintetizarse de forma endógena por la acción de la enzima Δ^9 -desaturasa mamaria sobre el ácido vaccénico (t11-18:1), otro producto de la biohidrogenación ruminal (Bernard et al., 2013). Con el fin de diseñar las estrategias más adecuadas para aumentar el contenido de ácido ruménico en la leche de los rumiantes, resulta clave conocer su principal origen en cada especie.

Mediante cuantificación directa *in vivo*, se ha visto que la síntesis endógena es la fuente mayoritaria de CLA en la leche de vacas y cabras (63-80%; Mosley et al., 2006; Bernard et al., 2010). Los pocos resultados disponibles en ovejas, sin embargo, derivan de estimaciones indirectas, lo que podría contribuir a explicar la mayor variación en los datos de c9t11-CLA endógeno (51-89%; Frutos et al., 2014; Toral et al., 2015). Sería preciso, por ello, realizar mediciones directas en esta especie, siendo el uso de isótopos estables la técnica de elección por su fiabilidad e inocuidad (Bernard et al., 2013).

Por lo tanto, esta prueba se llevó a cabo en ovejas lecheras con el objetivo de cuantificar *in vivo*, por primera vez en esta especie, la síntesis endógena del c9t11-CLA de la leche, mediante la administración de su precursor, el t11-18:1, marcado con ^{13}C .

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó con 5 ovejas de raza assaf homogéneas en cuanto a producción de leche, concentración de grasa láctea, peso vivo y días posparto, que fueron alimentadas ad libitum con una dieta mixta completa (relación forraje:concentrado 50:50). Tras 21 días de adaptación, cada animal recibió por vía i.v. una dosis única de 200 mg del trazador isotópico ([1- ^{13}C]t11-18:1, 99% de pureza) emulsionados en 140 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 t11-18:1 y c9t11-CLA marcados con ^{13}C en la leche, a las -24, -15, 0, 9, 24, 33, 48, 57 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 utilizando un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama y una columna polar de 100 m, siguiendo el método descrito por Shingfield et al. (2003). La separación de los isómeros c9t11, t7c9 y t8c10 del CLA se realizó con otra columna altamente polar de 100 m y el programa de temperatura empleado por de la Fuente et al. (2015). El enriquecimiento de los AG con ^{13}C se determinó mediante cromatografía de gases-combustión-espectrometría de masas de relaciones isotópicas (GC-C-IRMS). La proporción de t11-18:1 desaturado *in vivo* y la de c9t11-CLA sintetizado endógenamente se calcularon a partir de las ecuaciones descritas en un estudio previo sobre el uso de trazadores isotópicos en ovejas (Toral et al., 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo de muestreo, la ingestión de alimento (promedio \pm error estándar de la media) fue de $2,99 \pm 0,064$ kg de MS/día, la producción de leche de $2,05 \pm 0,038$ kg/día y la concentración de grasa láctea de $5,62 \pm 0,140\%$. Estos valores se mantuvieron estables a lo largo del periodo experimental, en el cual también se registraron porcentajes muy constantes de t11-18:1 y c9t11-CLA en la leche (de media, $0,65 \pm 0,005$ y $0,30 \pm 0,003\%$ del total de AG, respectivamente). Los resultados para ambos AG se situaron en el rango descrito en ovejas que recibían dietas similares (Frutos et al., 2014, 2017; Toral et al., 2017).

En la figura 1 se muestran los enriquecimientos medios con ^{13}C de los dos AG cuantificados mediante GC-C-IRMS, corregidos para la abundancia natural en las muestras de leche recogidas antes de la inyección del trazador isotópico ($\approx 1,079\%$). Los máximos, del 3,24% en el $t11-18:1$ y del 2,39% en el $c9t11-CLA$, se observaron en el primer muestreo tras la administración del trazador isotópico (9 h p.i.), decayendo de forma paulatina hasta las 72 h p.i., cuando se obtuvieron valores medios de 0,25 y 0,34% para el ácido vaccénico y ruménico, respectivamente. En este sentido, la mayor sensibilidad de la metodología de GC-C-IRMS, comparada con otras como la de GC-MS, hacen que sea idónea cuando los valores de enriquecimiento son bajos (p. ej., $<2\%$; Mosley y McGuire, 2007). Esto permite además reducir la dosis de trazador isotópico administrada y, con ello, su coste (que puede ser especialmente elevado). En ensayos *in vivo*, la administración de dosis bajas de AG también resultaría conveniente para intentar interferir al mínimo con sus niveles plasmáticos en el animal y, por lo tanto, con la cantidad disponible para la captación mamaria.

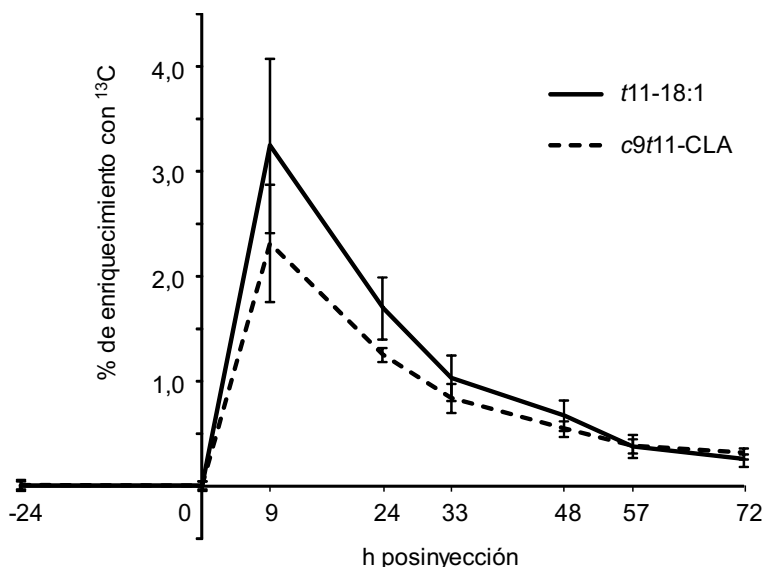


Figura 1. Enriquecimiento con ^{13}C del $t11-18:1$ y $c9t11-CLA$ en la leche de ovejas ($n=5$) que recibieron una inyección i.v. de 200 mg de $[1-^{13}\text{C}]t11-18:1$ a las 0 h. Las barras verticales representan el error estándar de la media. Las muestras de -24 h correspondieron a la mezcla proporcional de la leche recogida a -24 y -15 h.

La cinética de aparición de $t11-18:1$ y $c9t11-CLA$ marcados con ^{13}C fue similar a la observada previamente en vacas y cabras (Mosley et al., 2006; Bernard et al., 2010), pero diferente de la esperada en ovejas lecheras, considerando su respuesta a la administración de $^{13}\text{C}-18:0$ (Toral et al., 2017). En este último estudio, el máximo enriquecimiento del trazador no se había alcanzado hasta pasadas 16 h p.i., sin que hubiera un pico de enriquecimiento evidente para el producto de su desaturación, el $c9-18:1$. Aunque en dicho trabajo se especuló sobre una posible relación con diferencias interespecíficas en el metabolismo lipídico en la glándula mamaria, los resultados actuales sugieren que podrían existir diferencias en la cinética de transporte de cada AG. No obstante, el porcentaje de transferencia del trazador isotópico a la leche en el presente ensayo ($16,3 \pm 1,55\%$ en 72 h), fue muy inferior al obtenido en vacuno en un periodo de tiempo mucho más corto (33% en 24 h; Mosley et al., 2006), lo que apuntaría de nuevo a diferencias metabólicas entre especies de ruminantes.

A partir de los datos de porcentaje y producción de AG ^{12}C y ^{13}C en la leche, se pudo calcular que aproximadamente el $28,8 \pm 0,97\%$ del $t11-18:1$ captado por la glándula mamaria de las ovejas fue desaturado a $c9t11-CLA$, cuya síntesis endógena representó el $87,6 \pm 4,52\%$ de lo

secretado en la leche. La cifra de ácido vaccénico desaturado sería intermedia a la obtenida con el uso de isótopos estables en vacas y cabras (26 y 32%, respectivamente; Mosley et al., 2006; Bernard et al., 2010) y estaría dentro del rango estimado de forma indirecta en ovejas lecheras (22-29%; Toral et al., 2015). Su escasa variación apoya los resultados del metanálisis de Glasser et al. (2008), que sugerían que la capacidad de desaturación Δ^9 de la glándula mamaria no es un factor limitante de la secreción de c9t11-CLA en la leche, que estaría determinada por la disponibilidad de su precursor, el t11-18:1. Esta depende, a su vez, de la composición de la ración (Palmquist et al., 2005), lo que podría explicar las inconsistencias en las estimaciones previas (51-89% de ácido ruménico endógeno; Frutos et al., 2014; Toral et al., 2015) en ovejas que recibían dietas con diferente composición lipídica. No obstante, la comparación de los resultados obtenidos con dos dietas similares (este trabajo y el de Frutos et al., 2014) muestran que la aplicación de trazadores isotópicos permite cuantificar una mayor proporción de c9t11-CLA endógeno. Por ello, sería conveniente avanzar en esta línea de investigación para determinar qué parte de las diferencias se debería a variaciones en la composición de la dieta y cuál a la metodología empleada en cada caso (estimación indirecta mediante inhibición de la Δ^9 -desaturasa vs. cuantificación con isótopos estables). A modo de conclusión, al menos en las condiciones específicas de este ensayo, el 88% del ácido ruménico (c9t11-CLA) que aparece en la leche de las ovejas derivaría de la síntesis endógena mediante la acción de la enzima Δ^9 -desaturasa, que actúa sobre el 29% del ácido vaccénico (t11-18:1) captado por la glándula mamaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• 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.). • de la Fuente, M.A., et al. 2015. Int. Dairy J. 47: 52-63. • Frutos, P., et al. 2014. J. Dairy Sci. 97: 1036-1046. • Frutos, P., et al. 2017. J. Dairy Sci. 100: 9611-9622. • Glasser, F., et al. 2008. J. Dairy Sci. 91: 2771-2785 • Mosley, E.E., et al. 2006. J. Nutr. 136: 570-575. • Mosley, E.E. & McGuire, M.A. 2007. Lipids 42: 939-945. • Palmquist, D.L., et al., 2005. Adv. Food Nutr. Res. 50: 179-217. • Shingfield, K.J., et al. 2003. Anim. Sci. 77: 165-179. • Toral, P.G., et al. 2015. J. Dairy Sci. 98: 1961-1971. • Toral, P.G., et al., 2017. J. Dairy Sci. 100: 5880-5887.

Agradecimientos: Este trabajo forma parte del proyecto AGL2017-87812 del MINECO, cofinanciado por el FEDER. P.G. Toral disfruta de un contrato Ramón y Cajal también del MINECO (RYC-2015-17230) y cofinanciado por el FSE.

ENDOGENOUS SYNTHESIS OF MILK RUMENIC ACID (c9t11-CLA) IN EWES: QUANTIFICATION USING ISOTOPIC TRACERS

ABSTRACT: Isotopic labeling has emerged as a reliable and sensitive methodology to directly examine lipid metabolism in lactating ruminants. However, a very limited number of studies has applied this technique to measure the proportion of milk rumenic acid (c9t11-CLA) synthesized endogenously by Δ^9 -desaturation in cows and goats, and there is none in ewes. This trial was therefore conducted in sheep to quantify, for the first time in this species, the in vivo endogenous synthesis of milk rumenic acid, using isotopic tracers. Five lactating ewes received an intravenous injection of 200 mg of [1- 13 C]t11-18:1, and the 13 C enrichment of t11-18:1 and c9t11-CLA in milk was then examined by GC-C-IRMS. On average, 29% of the t11-18:1 transferred to the mammary gland within 72 h post-injection was desaturated to c9t11-CLA. The endogenous synthesis of milk rumenic acid represented approx. 88% of the amount secreted in milk. The available information is not sufficient to determine whether the inconsistencies compared with earlier indirect estimations are linked to different methodologies or to feeding conditions, which would merit further research.

Keywords: Δ^9 -desaturase, sheep, stable isotope, vaccenic acid.

VALORACIÓN PROTEICA DE HARINAS DE INSECTOS EN LA NUTRICIÓN DE RUMIANTES: COMPARACIÓN DE MÉTODOS

González-Rosales, G.¹, Frutos, P.¹, Toral, P.G.¹, Belenguer, A.¹, Mendoza, A.G.¹, Fondevila, M.² y Hervás, G.^{1*}

¹Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Univ. de León), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros, León. ²Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA, Miguel Servet 177, 50013, Zaragoza; *g.hervas@csic.es

INTRODUCCIÓN

Dada la creciente demanda de fuentes de proteína vegetal, tanto para el consumo animal como humano, se hace necesaria la búsqueda de fuentes alternativas que puedan utilizarse en la alimentación de rumiantes. Diversos estudios (FAO, 2013; Makkar et al., 2014) han propuesto la incorporación de insectos en los piensos de los animales y la sustitución total o parcial de fuentes vegetales de proteína. Sin embargo, y aunque la FAO (2013) apoya el uso de estos productos, hasta la fecha existen muy pocos estudios en rumiantes (e. g., Jayanegara et al., 2017). Además, estos alimentos son extremadamente heterogéneos (no sólo por la especie de insecto sino también por su fase metamórfica), especialmente en lo que se refiere a la cantidad y calidad de su proteína o grasa (Rumpold y Schlüter, 2013).

Por otro lado, el uso de las técnicas *in vitro* de cultivos no renovados de microorganismos ruminales o la *in situ* de las bolsas de nailon para evaluar la degradación ruminal de la proteína está cuestionado, ya que podría haber una sobreestimación por el paso de partículas a través de los poros (bien del crisol o bien de las bolsas) sin ser realmente degradadas (Givens et al., 2000). Raab et al. (1983) propusieron un método alternativo basado en la técnica de producción de gas, pero no ha recibido demasiada atención.

Por todo ello, el objetivo de este trabajo fue realizar un estudio de la valoración proteica de varias harinas de insectos mediante la utilización de diversas técnicas (*in vitro* e *in situ*).

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se valoraron 4 harinas de insectos: 1) gusano de la harina (*Tenebrio molitor*, larvas); 2) gusano rey (*Zophobas morio*, larvas); 3) escarabajo de la cama (*Alphitobius diaperinus*, larvas), y 4) grillo doméstico (*Acheta domesticus*, adultos). Además, se utilizó una torta de soja como alimento de referencia. La composición química de estos sustratos se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química (%) de los alimentos valorados¹.

	MS	MO	PB	FND	FAD	EE	Almidón
Torta de soja	87,5	93,1	50,6	14,5	9,3	3,5	0,3
<i>Tenebrio molitor</i>	93,2	96,6	50,9	19,5	7,6	34,4	4,5
<i>Zophobas morio</i>	93,7	96,6	37,8	9,6	5,3	48,8	1,8
<i>Alphitobius diaperinus</i>	93,3	96,0	64,7	11,4	7,3	24,7	0,9
<i>Acheta domesticus</i>	91,3	94,7	69,9	13,4	8,4	18,1	1,6

¹MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; EE: extracto etéreo. Resultados en % MS, excepto la propia MS que se expresa en % de la materia fresca.

Para realizar una valoración proteica de los alimentos se utilizaron 3 métodos diferentes. En el primero, se siguió la metodología *in vitro* descrita por Raab et al. (1983) y Mota et al. (2005). Para ello, se realizaron cultivos no renovados de microorganismos ruminales usando 3 ovejas merinas canuladas en el rumen (59,9 kg PV) como donantes del inóculo. Estos animales se alimentaron con una ración completa mezclada (TMR) basada en heno de alfalfa y concentrado (relación F:C 60:40). En cada botella de incubación se pesaron 500 mg de sustrato junto con cantidades crecientes (0, 100, 200 o 300 mg) de almidón de maíz (Fluka, España) a los que se les añadió 50 mL de fluido ruminal tamponado (relación 1:4 entre fluido ruminal –recogido 3-4 horas postingestión y filtrado a través de una membrana de nailon de 250 µm– y saliva artificial; Goering y Van Soest, 1970). Las incubaciones se realizaron a 39,5

°C durante 16 horas, y se repitieron en 3 días diferentes. La producción de gas se registró a las 4, 8 y 16 h y, una vez detenida la incubación, se tomaron muestras para el análisis del N amoniacal (Reardon, 1966) para estimar por regresión la desaparición del nitrógeno (**DN reg**). Posteriormente, el residuo se filtró utilizando crisoles porosos (100-160 µm) y se secó a 45 °C para analizar el contenido de nitrógeno (ISO 5983-2:2009) y determinar así su desaparición (**DN in vitro**).

La degradación ruminal del nitrógeno también se estudió mediante la técnica de las bolsas de nailon (Ørskov y McDonald, 1979). Para ello, se utilizaron bolsas de 50 µm de tamaño de poro que fueron incubadas durante 16 horas en el rumen de 4 ovejas merinas (57,4 kg PV) canuladas. Transcurrido el tiempo de incubación, las bolsas se lavaron primero a mano con agua fría, se congelaron durante 24 horas, se lavaron después en una lavadora con agua fría y finalmente se secaron a 45 °C durante 48 horas. Sobre el residuo se analizó el contenido de nitrógeno para poder estimar así su desaparición (**DN in situ**).

La degradación ruminal del N con la técnica de Raab et al. (1983) se estimó mediante regresión lineal (mL de gas vs. mg de N-amoniaco), utilizando el procedimiento REG del paquete estadístico SAS (v9.4; SAS Inst. Inc., EE. UU.).

Los resultados se analizaron mediante dos análisis independientes de varianza, para estudiar las diferencias entre métodos y entre sustratos, utilizando el procedimiento MIXED del SAS. En ambos casos la tanda se consideró como efecto aleatorio. Las medias se ajustaron para comparaciones múltiples usando la corrección de Bonferroni.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de composición química de los insectos (Tabla 1) confirman su potencial como ingredientes alternativos a las fuentes tradicionales de proteína. De los insectos valorados, *Z. morio* es el que contiene menor cantidad de PB (38%), aunque mayor proporción de grasa (49%). En general, la composición química observada es similar a la descrita por Rumpold y Schlüter (2013).

En cuanto a la degradación ruminal del N estimada por regresión, a partir de los datos *in vitro* de producción de gas y el N amoniacal, en la Tabla 2 se presentan las ecuaciones obtenidas. En todos los sustratos, la intersección indica que la degradación potencial de su PB es relativamente elevada (entre 52 y 62% para la soja, *A. diaperinus* y *A. domesticus*, y 36-38% para las larvas de *T. molitor* y *Z. morio*). No obstante, estos resultados podrían estar condicionados por la composición del inóculo ruminal, obtenido de donantes que consumían una dieta muy rica en PB (~20%) y recogido 3-4 h post ingestión, lo que podría haber favorecido una elevada actividad proteolítica durante la incubación.

Tabla 2. Ecuaciones de regresión establecidas entre la producción de gas (*x*, mL) y el contenido de nitrógeno amoniacal (*y*, mg) tras 16 h de incubación *in vitro* de los alimentos proteicos con cantidades crecientes (0, 100, 200 o 300 mg) de almidón (*n* = 12).

	Ecuación de regresión	R ² -ajustada	RMSE ¹
Torta de soja	$y = 61,7 - 0,210 x$	0,893	1,5172
<i>Tenebrio molitor</i>	$y = 35,7 - 0,136 x$	0,927	1,1049
<i>Zophobas morio</i>	$y = 38,6 - 0,134 x$	0,933	0,9939
<i>Alphitobius diaperinus</i>	$y = 51,7 - 0,092 x$	0,768	1,7472
<i>Acheta domesticus</i>	$y = 55,7 - 0,133 x$	0,905	1,4489

¹Raíz cuadrada del error cuadrático medio.

En la Tabla 3 se muestran las diferencias debidas al método analítico y al sustrato: la degradación de N varió en función del método (P<0,05) en 4 de los 5 sustratos. Únicamente en *A. domesticus* fue similar entre técnicas (P>0,10). Independientemente del método, el alimento con valores más altos de degradación de N fue la torta de soja, mientras que *T. molitor* presentó siempre los más bajos (P<0,001). El resto de insectos se situó en una posición intermedia, con cifras relativamente similares cuando se estimó por regresión o *in situ*, pero más variables en la estimación *in vitro*, algo esperable dadas las características intrínsecas de cada método (Givens et al., 2000).

Tabla 3. Degradación (g/g) del nitrógeno de los alimentos proteicos estimado mediante el método de Raab et al. (1983; DN reg), el método *in vitro* de cultivos no renovados de microorganismos ruminales (DN *in vitro*) o la técnica de las bolsas de nailon (DN *in situ*).

	DN reg	DN <i>in vitro</i>	DN <i>in situ</i>	eed ¹	Prob. ²
Torta de soja	1,141 ^{A/a}	0,853 ^{A/b}	0,914 ^{A/b}	0,0372	<0,001
<i>Tenebrio molitor</i>	0,498 ^{D/a}	0,406 ^{D/b}	0,486 ^{D/a}	0,0264	0,019
<i>Zophobas morio</i>	0,761 ^{B/a}	0,556 ^{C/b}	0,724 ^{BC/a}	0,0185	<0,001
<i>Alphitobius diaperinus</i>	0,701 ^{C/b}	0,699 ^{B/b}	0,778 ^{B/a}	0,0143	<0,001
<i>Acheta domesticus</i>	0,728 ^{BC}	0,715 ^B	0,702 ^C	0,0144	0,266
eed ¹	0,0118	0,0327	0,0202		
Prob. ²	<0,001	<0,001	<0,001		

^{ABCD}Para cada método, diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas.

^{ab}Para cada alimento, diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias significativas.

¹Error estándar de la diferencia. ²Probabilidad.

A modo de cierre, los resultados no permiten seleccionar con fiabilidad un único valor de degradación ruminal del N, aunque los diferentes métodos parecen establecer un ranking similar. En cualquier caso, independientemente del método de valoración, los resultados sugieren que la proteína de los insectos valorados presenta valores bajos de degradación, inferiores a los de torta de soja, aunque es preciso realizar más trabajos de valoración proteica de estos alimentos alternativos dada la escasez de información al respecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FAO, 2013. *Edible insects*. FAO, Roma.
- Givens, D.I. et al. 2000. *Forage evaluation in ruminant nutrition*. CABI Publishing, UK
- Goering M.K. & Van Soest, P.J. 1970. *Forage fiber analysis*. Agriculture handbook 379. USDA, USA
- Jayanegara, A. et al. 2017. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 42: 247-254.
- Makkar, H.P.S. et al. 2014. *Amin. Feed. Sci. Technol.* 197:1-33.
- Mota, M. et al. 2005. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 123-124: 341-350.
- Ørskov, E. R. & McDonald, I. 1979. *J. Agric. Sci., Camb.* 92: 499-503.
- Raab, L. et al. 1983. *Brit. J. Nutr.* 50: 569-582.
- Reardon, J. et al. 1966. *Clin. Chim. Acta*, 14: 403-405.
- Rumpold, B.A. & Schlüter, O.K. 2013. *Mol. Nutr. Food Res.* 57: 802-823.

Agradecimientos: P.G. Toral disfruta de un contrato Ramón y Cajal (RYC-2015-17230) del MINECO, cofinanciado por el Fondo Social Europeo.

PROTEIN EVALUATION OF INSECT MEALS FOR RUMINANTS NUTRITION: COMPARISON OF METHODS

ABSTRACT: Insects have been considered as promising alternative feed resources for animals, but reports in ruminants are very scarce. This study was conducted to evaluate protein degradation of four insect meals (from *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus* and *Acheta domesticus*) and soybean meal as a reference feedstuff. The N degradability was estimated by the *in vitro* relationship between gas production and ammonia-N concentration (DN reg), and N disappearance from *in vitro* incubation residue (DN *in vitro*) or from the *in situ* nylon bags technique (DN *in situ*). The results confirmed the potential of these insect meals (with CP contents ranging from 38 to 70%) as protein ingredients and showed that, regardless of the evaluation method, the four of them present a relatively low N degradation (lower than that of soybean meal). However, further research in ruminants is necessary.

Keywords: *in situ* technique, *in vitro* technique, N degradability, sheep

TRATAMIENTO DE LA HARINA DE INSECTOS CON TANINOS: DEGRADACIÓN RUMINAL Y DIGESTIBILIDAD INTESTINAL EN GANADO OVINO

González-Rosales, G.¹, Frutos, P.¹, Hervás, G.¹, Belenguer, A.¹, Mendoza, A.G.¹,
Fondevila, M.² y Toral P.G.^{1*}

¹Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Univ. de León), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros, León. ²Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA, Miguel Servet 177, 50013, Zaragoza; pablo.toral@csic.es

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en los sistemas de alimentación de rumiantes existe una gran dependencia de la harina de soja como fuente de proteína. Dicha dependencia es especialmente elevada en Europa debido a la prohibición del uso de harinas de carne y sus derivados en la alimentación de rumiantes, lo que obliga al uso, casi exclusivo, de fuentes de proteína vegetales.

Aunque se ha sugerido el uso de insectos como alternativa a las proteínas vegetales tradicionalmente utilizadas en los piensos (Makkar et al., 2014), hasta la fecha existen muy pocos trabajos en los que se haya caracterizado en rumiantes este tipo de alimentos proteicos (Jayanegara et al., 2017; Rashmi et al., 2018).

Por otro lado, se sabe que los taninos (tanto hidrolizables como condensados) pueden reducir la degradación ruminal de la proteína de la dieta y mejorar así el aporte de aminoácidos susceptibles de ser absorbidos en el intestino (Frutos et al., 2000; Hervás et al., 2000). No obstante, no tenemos referencia de que este tratamiento se haya utilizado hasta la fecha para proteger harinas de insectos.

Por lo tanto, este experimento se llevó a cabo con el objetivo de estudiar si el uso de taninos podría reducir la degradación ruminal de la proteína de harinas de insectos sin afectar a su digestibilidad intestinal, y así mejorar su utilización digestiva. Para ello, se evaluó el efecto del tratamiento de distintas harinas de insectos con taninos de roble y quebracho, y se comparó con la torta de soja como alimento de referencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 ovejas de raza merina (57,4 kg PV) provistas de cánula en el rumen. Los animales recibieron una dieta mixta completa (relación forraje:concentrado 60:40; MS = 91,6%; PB = 20,5%; FND = 31,4%), a un plano de 1,1 veces sus necesidades energéticas de mantenimiento (aprox. 900 g/animal y día).

Se estudiaron cuatro harinas de insectos: 1) larvas de gusano de la harina (*Tenebrio molitor*; 50,9% PB); 2) larvas de gusano rey (*Zophobas morio*; 37,8% PB); 3) larvas de escarabajo de la cama (*Alphitobius diaperinus*; 64,7% PB), y 4) adultos de grillo doméstico (*Acheta domestica*; 69,9% PB). Además, como se ha indicado en el primer trabajo de González-Rosales et al. (2019), se utilizó una torta de soja (50,6% PB) como referencia.

Los alimentos (50 g), molidos a 2 mm, se trataron con un 15% de taninos, pulverizando con 30 mL de agua destilada con 7,5 g de extractos comerciales de roble (ROB, >65% taninos) o de quebracho (QUE, ≥69% taninos), comparados con una solución libre de taninos (Control). A continuación, los sustratos se secaron en estufa a 45 °C durante 48 horas.

La degradación ruminal se estudió mediante la técnica de las bolsas de nailon (Ørskov y McDonald, 1979). Para ello, se utilizaron bolsas Ankom (50 µm; R1020, Ankom Technology, EE. UU.) que se mantuvieron en el rumen de los animales durante 16 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, las bolsas se lavaron a mano con agua fría, se congelaron durante 24 horas, se lavaron después en una lavadora con agua fría y finalmente se secaron a 45 °C durante 48 horas, para estimar la desaparición de la MS (DMS). Todos los residuos se molieron a 1 mm, analizándose después el contenido de PB (ISO 5983-2:2009) para estimar su desaparición (DPB). La digestibilidad intestinal de la proteína no degradada en el rumen (DIPNDR) de cada uno de los sustratos se determinó mediante la técnica *in vitro* descrita por Calsamiglia y Stern (1995).

Para cada tipo de alimento, los resultados se analizaron mediante un ANOVA utilizando el procedimiento MIXED del SAS (v9.4; SAS Inst. Inc., EE. UU.), con el tratamiento como efecto fijo y el animal como aleatorio. Las medias se ajustaron para comparaciones múltiples usando la corrección de Bonferroni.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento de la torta de soja con taninos disminuyó la DPB comparado con la torta no tratada (Tabla 1). La reducción media fue del 15% y, aunque no hubo diferencias significativas entre ROB y QUE, el resultado de DPB fue numéricamente menor con el primer tratamiento, lo que contribuiría a explicar que este redujera además la DMS ($P < 0,05$). Esta respuesta era previsible, dado el conocido efecto de los taninos protegiendo la proteína de la degradación ruminal (Frutos et al., 2000; Dentinho et al., 2014). También era esperable que la dosis utilizada de taninos no afectara negativamente a la digestibilidad intestinal de la proteína de este alimento de referencia, aunque se ha mostrado que el uso de dosis más altas o de otros extractos de taninos podrían llegar a reducirla (Frutos et al., 2000; Hervás et al., 2000; Dentinho et al., 2014). El valor de digestibilidad intestinal tendió a ser un 12% mayor en ROB que en QUE, pero sin que hubiera diferencias significativas respecto al control.

Tabla 1. Desaparición de materia seca (DMS; g/g) y de proteína bruta (DPB; g/g) tras 16 h de incubación ruminal y digestibilidad intestinal de la proteína no degradada en el rumen (DIPNDR; g/g) de los alimentos tratados o no con un 15% de taninos hidrolizables (ROB: roble) o condensados (QUE: quebracho).

	Tratamiento			eed ¹	Prob ²
	Control	ROB	QUE		
Torta de soja					
DMS	0,893 ^a	0,790 ^b	0,837 ^{ab}	0,0278	0,017
DPB	0,914 ^a	0,736 ^b	0,812 ^b	0,0318	0,002
DIPNDR	0,680	0,721	0,644	0,0234	0,062
<i>Tenebrio molitor</i>					
DMS	0,654	0,632	0,643	0,0107	0,190
DPB	0,486 ^a	0,390 ^b	0,417 ^b	0,0094	<0,001
DIPNDR	0,782 ^{ab}	0,796 ^a	0,723 ^b	0,0234	0,028
<i>Zophobas morio</i>					
DMS	0,839 ^a	0,786 ^b	0,797 ^b	0,0126	0,005
DPB	0,724 ^a	0,574 ^b	0,596 ^b	0,0161	<0,001
DIPNDR	0,703 ^b	0,780 ^a	0,702 ^b	0,0157	0,001
<i>Alphitobius diaperinus</i>					
DMS	0,789 ^a	0,714 ^b	0,684 ^b	0,0146	<0,001
DPB	0,778 ^a	0,648 ^b	0,620 ^b	0,0176	<0,001
DIPNDR	0,640 ^b	0,780 ^a	0,645 ^b	0,0127	<0,001
<i>Acheta domesticus</i>					
DMS	0,702	0,679	0,680	0,0134	0,201
DPB	0,702 ^a	0,635 ^b	0,632 ^b	0,0145	0,003
DIPNDR	0,728 ^a	0,757 ^a	0,645 ^b	0,0242	0,005

^{ab}Para cada alimento y parámetro, diferentes superíndices indican diferencias significativas.

¹Error estándar de la diferencia. ²Probabilidad.

Los resultados de DPB de las harinas de insectos siguieron el mismo patrón que los de la torta de soja, de forma que ROB y QUE redujeron su valor en todos los casos ($P < 0,05$), con descensos que variaron entre el 10% en el grillo doméstico (*Acheta domesticus*) y el 19% en las larvas de gusano rey (*Zophobas morio*). No se observó una relación evidente entre la magnitud de la respuesta y los valores de PB inicial de cada insecto o de su DPB en el tratamiento control. Como en el caso de la torta de soja, estos resultados podrían explicar también la variación de la DMS en *Z. morio* y *A. diaperinus* (-6 y -11%, respectivamente). Hasta donde sabemos, no hay otros estudios publicados sobre la protección de la proteína de los insectos frente a la degradación ruminal.

De igual forma, ante la falta de datos disponibles en la literatura, el efecto de los taninos sobre la digestibilidad intestinal de la proteína de los insectos solo puede compararse con alimentos de origen vegetal para los cuales hay publicada información. Como se discutió para la torta de soja, los valores de DIPNDR fueron significativamente mayores en el tratamiento ROB que

en QUE para los cuatro insectos ($P < 0,05$) y, sorprendentemente, también que los del control para *Z. morio* y *A. diaperinus*. Aunque trabajos previos habían mostrado reducciones o ausencia de efectos de los taninos sobre la digestibilidad intestinal (Hervás et al., 2000; Dentinho et al., 2014), podría especularse que diferencias entre ROB y QUE en la ruptura de los complejos tanino-proteína durante la incubación *in vitro* contribuyan a explicar nuestros resultados. En todo caso, aunque estos sugieren que el uso de taninos de roble podría resultar más ventajoso que los de quebracho para mejorar la utilización digestiva de la proteína de los insectos, sería imprescindible realizar estudios *in vivo* para confirmar dicho efecto, además de valorar el coste económico de uno y otro tipo de extractos. También sería necesario seguir avanzando en esta línea de investigación para examinar la posibilidad de obtener efectos similares con dosis más bajas, con taninos de menor pureza o de diferente origen, con el objetivo final de reducir los costes en condiciones prácticas. Por último, y dado el contenido relativamente alto de grasa de algunos insectos (González-Rosales et al., 2019), resultaría de gran interés estudiar el efecto potencial de estas estrategias nutricionales sobre el metabolismo lipídico en el rumen, al haberse demostrado un efecto positivo de algunos taninos sobre la acumulación ruminal de ciertos ácidos grasos deseables (e. g., ácidos linoleico y α -linolénico; Toral et al., 2018). En conclusión, el tratamiento de las harinas de insectos con 15% de extractos comerciales de taninos de roble o de quebracho resulta efectivo para proteger su proteína de la degradación ruminal. En lo que se refiere a la digestibilidad intestinal de la proteína no degradada en el rumen, en algunos casos los taninos de roble resultaron más ventajosos que los de quebracho.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Calsamiglia, S. & Stern, M.D. 1995. J. Anim. Sci. 73: 1459-1465.
- Dentinho, M. T. P. et al. 2014. Small Rumin. Res. 119: 57-64.
- Frutos, P. et al. 2000. J. Agric. Sci., Camb. 134: 101-108.
- González-Rosales, G. et al. 2019. XVIII Jornadas de Producción Animal (AIDA)
- Hervás, G. et al. 2000. J. Agric. Sci., Camb. 135: 305-310.
- Jayanegara, A. et al. 2017. J. Indonesian Trop. Anim. Agric. 42: 247-254.
- Makkar, H. P. S. et al. 2014. Anim. Feed Sci. Technol. 197: 1-33
- Ørskov, E. R. & McDonald, I. 1979. J. Agric. Sci., Camb. 92: 499-503.
- Rashmi, K. M. et al. 2018. Indian J. Anim. Sci. 88: 731-735.
- Toral, P. G. et al. 2018. Animal 12: s272-s281.

Agradecimientos: P.G. Toral disfruta de un contrato Ramón y Cajal (RYC-2015-17230) del MINECO, cofinanciado por el Fondo Social Europeo.

TANNIN-TREATED INSECT MEALS: RUMINAL DEGRADATION AND INTESTINAL DIGESTIBILITY IN SHEEP

ABSTRACT: In ruminants, tannins may have beneficial effects on the digestive utilization of some feeds due to a reduction of their protein degradation in the rumen. This trial aimed at examining, for the first time, if these phenolic compounds would also improve the digestive utilization of protein-rich insect meals (from *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus* and *Acheta domesticus*). Four ruminally cannulated sheep were used to examine the *in situ* degradation of these feedstuffs, and soybean meal as a reference, which were treated with 0% (control) or 15% DM of tannin extracts from oak (ROB) or quebracho (QUE) and incubated. Intestinal digestibility of non-degraded protein was estimated *in vitro*. Both tannins were equally effective to protect the protein of insect meals from ruminal degradation, following a similar pattern than that observed in soybean meal. However, OAK might offer advantages over QUE in terms of intestinal protein digestibility. *In vivo* research would be needed to confirm these results.

Keywords: condensed tannins, hydrolysable tannins, *in situ* degradation, protein.

EFFECTO DE DISTINTAS FRACCIONES DE LA SALIVA DE CABRA SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL

Palma-Hidalgo, J.M., Belanche, A., Martín-García, A.I. y Yáñez-Ruiz, D.R.,
Estación Experimental del Zaidín, CSIC. C/ Profesor Albareda 1, 18008, Granada, España;
juanm.palma@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

La saliva, junto con el agua de bebida, representa el principal aporte de líquido en el rumen, llegando a flujos de entrada de entre 4,22 y 9,05 L/día en ovejas (Duric et al., 1994). La composición y el volumen de saliva que entra en el rumen dependen de muchas variables como la dieta, principalmente, la frecuencia de masticación o la temperatura ambiental. Un componente esencial en la saliva del rumiante son los iones (bicarbonatos, fosfatos, etc.), que ejercen un efecto tampón que previene el descenso del pH ruminal fruto de la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) (Apper-Bossard et al., 2010). Además, una amplia gama de proteínas contribuyen a la regulación del ecosistema ruminal, ya sea mediante la mencionada acción tamponadora (albúmina) o ejerciendo un control sobre la microbiota (lisozima, citoquinas, inmunoglobulinas). Mientras que la lisozima previene la proliferación de bacterias, las inmunoglobulinas, secretadas en la saliva en altas concentraciones (Macpherson et al. 2012), modulan la microbiota favoreciendo el crecimiento de unas especies e inhibiendo el de otras (Donaldson et al. 2018). Concretamente, se ha comprobado que la inmunoglobulina A secretora puede promover cambios en la composición y actividad microbiana del rumen, lo cual también podría explicar las diferencias observadas entre distintos individuos (Fouhse et al., 2017). Pese a ello, se desconoce el mecanismo exacto por el que la saliva, a través de su fracción proteica, ejerce tal control.

El objetivo de este trabajo fue evaluar, mediante incubación *in vitro*, el efecto de las distintas fracciones de la saliva de cabra (iones, microorganismos salivales, proteínas de bajo y alto peso molecular) sobre la fermentación ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 cabras de raza Murciano-Granadina como donantes de saliva. La saliva fue muestreada en ayunas durante varios días disponiendo esponjas absorbentes en la boca de los animales. Las esponjas se centrifugaron a 190 g durante 10 minutos para recoger la saliva. A una parte de la saliva no se le realizó ningún procesado (SN). Una fracción fue autoclavada (SA) a 121 °C durante 30 minutos. Otra fracción fue centrifugada de nuevo a 16300 g durante 5 minutos y pasada por filtros de 0,45 µm de tamaño de poro para eliminar microorganismos (SF1). A su vez, parte de esta saliva se volvió a centrifugar en tubos *falcon* con filtro incorporado de 30 kDa (Amicon@Ultra-15 Centrifugal Filter Devices) a 2000g durante 20 minutos, con lo que se obtuvo una saliva libre de proteínas de gran tamaño, como las inmunoglobulinas (SF2). Las muestras de saliva sin procesar (SN), saliva autoclavada (SA) y salivas filtradas (SF1, SF2) de cada animal se fueron almacenando por separado a -80 °C.

Se llevó a cabo una incubación *in vitro* de 24 h de duración en tubos Hungate con un volumen total de 6 ml entre líquido ruminal y saliva, en proporción 1:2. Se empleó líquido ruminal fresco de 3 cabras canuladas en rumen distintas de las donantes de saliva, el cual se filtró con gasa y se incubó con cada tipo de saliva. De esta forma, la incubación siguió un diseño experimental 4x4x3 (4 cabras donantes de saliva x 4 tipos de saliva x 3 líquidos ruminales), a lo que se añadieron 6 tubos control (2 por cada líquido ruminal) con tampón bicarbonato en lugar de saliva. El sustrato de incubación consistió en 30 mg de heno de avena y 30 mg de concentrado, ambos molidos a 1 mm de diámetro. La incubación se mantuvo en anaerobiosis a 39°C. Durante la incubación, se midió la producción de gas a las 2, 4, 7, 10 y 24 h en base a valores de presión. Estas medidas fueron transformadas a volumen con la ley de los gases ideales. Se midió el pH de incubación inicial (0 h) y final (24 h). Al final de la incubación, se tomaron muestras para describir la fermentación ruminal en base a la determinación de la concentración de NH₃-N por espectrofotometría y de AGV por cromatografía de gases. El análisis estadístico consistió en un ANOVA cuyo factor fijo fue el tipo de saliva (SN vs. SA vs. SF1 vs. SF2), considerándose como efectos aleatorios los animales donantes de saliva y de líquido ruminal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La incubación de líquido ruminal con distintas fracciones de saliva generó cambios considerables en la fermentación ruminal (Tabla 1). Pese a que el pH de partida fue similar en todos los tratamientos, los valores de pH al final de la incubación distaron notablemente al emplear una u otra saliva (más bajos con las salivas filtradas que con la SN y SA; $P < 0,01$). Estas diferencias en el pH pueden explicarse, en parte, por la mayor concentración de amonio al incubar con salivas SN y SA en lugar de las salivas SF1 y SF2 (hasta +35% más amonio con SN que con la saliva SF2; $P < 0,001$). Por el contrario, no se observaron diferencias en la concentración de AGV entre las salivas SN, SF2 y SA, siendo significativamente superior SF1 con respecto a las demás (+5%, +7% y +8% en comparación con SF2, SN y SA, respectivamente; $P < 0,001$). Los patrones de fermentación (en cuanto a producción de distintos AGV) del líquido ruminal son dispares al incubarse con unas salivas u otras. Concretamente, encontramos un patrón parecido entre los tratamientos SN y SA, con unas proporciones de ácido acético y propiónico y, por tanto, un ratio acético/propiónico (Ac/Pro) similares entre ellos. En el caso de los tratamientos SF1 y SF2, no se observan diferencias en el acético y el propiónico entre ellos, pero sí una proporción sustancialmente menor de acético y mayor de propiónico con respecto a las salivas SN y SA (de media, -8% acético y +23% propiónico en SF1 y SF2 con respecto a SN y SA; $P < 0,001$ en ambos casos). No se apreciaron diferencias en las proporciones de butírico y valérico pero sí en los ácidos grasos ramificados isobutírico e isovalérico (concentración relativa significativamente mayor en SN y SA, y la más baja en SF2; $P < 0,001$). La producción de gas resultó ser más alta en el líquido ruminal incubado con SF1 (+2%, +5% y +7% en comparación con SF2, SA y SN, respectivamente; $P < 0,001$). Los resultados denotan una gran semejanza entre el uso de saliva sin procesar ni filtrar (SN) y saliva autoclavada (SA). Esto, a priori, podría resultar contradictorio ya que entre una y otra solo comparten el componente iónico, mientras que la saliva SN con las dos filtradas compartirían, además, la fracción proteica. Las diferencias en la fermentación ruminal al incubar con saliva con y sin filtrar evidencian la importancia de las proteínas de la saliva en la regulación de la microbiota responsable de esa fermentación. Esta circunstancia es aún más manifiesta si tenemos en cuenta la mayor producción de gas y de AGV en la saliva SF1, lo que sugiere el posible papel que pueden tener las proteínas salivales de tamaño superior a 30 kDa, entre las que se incluyen las inmunoglobulinas, en la modulación de la microbiota ruminal, como se ha descrito previamente (Fouhse et al., 2017; Tsuruta et al., 2012). En la actualidad estamos llevando a cabo más ensayos *in vitro* con tiempos de exposición más prolongados para profundizar en el papel modulador de la saliva.

Tabla 1. Patrón de fermentación ruminal en incubación *in vitro* con saliva sin filtrar (SN), saliva filtrada por un tamaño de poro de 0,45 μm (SF1), saliva filtrada por un tamaño de poro de 30 kD (SF2) y saliva autoclavada (SA).

	SN	SF1	SF2	SA	EEM	Valor P
pH inicial	7,03	7,02	7,02	6,99	0,014	ns
pH final	6,51a	6,39b	6,41b	6,48a	0,021	**
Producción Gas, mL	11,54c	12,33a	12,08b	11,70bc	0,139	***
NH ₃ -N, mg/dL	35,38a	30,68b	26,23c	31,78ab	1,388	***
AGV, mM	103,67b	111,17a	105,61b	103,38b	1,095	***
Acético, %	61,30a	56,18b	57,18b	61,43a	0,439	***
Propiónico, %	21,44b	26,30a	25,66a	20,92b	0,434	***
Isobutírico, %	1,31a	1,16b	1,04c	1,25a	0,020	***
Butírico, %	12,06	12,71	12,83	12,54	0,232	ns
Isovalérico, %	2,19a	1,94b	1,70c	2,15a	0,050	***
Valérico, %	1,70	1,71	1,59	1,71	0,044	ns
Ac/Pro	2,98a	2,25b	2,35b	3,06a	0,052	***

EEM: Error estándar de la media; *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$; t: tendencia; ns no significativo. Dentro de una misma línea, letras distintas denotan diferencias significativas ($P < 0,05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Apper-Bossard, E. 2010. Effects of dietary cation-anion difference on ruminal metabolism and blood acid-base regulation in dairy cows receiving 2 contrasting levels of concentrate in diets. *J. Dairy Sci.* 93: 4196-4210
- Donaldson, G.P. et al. 2018. Gut microbiota utilize immunoglobulin A for mucosal colonization. *Science.* 18;360(6390):795-800
- Duric, M. et al. 1994. Indirect measurement of saliva secretion in sheep fed diets of different structures and the effect of such diets on ruminal fluid kinetics and fermentation pattern. *Exp. Phy.* 79: 823-830.
- Fohse, J.M. et al. 2017. Host immune selection of rumen bacteria through salivary secretory IgA. *Frontiers in Microb.* 8:848.
- Macpherson, A.J. et al. 2012. The habitat, double life, citizenship, and forgetfulness of IgA. *Immuno. Rev.* 245(1):132-46
- Tsuruta, T. et al. 2012. Commensal bacteria coated by secretory immunoglobulin A and immunoglobulin G in the gastrointestinal tract of pigs and calves. *Ani. Sci. J.* 83(12):799-804.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido parcialmente financiado por MINECO AGL2017-86938-R1 y FPU16/01981.

EFFECT OF THE DIFFERENT FRACTIONS OF GOAT SALIVA ON RUMINAL FERMENTATION

ABSTRACT: Saliva plays a major role in buffering the rumen pH but its effect on the rumen microbial fermentation is unknown. The aim of this work was to assess *in vitro* the importance of the different fractions of saliva on rumen fermentation. Saliva was collected from 4 adult goats using bucal swabs. Saliva was divided into 4 fractions: i) unprocessed (SN), ii) autoclaved (SA), iii) filtrated through 0,45µm pore size (SF1) to eliminate microbiota and iv) further filtrated through 30 kDa filters to remove big proteins like immunoglobulins (SF2). All salivas from each animal were stored separately at -80°C. Salivas were then incubated 24h with ruminal fluid from 3 different goats. Gas pressure was measured throughout the incubation. pH was measured at 0h and 24h. Samples were taken at 24h to describe rumen fermentation. Final pH, NH₃-N and acetic/propionic ratio were higher with SN and SA than with filtrated salivas. However, filtrated fractions promoted a higher VFA and gas production compared with SN and SA, whereas SF1 had the greatest values. These results indicate that saliva, and in particular the protein fraction, plays a role on the modulation of the rumen microbial fermentation. These observations must be confirmed *in vivo* but open the possibility of a modulation of the rumen microbiome by the host.

Keywords: saliva, immunoglobulins, microbiota, ruminal fermentation

EFFECTO DE DISTINTOS TIPOS DE ADITIVOS SOBRE LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE CEBADA, EN CULTIVOS SEMICONTÍNUOS

Amanzougarene, Z., Yuste, S., de la Fuente, G¹., Vega, A. y Fondevila, M. Dept. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. ¹ Dept. de Ciència Animal, Universitat de Lleida, Av. A. Rovira Roura 191, 25198 Lleida; mfonde@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La transición de una dieta a base de leche y forraje a otra con altos niveles de concentrado es un momento crítico para la salud de los terneros en los sistemas de producción intensiva. La alta ingestión de concentrados formulados con elevadas proporciones de cereales y por tanto almidón rápidamente fermentable supone un alto riesgo de aparición de procesos de acidosis, debido a la alta producción de ácido láctico y ácidos grasos volátiles a partir de la fermentación microbiana, que promueve un descenso del pH hasta valores inferiores a 5,0 (Russell y Hino, 1985). Además, la capacidad tampón del líquido ruminal en esas condiciones es limitada, por la escasa secreción de saliva. Por tanto, la reducción de la magnitud o el ritmo de fermentación microbiana permitiría evitar el descenso de pH ruminal, contribuyendo a la prevención de la acidosis en terneros en transición. Con este fin, diversas sustancias, como taninos, ácidos grasos o aceites esenciales, pueden ser empleadas como aditivos en la alimentación de terneros para modular las condiciones ambientales y favorecer la adaptación del ambiente ruminal, siendo su efecto dependiente de sus características específicas. Para evitar un excesivo descenso del pH ruminal en dietas ricas en concentrado para el cebo de terneros, en este trabajo se estudia la posibilidad de reducir o ralentizar el ritmo de la fermentación microbiana con la inclusión de aditivos de diferentes características, en un sistema *in vitro* de cultivo semicontinuo.

MATERIAL Y MÉTODOS

La cinética de fermentación ruminal se determinó *in vitro* mediante un sistema de cultivo semicontinuo (Fondevila y Pérez-Espés, 2008). Se emplearon matraces Erlenmeyer de vidrio de 100 mL, en los que se incluyeron 800 mg de cebada, sin suplementar o con 20 mg/g de taninos de uva (GCT; Agrovin SA, extracto de hollejos y semillas), una mezcla de ácidos grasos de cadena media (de 6 a 12 átomos de carbono) incluidos a 4 mg/g (MFA; NUTRIKA Managing Animal Nutrition), 0,03 mL/g de ácido linoleico (LIN), y los aceites esenciales, eugenol (EUG, 0,12 mL/g) y cinamaldehído (CIN, 0,06 mL/g), provistos por NOREL Animal Nutrition. Los aditivos y sus dosis de inclusión fueron escogidos a partir de estudios previos. Se realizaron tres tandas de incubación de 24 horas, con matraces incluyendo 80 mL de medio de incubación, preparado con 20% de inóculo a partir de líquido de rumen procedente de tres terneros de cebo canulados. Se estableció una tasa de renovación de fase líquida de 0,08/h, mediante la sustitución en anaerobiosis de medio de incubación por solución fresca de incubación, sin inóculo, cada dos horas de 0 a 12 h, y cada 4 horas de 12 a 24 h. El tampón de la solución de incubación se ajustó para permitir el descenso del pH de incubación de 0 a 6 h, y su recuperación gradual hasta 6,5 de 8 a 24 h. La producción de gas como índice de fermentación se determinó inmediatamente antes del intercambio de volúmenes. El pH se midió a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, y 24 h. La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) se determinó a las 8 y 24 h. Además, a las 8 h se obtuvieron muestras de fase líquida para estudios de biodiversidad microbiana, y a las 24 se estimó la desaparición de materia seca del sustrato sólido. La biodiversidad microbiana se determinó mediante Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (TRFLP), cuyos resultados se analizaron a partir de una matriz generada para cada lista de datos obtenidos, y los resultados se presentan en forma de abundancia relativa. Las tres matrices resultantes de cada tanda y enzima fueron concatenadas y analizadas con el programa estadístico R. Se utilizaron los paquetes FactoMineR, Factoextra, MixOmics,

Vegan, MASS y Ggplot2 para llevar a cabo el análisis jerárquico de componentes principales para construir un dendrograma de análisis de clúster. Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA, considerando la tanda de incubación como bloque y la botella como unidad experimental. Las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Valores de pH y producción de gas a las 4, 8, 12 y 24 h de incubación se presentan en la Tabla 1, como referencia del patrón de fermentación. Se consiguió un patrón de evolución de pH que simula las fluctuaciones diarias del pH ruminal *in vivo*; así, desde un valor inicial de $6,43 \pm 0,16$, el pH del medio mantuvo valores por debajo de 6,0 hasta las 8 h, subiendo gradualmente hasta 6,4 a las 24 h. No se observaron diferencias entre los distintos aditivos en a las 4 h ($P > 0,05$), pero a partir de las 8 h el pH fue mayor con GCT, mientras con CIN fue inferior al control a las 8 y 12 h ($P < 0,05$). En cuanto a la producción de gas, los aceites esenciales EUG y CIN promovieron volúmenes menores que CTR ($P < 0,05$) a lo largo del periodo de incubación, mientras que con GCT fueron menores a partir de las 8 h, y con LIN fue inferior al inicio de la incubación (4 h), pero no a las 8, 12 y 24 h. Por su parte, la producción de gas con MFA fue menor que con CTL a las 4 y 24 h. De forma similar, la desaparición de materia seca (dMS; Tabla 1) muestra que la inclusión de los diferentes aditivos redujo la dMS de la cebada ($P < 0,001$), con menores valores con GCT ($P < 0,05$). Estos resultados muestran las diferencias de respuesta en función del tipo de aditivo, promoviendo un pH más favorable con los taninos, y una menor magnitud de fermentación con los aceites esenciales.

Tabla 1. Valores de pH y volumen de gas producido (ml/g MO) a distintos tiempos de incubación *in vitro* de cebada sola (CTL) o suplementada con taninos (GCT), ácidos grasos de cadena media (MFA), ácido linoleico (LIN), eugenol (EUG) o cinamaldehído (CIN), y la desaparición de materia seca (dMS) después de 24 h.

	pH				Producción de gas (ml/g MO)				dMS
	4 h	8 h	12 h	24 h	4 h	8 h	12 h	24 h	
CTL	5.93	5.89 ^{bc}	6.19 ^b	6.37 ^b	45.1 ^a	77.0 ^a	108.0 ^a	172.0 ^a	0.404 ^a
GCT	6.01	6.07 ^a	6.31 ^a	6.46 ^a	41.2 ^{ab}	68.7 ^{bc}	95.3 ^b	144.5 ^c	0.299 ^c
MFA	5.94	5.95 ^{abc}	6.19 ^b	6.40 ^b	38.7 ^{bc}	69.9 ^{abc}	98.8 ^{ab}	155.7 ^{bc}	0.355 ^b
LIN	5.95	5.99 ^{ab}	6.25 ^{ab}	6.42 ^{ab}	40.1 ^b	71.0 ^{ab}	100.5 ^{ab}	160.7 ^{ab}	0.352 ^b
EUG	5.89	5.86 ^{bc}	6.18 ^b	6.41 ^{ab}	34.7 ^c	62.5 ^c	90.2 ^b	155.5 ^{bc}	0.350 ^b
CIN	6.01	5.81 ^c	6.04 ^c	6.37 ^b	24.8 ^d	48.0 ^d	75.4 ^c	149.5 ^{bc}	0.356 ^b
EEM	0.036	0.35	0.03	0.013	1.01	1.84	2.84	3.75	0.01

EEM: error estándar de medias. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas.

La concentración total de AGV (Tabla 2) fue mayor a las 8 que a las 24 h ($P < 0,05$), debido al efecto dilución del sistema de incubación. La proporción molar de butirato aumentó en el tiempo, a expensas de las de acético y propionato ($P < 0,05$). No se detectó un efecto de los distintos aditivos respecto al CTL en la concentración de AGV, aunque con MFA fue mayor que con EUG y CIN. No se observaron diferencias ($P > 0,05$) entre tratamientos en las proporciones de acetato y butirato, pero las proporciones del propionato fueron menores con la inclusión de EUG y CIN respecto a CTL ($P < 0,05$). De forma similar a lo observado en parámetros anteriores, los aceites esenciales (EUG y CIN) fueron los que más afectaron a la biodiversidad bacteriana a las 8 h de incubación, mientras con los otros aditivos se agruparon junto al control (Figura 1). En este sentido, Cardozo et al. (2006) concluyeron que estos dos aceites esenciales modifican el patrón de fermentación microbiana, especialmente el perfil de AGV, aunque en nuestro caso su efecto sobre la fermentación fue más acusado de lo esperado, llegando en el caso de CIN incluso a bajar el pH en relación a la cebada no suplementada. La inclusión de ácidos grasos de cadena media (MFA) y poliinsaturados (LIN) tuvieron un efecto poco apreciable, aunque teóricamente deprimen la actividad

microbiana, en especial los insaturados (Jenkins 1994). Por su parte, la inclusión de taninos de uva redujo la fermentación de la cebada, pero no modificó el perfil de AGV, y promovió un pH mayor que los restantes tratamientos.

Tabla 2. Concentración total y proporciones molares de ácidos grasos volátiles (AGV) a las 8 y 24 h de incubación de cebada sola (CTL) o suplementada con taninos (GCT), ácidos grasos de cadena media (MFA), ácido linoleico (LIN), eugenol (EUG) o cinamaldehído (CIN)

	AGV	Acetato	Propionato	Butirato
Tiempo				
8	24,1 ^a	0,465 ^a	0,182 ^a	0,117 ^b
24	16,7 ^b	0,391 ^b	0,145 ^b	0,183 ^a
EEM	0,508	0,0109	0,0051	0,0075
Sustrato				
CTR	21,3 ^{abc}	0,418	0,177 ^{ab}	0,143
GCT	21,2 ^{abc}	0,434	0,169 ^{ab}	0,141
MFA	22,1 ^a	0,426	0,180 ^{ab}	0,134
LIN	21,8 ^{ab}	0,415	0,187 ^a	0,138
EUG	18,1 ^{bc}	0,468	0,119 ^c	0,164
CIN	17,7 ^c	0,408	0,148 ^{bc}	0,178
EEM	0,879	0,0188	0,0088	0,0129
Probab.				
Tiempo	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Sustrato	0,0041	NS	<0,001	NS
T*Sust.	NS	NS	NS	<0,05

EEM: error estándar de medias. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas. NS: $P > 0,05$.

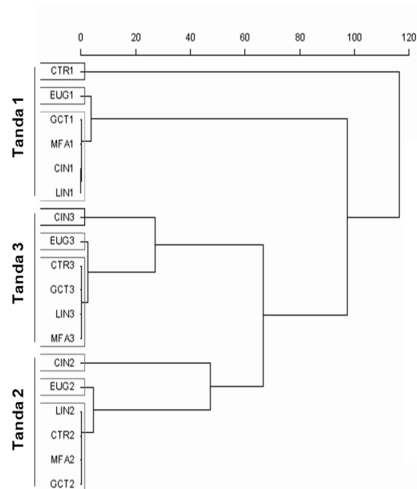


Figura 1. Dendrograma de diversidad bacteriana a las 8 h de incubación con cebada sola (CTL) o suplementada con taninos (GCT), ácidos grasos de cadena media (MFA), ácido linoleico (LIN), eugenol (EUG) o cinamaldehído (CIN). Escala de distancias euclidiana

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cardozo, PW. et al. 2006. J. Anim. Sci. 84, 2801-2808
- Fondevila, M. & Pérez-Espés, B. 2008. Anim. Feed Sci. Technol. 144, 196-211
- Jenkins, TC. 1994. J. Nutr. 124, 1372-1376
- Russell, JB. & Hino T. 1985. J Dairy Sci 68,1712-1721.

Agradecimientos: Trabajo financiado con el Proyecto AGL 2013-46820 (MINECO).

EFFECT OF ADDITIVES FROM DIFFERENT NATURE ON BARLEY FERMENTATION IN *IN VITRO* SEMICONTINUOUS SYSTEM

ABSTRACT: Five additives (grape condensed tannins; GCT, mixture of mid-chain fatty acids; MFA, linoleic acid; LIN, eugenol; EUG, cinnamaldehyde; CIN) were studied to evaluate their effect on *in vitro* barley fermentation in intensive feeding beef diets, using a semicontinuous system and rumen inoculum from beef calves. The pH from 8 h onwards was highest ($P < 0.05$) with GCT, recording lower values with CIN at 8 and 12 h than CTR. The volume of gas produced with CIN was lowest ($P < 0.05$) from 4 h onwards. Between treatments, EUG and CIN recorded the lowest concentration of total volatile fatty acids and propionic proportion. Results were supported by those of bacterial diversity. Essential oils as additives, especially cinnamaldehyde, were those that reduced more ($P < 0.05$) barley fermentation, and negatively affected environmental conditions. In contrast, additives such as grape condensed tannins and fatty acids may reduce barley acidification potential.

Keywords: additives, pH, *in vitro* barley fermentation, intensive beef diets.

PATRÓN DE FERMENTACIÓN DE LA FRACCIÓN NEUTRO-DETERGENTE EXTRAÍDA DE DISTINTOS INGREDIENTES DE USO POTENCIAL EN DIETAS PARA TERNEROS DE CEBO

Ortolani, I.R., Amanzougarene, Z. y Fondevila, M.
Depto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza; mfonde@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Los actuales sistemas de alimentación del ganado vacuno de carne consisten en dietas en base a pienso como fuente energético-proteico y paja de cereales como fuente fibrosa, administrados separadamente y *ad libitum*, alcanzando una proporción aproximada pienso:paja de 90:10, según el periodo de engorde del animal. Aunque de hecho se considere que su contribución nutritiva es prácticamente nula, la paja ofrecida en forma larga ejerce un papel funcional en el metabolismo ruminal, favoreciendo la motilidad y la rumia, y reduciendo así el riesgo de acidosis. Este efecto se debe a su contribución como fibra efectiva, combinación de proporción y tamaño de la fracción fibrosa de la dieta (Mertens, 1997). Circunstancias como la sequía, competencia con otras actividades o exportaciones, han provocado un aumento en el precio de la paja, que de por sí es un alimento de caro transporte y engoroso de manipulación. Por ello, el uso de paja se ha intentado evitar sustituyéndola por otras fuentes fibrosas incluidas en el pienso. Iraira et al. (2013) observaron que la incorporación de fuentes fibrosas no forrajeras en sustitución de paja de cebada larga puede promover condiciones similares en el ambiente ruminal. Sin embargo, la heterogeneidad en la composición de este tipo de ingredientes hace muy variable el nivel de incorporación en la dieta si se pretende mantener la misma proporción de fibra, y su respuesta puede ser afectada por componentes ajenos a la fracción fibrosa. El objetivo del siguiente experimento es evaluar *in vitro* el patrón de fermentación de la fracción neutro-detergente de ingredientes fibrosos de diferente naturaleza que pueden ser incorporados al pienso en sustitución de la paja.

MATERIAL Y MÉTODOS

El patrón de fermentación de la fracción fibrosa de paja de cebada (PC) se comparó con los de cascarilla de soja (CS), pulpa de remolacha (PR), torta de palmiste (TP), cascarilla de avena (CA) y harina de alfalfa deshidratada (AD), como ingredientes fibrosos de diferentes características. Los alimentos fueron molidos a 1mm, incubados en detergente neutro (10-15 g/L, a 100°C durante 75 min), y el residuo fue lavado tres veces con agua-acetona, filtrado y secado a 45°C (Smith y Waldo, 1969) para ser utilizado como sustrato de fermentación. El inóculo utilizado fue extraído del rumen de cuatro ovejas adultas Rasa Aragonesa (54,5 ± 6,8 kg), canuladas en el rumen, consumiendo diariamente 500 g de forraje (50% heno de alfalfa 50% de paja) y 500 g de concentrado. El contenido ruminal de dos ovejas se extrajo antes de la oferta de alimento, se filtró y se mezcló, incluyéndose en proporción del 20%. Los sustratos (800 mg) se incubaron *in vitro* en 80 mL de solución de incubación siguiendo el procedimiento de Theodorou et al. (1994), sin mezcla micromineral ni resazurina. Se realizaron 4 tandas de incubación de 48 horas, con 4 repeticiones por sustrato, más 4 blancos sin sustrato, empleando dos ovejas diferentes en cada tanda como donantes. Dos de las repeticiones se incubaron por 12 y 24 h para determinar la concentración de metano en la fase gaseosa. En las otras dos repeticiones se determinó la producción de gas a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 36 y 48 h, y la desaparición de la materia orgánica (dMO) a las 48 h. En una de ellas se midió además la concentración de metano en la fase gaseosa a las 36 y 48 h. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante ANOVA, considerando el promedio de 2 botellas del mismo tratamiento en cada tiempo de incubación como la unidad experimental, y la tanda de incubación como bloque. Las medias se compararon por el test de Tukey, y diferencias con $P < 0,05$ fueron consideradas significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH de incubación se mantuvo entre 6,4 y 6,7 a lo largo de todo el periodo de estudio. El patrón de fermentación, expresado como el volumen de gas por unidad de materia orgánica (MO) incubada (Figura 1) muestra que la pared celular de PR y CS fueron los sustratos de mayor producción de gas entre 8 y 36 h, con valores de 310 y 298 mL/g MO a las 48 h. Un

segundo grupo de sustratos, formado por pared celular de TP, PC y AD, rindió volúmenes menores de gas (219, 210 y 188 mL/g MO), aunque TP mostró una evolución similar a CS hasta las 24 h ($P>0,10$), produciendo únicamente un 21% de su volumen total entre 24 y 48 h. Resulta destacable el comportamiento similar de la pared celular de PC y AD. Aunque la producción de gas de la pared celular de CA no fue diferente a la de AD y PC hasta las 12 h ($P>0,10$), a partir de las 24 h fue el sustrato menos fermentable, alcanzando 122 mL/g MO a las 48 h.

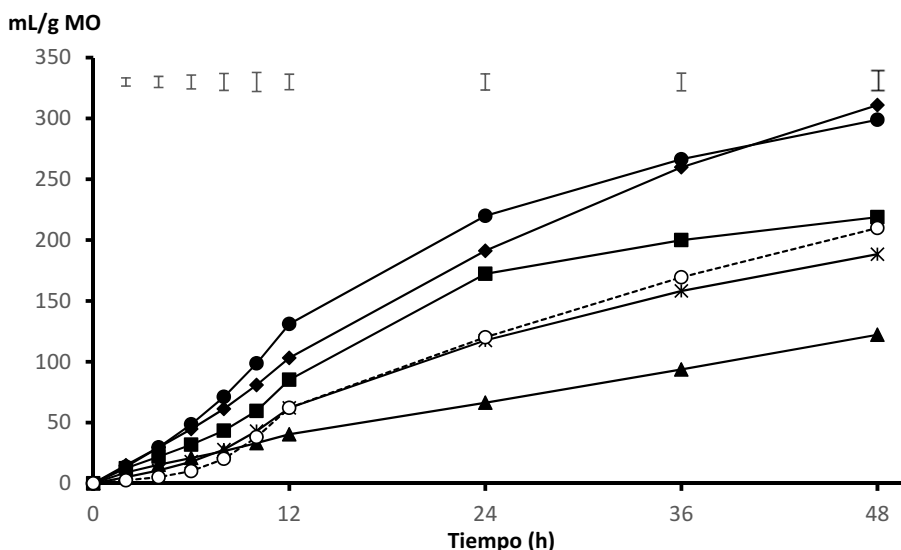


Figura 1: Evolución de la producción de gas de pared celular de pulpa de remolacha (●), cascarilla de soja (◆), torta de palmiste (■), alfalfa deshidratada (*) y cascarilla de avena (▲), respecto a la de paja de cebada (○). Barras superiores indican error estándar de las medias.

La proporción de metano respecto al total de gas producido en las distintas fases de muestreo, como índice de eficiencia de la fermentación, se presenta en la Tabla 1. Las proporciones fueron muy bajas en el primer cuarto de fermentación, estabilizándose posteriormente en valores similares. Solamente se observaron diferencias entre sustratos a las 48 h, cuando la pared celular de CA mostró valores superiores a CS y PR ($P<0,05$).

Tabla 1: Proporción (%) de metano en el gas total producido a partir de la fermentación de pared celular de los ingredientes fibrosos (PR: pulpa de remolacha, CS: cascarilla de soja, TP: torta de palmiste, AD: alfalfa deshidratada, CA: cascarilla de avena, PC: paja de cebada) en distintos intervalos del periodo experimental.

	0-12 h	12-24 h	24-36 h	36-48 h
PR	5,2	16,6	14,8	15,9b
CS	6,0	17,4	15,3	16,0b
TP	5,1	19,2	15,2	16,3ab
AD	7,6	17,8	16,5	16,9ab
CA	4,3	16,6	16,4	17,9a
PC	4,8	15,3	16,9	16,1ab
s.e.m.	1,00	1,37	0,61	0,42

s.e.m.: error estándar de las medias. en cada columna, letras distintas indican diferencias significativas.

La desaparición de MO (dMO) a las 48 h de incubación respondió de forma similar a la producción de gas, y clasificó a los sustratos de forma similar, siendo mayor con PR y CS,

intermedia con PC y TP, e inferior con CA (Tabla 2). De forma similar, el volumen de metano producido por unidad de sustrato es muy dependiente de la producción total de gas. Sin embargo, al expresar el volumen de gas acumulado por unidad de MO desaparecida, como índice de eficiencia de fermentación, la pared celular de CA fue superior a TP y PC, y la producción de metano por unidad de sustrato fermentado fue mayor con CA, y mostró los menores valores con PC, TP y PR ($P < 0,05$).

Tabla 2: Desaparición de materia orgánica (dMO) a las 48 h de incubación de pared celular de distintos ingredientes fibrosos (PR: pulpa de remolacha, CS: cascarilla de soja, TP: torta de palmiste, AD: alfalfa deshidratada, CA: cascarilla de avena, PC: paja de cebada) y volumen de gas acumulado y producción de metano (CH_4) por unidad de sustrato incubado (MOi) o desaparecido (MOd).

	dMO	mL gas/ g MOi	mL CH_4 / g MOi	mL gas/ g MOd	mL CH_4 / g MOd
PR	0,793a	299a	2,18ab	377ab	44,4bc
CS	0,817a	311a	2,47a	381ab	48,8abc
TP	0,662b	219b	1,75bc	347b	42,8bc
AD	0,485c	188b	1,68c	388ab	55,6ab
CA	0,269d	122c	1,01d	459a	59,6a
PC	0,663b	210b	1,68c	318b	40,6c
s.e.m.	0,0137	7,3	0,108	22,5	2,92

s.e.m.: error estándar de las medias. en cada columna, letras distintas indican diferencias significativas.

El patrón fermentativo de la pared celular de los sustratos fibrosos presenta diferencias independientes de su proporción de FND y de otros nutrientes del alimento original. La pared celular de la pulpa de remolacha y la cascarilla de soja se fermentan en gran medida y a un alto ritmo, y de forma muy eficiente debido a su alto volumen de gas y bajo de metano cuando se expresa por unidad de sustrato desaparecido. En contraste, la pared celular de TP reduce su ritmo de fermentación a partir de las 24 h, pero en su degradación rinde un bajo nivel de metano, al igual que la de paja. La fracción fibrosa de cascarilla de avena se fermenta muy poco, pero produce gran proporción de metano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J. (1994). Anim. Feed Sci. Technol. 48: 185-197
- Smith, L.W. & Waldo, D.R. (1969). J. Dairy Sci. 52: 2051-2053
- Iraira, S.P., Ruiz de la Torre, J.L., Rodriguez-Prado, M., Calsamiglia, S., Manteca, X. & Ferret, A. (2013). J. Animal Sci. 91: 3827-3835
- Mertens, D.R. (1997). J. Dairy Sci. 80: 1463-1481.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por INZAR, con la participación del Departamento de Industria e Innovación del Gobierno de Aragón y el Fondo Social Europeo.

FERMENTATION PATTERN OF THE NEUTRAL DETERGENT FIBRE FRACTION FROM DIFFERENT INGREDIENTS OF POTENTIAL USE IN DIETS FOR BEEF CATTLE

ABSTRACT Fermentation of the fibrous fraction of potential alternatives to the use of straw in diets of intensive fattening calves was evaluated *in vitro*. Extracted neutral detergent fibre from soybean hulls, palm kernel cake, beet pulp, alfalfa meal, oat hulls and barley straw was tested. Sugarbeet pulp and soybean hulls were fermented at a higher extent, and oat hulls at the lowest. The volume of methane per unit of disappeared organic matter in oat hulls indicates a low fermentation efficiency, compared with barley straw and sugarbeet pulp. Fibrous fractions of substrates behaved differently in their fermentation, regardless of the fibre proportion or composition in other nutrients in the original substrates.

Keywords: fermentation, methane, fibrous fraction, beef cattle

USO DEL DAPA COMO ÍNDICE CORRECTOR DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN EL RESIDUO DE INCUBACIÓN EN DIFERENTES SUBPRODUCTOS PROTEICOS Y AMBIENTES RUMINALES

Seradj, A.R., De la Fuente, G., Villalba, D., Tor, M., García, C., Armengol, R., Costa, S. y Balcells, J.

Departament de Ciència Animal. UdL– Agrotecnio Center; gfuente@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El establecimiento de la cinética de degradación permite evaluar la cantidad de proteína de origen dietético que alcanza el duodeno y con ello racionar a los animales con una mayor precisión. Convencionalmente la degradabilidad efectiva (DE) de los alimentos se determina mediante la utilización de animales canulados en el rumen y bolsas de nylon® donde se simula el proceso de degradación ruminal del alimento y es por ello que el ambiente ruminal juega un papel crucial en dicho proceso (Nagadi et al., 2000). El uso de raciones con elevadas proporciones de cereales es una práctica común en el cebo de terneros en el área mediterránea y aunque afecta negativamente al número de bacterias celulolíticas y protozoos ruminales (Newbold et al., 2015), su influencia específica sobre la DE de la proteína no ha sido fehacientemente demostrada. La mayoría de la información existente en cuanto a DE de la proteína está basada en animales alimentados con dietas más forrajeras (Vanzant et al., 1998); por tanto, actualizar esos valores para dietas concentradas es esencial para determinar y poder optimizar el aporte de proteína no degradable que llega al duodeno. El ácido diaminopimélico (DAPA) es un aminoácido que se localiza en los polipéptidos de la pared celular de las bacterias y por tanto es un marcador bacteriano (Ling y Buttery, 1978). Fue el marcador microbiano interno de elección en los años 80-90 pero dadas sus dificultades analíticas fue sustituido por otros marcadores, como las purinas o el ¹⁵N (Perez et al., 1997).

El presente trabajo pretende estudiar el efecto del ambiente ruminal sobre la DE de varios suplementos proteicos; para ello, se utiliza el DAPA como marcador microbiano, analizado mediante una técnica de monitorización de reacciones múltiples (MRM) implementada sobre un sistema UPLC-TQS.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cuatro terneros macho, de raza Holstein de 6 meses de edad y 300 kg de peso vivo con cánulas ruminales recibieron dos raciones experimentales; una ración compuesta de pienso y paja *ad libitum* (PP, aproximadamente 7% de consumo de paja de cereal) y una ración completa mezclada (RCM) tipo “unifeed” diseñada para un aporte equilibrado de forraje y concentrado (Relación F:C 50:50). La transición entre dietas llevó un periodo de adaptación de 14 días. Un total de cinco alimentos se incubaron en bolsas de nylon® (trigo, granos de destilería de maíz desecados con solubles (DDGS), soja 44, palmiste y tercerillas) en el rumen de los animales canulados siguiendo el protocolo propuesto por Ørskov y McDonald (1979). Tras la incubación, las bolsas se retiraron del rumen, se lavaron bajo un flujo de agua continuo y se secaron en estufa de 60°C durante 48h, para determinar su contenido en materia seca. Los residuos se analizaron para estimar su contenido en Nitrógeno (N) mediante la técnica Dumas (AOAC 2005), y la relación DAPA:N mediante una modificación del método propuesto por Guo et al. (2013), descrita para la cuantificación de aminoácidos. Este método utiliza la combinación de la cromatografía líquida de alta resolución (UPLC) con la espectrometría de masas (TQS) en material previamente hidrolizado. La contribución bacteriana de la fracción no degradada de los alimentos se obtuvo calculando la relación DAPA:N en la fracción de bacterias asociadas a la fase sólida (BAS); el concentrado de BAS se obtuvo de acuerdo a Martín-Orúe et al. (1998).

La degradabilidad efectiva real del N (DER) se obtuvo al sustraer la parte bacteriana del N remanente en las bolsas de nylon® tras 48h (24h en las bolsas de soja 44); el porcentaje de contaminación bacteriana se estableció como la relación entre el N de origen bacteriano y el N dietético en el residuo de incubación; la relación entre la degradabilidad efectiva aparente (DEA) y la DER se analizó aplicando modelos de regresión lineal. El efecto del ambiente ruminal sobre la DEA, DER y el porcentaje de contaminación bacteriana se analizó mediante ANOVA para un nivel de significación de P<0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las degradabilidad real y aparente del N registrada con la ración RCM fue superior a la registrada con PP, ($P < 0,01$ en todos los casos, ver Tabla 1), aunque las diferencias fueron más acusadas en alimentos que mostraron la menor degradabilidad del N (Soja 44 y Palmiste).

Tabla 1. Efecto del ambiente ruminal sobre la Degradabilidad del N a las 48h ($\dagger 24h$) en diferentes subproductos alimentarios.

	Dietas ^a			P
	PP	RCM	EEM ^b	
Degradabilidad aparente del N				
Trigo	0,937	0,976	0,0019	<0,001
DDGS	0,669	0,897	0,0141	<0,001
Soja 44 \dagger	0,418	0,875	0,0149	<0,001
Palmiste	0,337	0,691	0,0244	<0,001
Tercerillas	0,867	0,922	0,0072	0,003
Degradabilidad real del N (sin contribución de N bacteriano)				
Trigo	0,967	1,006	0,0019	<0,001
DDGS	0,709	0,924	0,0146	<0,001
Soja 44 \dagger	0,460	0,893	0,0132	<0,001
Palmiste	0,523	0,801	0,0178	<0,001
Tercerillas	0,964	1,007	0,0034	<0,001
Porcentaje del N no degradado de origen bacteriano				
Trigo	50,1	124,0	3,75	<0,001
DDGS	12,9	28,6	2,89	0,002
Soja 44 \dagger	7,1	15,5	0,54	<0,001
Palmiste	27,8	37,9	2,06	0,004
Tercerillas	73,9	110,8	4,12	<0,001

^aPP: dieta concentrada a partir de pienso y paja de cereal; RCM: Ración completa mezclada con una relación F:C 50:50. ^berror estándar de la media (n=6).

El porcentaje de N bacteriano presente en la fracción no degradada mostró bastante heterogeneidad entre los alimentos estudiados pero fue siempre superior en dietas RCM que en PP (Tabla 1). La correlación entre DEA y DER mostró pendientes inferiores a 1 ($r^2 > 0,9$) y que difirieron en función de la ración suministrada, así cuando los terneros ingerieron RCM, las pendientes fueron menos pronunciadas. Cuando se compararon los alimentos incubados, los alimentos menos degradables mostraron mayores niveles de contaminación y consiguientemente las diferencias estimadas entre DEA y DER fueron más acusadas (Figura 1). Palmiste y tercerillas, caracterizados por su elevado nivel de fibra mostraron las menores pendientes (0,77 y 0,65, respectivamente), mientras que el resto de alimentos mostró pendientes más elevadas ($> 0,95$), indicando una relación clara entre el grado de contaminación bacteriana y el nivel de fibra en el alimento, condición esencial para la adhesión del BAS. Considerando la diferencia entre pendientes, su intersección (0,909) correspondería al nivel de degradabilidad a partir del cual el ambiente ruminal no influiría sobre su estimación.

La relación DAPA:N observada en la fracción sólida (entre 11 y 17 mg/g N) obtuvo unos valores inferiores a los observados en la literatura (Legay-Carmier y Bauchart, 1989 (24 mg/g N); Demeyer, 1982 (50 mg/g N)); no obstante, teniendo en cuenta la laboriosidad de la técnica original (Czerkawski, 1974), los valores obtenidos en el presente estudio pueden estar más cercanos a los valores reales, al tratarse de un método más directo y por tanto

con menos influencia de errores derivados del manejo en el laboratorio. Como conclusión, el ambiente ruminal afecta en gran medida a la valoración de la degradabilidad *in situ* de la proteína y la estimación del N de origen microbiano mediante la concentración de DAPA es un método útil, económico y preciso para determinar la degradabilidad efectiva real.

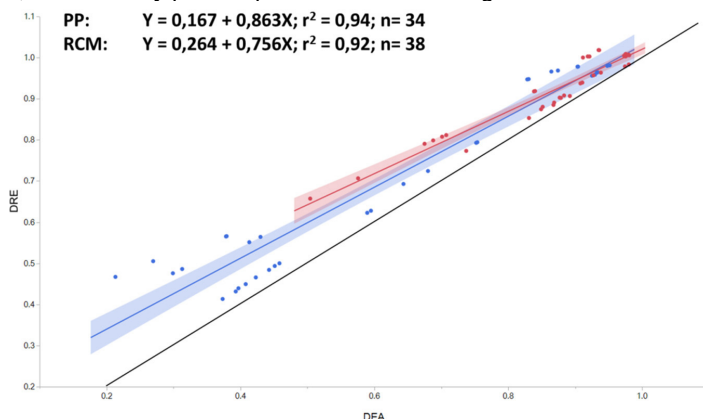


Figura 1. Relación entre Degradabilidad aparente (DEA) y real (DER) del N en animales bajo dieta PP (azul) y bajo dieta RCM (rojo). La línea negra indica la recta de regresión de pendiente 1 e intercepto 0 ($Y = 1X$).

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado por el proyecto GenTORE, perteneciente al programa H2020 (Referencia 727213).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC.2005. Official Methods of Analysis. Dumas method (990.03)
- Demeyer, D., Todorov, N., Van Nevel, C., & Vets, J. 1982. J. An. Phy. An. Nutr. & Feed Sci. 48: 21-32.
- Czerkawski, J.W., 1974. J. Sci. Food Agric. 25: 45-55.
- Guo, S., Duan, J. A., Qian, D., Tang, Y., Qian, Y., Wu, D., & Shang, E. 2013. J. Agr. & Food Chem. 61: 2709-2719.
- Legay-Carmier, F., & Bauchart, D. 1989. Br. J. Nutr. 61: 725-740.
- Ling, J.R. & Buttery, P.J. 1978. Br. J. Nutr. 39: 165-179.
- Martín-Orúe, S. M., Balcells, J., Zakraoui, F., & Castrillo, C. 1998. An. Feed Sci. & Tech. 71: 269-282.
- Nagadi, S., Herrero, M., & Jessop, N. S. 2000. An. Feed Sci. & Tech. 87: 231-239.
- Newbold, C. J., de la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., & McEwan, N. R. 2015. Front. Micr. 6: 1313.
- Ørskov, E. R., & McDonald, I. 1979. J. Agr. Sci. 92: 499-503.
- Pérez, J. F., Balcells, J., Guada, J. A., & Castrillo, C. 1997. J. An. Sci. 65:225-236.
- Vanzant, E. S., Cochran, R. C., & Titgemeyer, E. C. 1998. J. An. Sci. 76: 2717-2729.

USE OF DAPA AS CORRECTION FOR ESTIMATING APPARENT DEGRADABILITY OF PROTEIN BY-PRODUCTS IN DIFFERENT RUMINAL ENVIRONMENTS

ABSTRACT: The aim of this study was to investigate the effect of the rumen environment on the *in situ* degradability of the protein in several feedstuffs, as well as the extent of N bacterial contribution by a novel analysis of the DAPA concentration from the residue. Four male Holstein cannulated were used for this purpose. Nylon bags with the selected feedstuffs were incubated for 48 h under two different rumen environments: PP, where calves were fed a high concentrate (>90%) diet with cereal straw, and RCM, with a diet based on a total mixed ration (ratio F:C 50:50). In all cases, *in situ* degradability was higher in RCM than in PP, showing that the right election of the rumen environment is essential for the proper evaluation of feedstuffs. Relation between apparent and real effective degradability in both environments indicated that feedstuffs with lower degradability presented a higher proportion of bacterial contamination, fact that was more pronounced in RCM environments.

Keywords: DAPA; *in situ* degradability; protein; rumen.

EFFECTO DE LAS ENZIMAS EXÓGENAS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MATERIA SECA DE SUBPRODUCTOS FIBROSOS EN PORCINO: RESULTADOS PRELIMINARES

Ferrer, P. y Cerisuelo, A.

Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Castellón. Email: cerisuelo_alb@gva.es

INTRODUCCIÓN

El interés en el uso de subproductos fibrosos en alimentación porcina es cada vez mayor ya que ofrece ventajas a nivel económico, medioambiental y social. En este sentido, el uso de estos subproductos puede contribuir al abaratamiento del coste del pienso, influir en el volumen de excretas y emisiones de gases y reducir la competencia de la alimentación animal con la alimentación humana (Makkar, 2016; Ferrer *et al.*, 2018). Sin embargo, su composición química y valores de nutrientes digestibles puede ser muy variable y, a menudo, poco conocidos. Para poder utilizar un ingrediente de estas características con garantías en piensos es necesario disponer de una valoración nutricional correcta. Los ensayos de valor nutricional *in vivo* son, a menudo, caros y costosos por lo que poder desarrollar metodologías *in vitro* que nos permitan estimar de manera rápida y fiable el valor nutricional de estas materias primas puede resultar interesante. Por otro lado, la elevada y variada (a menudo compleja) cantidad de fibra que poseen estos ingredientes suele reducir su digestibilidad, en especial en animales monogástricos, como el cerdo. Estudios recientes demuestran que, el uso de enzimas exógenas puede mejorar el valor nutricional de materias primas fibrosas, como los subproductos agroindustriales fibrosos (Woyengo *et al.*, 2016). Sin embargo, esta mejora dependerá de las enzimas que se usen (carbohidrasas) y del tipo de sustrato (fibra). El objetivo de este estudio es adaptar la técnica de digestión *in vitro* desarrollada por Boissen y Fernández (1997), para testar el efecto de las enzimas exógenas en la digestibilidad de la materia seca (MS) de subproductos fibrosos. Concretamente en este trabajo se muestran resultados preliminares de la puesta a punto de la técnica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ensayaron un total de 5 materias primas (harina de camelina, torta de camelina, pulpa cítrica deshidratada, pulpa de aceituna parcialmente desengrasada y maíz) siguiendo la metodología descrita por Boisen y Fernández (1997), aplicando la tecnología de extracción por bolsas filtrantes Ankom mediante un equipo Daisy II incubator (Ankom Technology Corp., Macedon, NY, EE. UU.). Previamente al análisis de digestión *in vitro*, se analizó la composición de las materias primas (materia seca-MS, proteína, grasa y fibras). Posteriormente, cada una de las materias primas se sometió a tres tratamientos enzimáticos utilizando un complejo enzimático, Axta™ XB 201 TPT (endo-1,4-beta-xilanasas 12200 U/g y endo-1,3(4)-beta-glucanasa 1520 U/g) de DuPont Industrial Biosciences: T1 (sin adición de enzima), T2 (adición de 0,10 kg enzima/tm materia prima) y T3 (adición de 0,20 kg enzima/tm materia prima). Se pesaron 0,5 g de muestra por bolsa, previamente molida a un tamaño de partícula de 1 mm y 6 bolsas/materia prima y tratamiento enzimático. La adición de la enzima se realizó en las jarras incubadoras del equipo Daisy II junto con el tampón fosfato y 1 ml/bolsa de la disolución de pepsina fresca (25 mg de pepsina de porcino, 0,7 FIP-Unidades/mg de proteína/ml de HCl 0,2 M). Las muestras se incubaron a 40°C durante 1,5 h simulando la actividad del estómago. Tras esta primera incubación, se agregaron 10 ml/bolsa de disolución de pancreatina fresca [100 mg de pancreatina (pancreatina de porcino, grado VI)/ml tampón de fosfato pH 6,8] y se realizó una segunda incubación a 40°C durante 3,5 h, simulando su paso por el intestino delgado. Después de la segunda incubación, el pH se ajustó a 4,8 mediante la adición de ácido acético y se añadió 0,5 ml/bolsa de Viscozyme (Viscozyme 120 L, 120 FBG/G, Novo-Nordisk). Posteriormente se realizó una tercera incubación a 40°C durante 16 h, simulando su paso por el intestino grueso. Tras cada incubación se retiraron 2 bolsas/ingrediente que se sometieron a diferentes lavados con acetona y se secaron a 103°C durante 24 h. Tras el desecado, las bolsas con el residuo no digerido se pesaron para calcular el porcentaje de digestibilidad *in vitro* (DIV) de cada ingrediente en cada incubación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados del análisis de las materias primas realizado. Como se puede observar, los subproductos de camelina sativa se caracterizan por su elevado contenido en proteína bruta (PB) y fibra neutro detergente, con valores de energía bruta (EB) entre 4.600 y 5.000 kcal/kg (en materia fresca) para la harina y la torta de camelina, respectivamente. El valor energético es superior en la torta debido al mayor contenido en grasa de este subproducto respecto a la harina. En cuanto a las pulpas analizadas, la pulpa de aceituna posee un mayor contenido en grasa y fibra que la pulpa de naranja, con valores de EB similares a la torta de camelina en el caso de la pulpa de aceituna y en torno a las 3.700 kcal/kg en el caso de la pulpa cítrica. Para la harina de maíz se han utilizado los valores publicados por FEDNA (2018). El contenido en lignina ácido detergente también es muy variable entre materias primas dependiendo del tipo de fibra que posea, desde muy fermentable (pulpa cítrica) hasta muy insoluble (pulpa de aceituna).

Tabla 1. Composición analizada (% en materia fresca) de las materias primas utilizadas en el sistema de digestión *in vitro*.

Ingrediente	Harina de camelina	Torta de camelina	Pulpa cítrica deshidratada	Pulpa de aceituna	Harina de maíz ¹
Materia seca	91,2	92,4	87,9	91,4	86,4
Proteína bruta	38,0	34,1	6,4	8,4	7,1
Grasa bruta	1,9	11,0	1,7	11,2	3,6
Fibra neutro detergente	36,2	32,4	17,6	37,9	7,9
Fibra ácido detergente	16,2	17,3	12,1	26,5	3,0
Lignina ácido detergente	4,0	4,5	1,8	15,6	0,9
Energía bruta	4639	5082	3654	5028	4347

¹Valores publicados en las Tablas FEDNA (2018)

Los valores de digestibilidad *in vitro* de la MS (DIV_{MS}) para los diferentes ingredientes y las incubaciones 2 (íleon) y 3 (heces) se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIV) de las materias primas ensayadas con diferentes dosis de enzimas exógenas (T1: sin enzimas, T2: 0,10 kg/tm y T3: 0,20 kg/tm).

Ingrediente	Harina de camelina	Torta de camelina	Pulpa cítrica deshidratada	Pulpa de aceituna	Harina de maíz
Incubación 2 (int. delgado)					
DIV – T1	0,343	0,366	0,575	0,596	0,684
EEM ¹ – T1	0,014	0,021	0,013	0,015	0,070
DIV – T2	0,392	0,384	0,603	0,613	0,686
EEM ¹ – T2	0,039	0,008	0,006	0,001	0,019
DIV – T3	0,414	0,386	0,607	0,623	0,762
EEM ¹ – T3	0,015	0,020	0,024	0,015	0,070
Incubación 3 (int. grueso)					
DIV – T1	0,596	0,651	0,882	0,648	0,855
EEM ¹ – T1	0,022	0,004	0,005	0,010	0,026
DIV – T2	0,629	0,652	0,881	0,637	0,855
EEM ¹ – T2	0,020	0,001	0,016	0,013	0,040
DIV – T3	0,666	0,713	0,893	0,652	0,877
EEM ¹ – T3	0,018	0,007	0,005	0,020	0,003

¹EEM: Error estándar de la media

Según los resultados de la tabla 2, la DIV_{MS} a nivel de heces es superior (0,3 puntos aproximadamente) a la DIV_{MS} en íleon en todas las materias primas. En cuanto a la magnitud de las digestibilidades, destaca la elevada digestibilidad de la harina de maíz, de la que más del 60% de la MS se digiere durante su paso por el intestino delgado. Este ingrediente se añadió al ensayo como ingrediente control ya que no se trata de un

subproducto fibroso. Para el resto de ingredientes (subproductos fibrosos) el coeficiente de digestibilidad a nivel de íleon fue menor, probablemente debido a su elevado contenido en fibra. Cuando se considera la digestibilidad total (heces), la digestibilidad de los subproductos sigue siendo menor a la del maíz con la excepción de la pulpa cítrica, que es superior (0,882 vs 0,855, respectivamente). Este resultado refleja la elevada fermentabilidad de su fibra que, al pasar por el intestino grueso, es utilizada por las enzimas microbianas (Beccaccia *et al.*, 2015). Sin embargo, la fermentabilidad del resto de materias primas parece ser menor debido al tipo de fibra que contienen (más lignificada) y el perfil de la materia prima (ingrediente energético o proteico). En cuanto al efecto de las enzimas exógenas, los resultados preliminares que se muestran en este estudio indican que en todas las materias primas la adición de un complejo multienzimático a base de carbohidrasas tiene potencial de mejora de la DIV_{MS} . En algunos ingredientes, como la harina de camelina o la pulpa cítrica, estas mejoras son notorias ya en la fase del intestino delgado. En la torta de camelina y el maíz, estas mejoras son más notorias en la fase del intestino grueso y, especialmente, a las dosis más altas de inclusión (0,200 kg/tm). Sin embargo, en el caso de la pulpa de aceituna, estas mejoras son muy bajas probablemente debido al hecho de que posee un tipo de fibra muy lignificada (Ferrer *et al.*, 2018) que no responde a las carbohidrasas utilizadas en este estudio.

En conclusión, la digestibilidad de la MS de los subproductos fibrosos testados en este estudio parece depender de factores como el tipo de fibra que poseen, el nivel del tracto digestivo en el que se encuentran y el perfil energético o proteico del ingrediente. Además, las posibilidades de mejora con la adición de enzimas varían según el ingrediente del que se trate. Es necesario realizar más estudios para corroborar de manera estadística estos datos y poder calcular índices de mejora con la adición de enzimas para cada materia prima.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beccaccia, A., Calvet, S., Cerisuelo, A., Ferrer, P., García-Rebollar, P. & de Blas, C. 2015. Effects of nutrition on digestion efficiency and gaseous emissions from slurry in growing-finishing pigs. I. Influence of the inclusion of two levels of orange pulp and carob meal in isofibrous diets. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 208:158-169.
- Ferrer, P., García Rebollar, P., Cerisuelo, A., Ibáñez, M.A., Rodríguez, C.A., Calvet, S. & De Blas, C. 2018. Nutritional value of crude and partially defatted olive cake in finishing pigs and effects on nitrogen balance and gaseous emissions. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 236:131-140.
- Makkar, H.P.S. 2016. Broadening Horizons. *Animal nutrition: beyond the boundaries of feed and feeding.* Feedipedia, 31:1-5.
- Tablas FEDNA. 2018. Ed.: C. de Blas *et al.* Madrid • Woyengo, T.A., Patterson, R., Slominski, B.A., Beltranena, E. & Zijlstra, R.T. 2016. Nutritive value of cold-pressed camelina cake with or without supplementation of multi-enzyme in broiler chickens. *Poult. Sci.* 95 (10):2314-2321.

IN VITRO DRY MATTER DIGESTIBILITY OF FIBROUS BY-PRODUCTS USING EXOGENOUS ENZYMES: PRELIMINARY RESULTS IN PIGS

ABSTRACT: A study was conducted to evaluate the in vitro dry matter digestibility (DIV_{DM}) of 4 fibrous by-products: camelina meal, camelina cake, citrus pulp and olive cake. Maize meal was also evaluated as a control. Additionally, a complex of carbohydases was also used to evaluate its effects at different dosages (0, 0,100 and 0,200 kg/tm) on DIV_{DM} . The DIV_{DM} test was performed using a Daisy II equipment from Ankom in three phases (stomach, ileum and faeces). The DIV_{DM} differs among ingredients probably due to the amount and type of fibre and being the higher for maize meal, as expected. From the ileal to the fecal phases, DIV increased approximately 3 percentual points in all the ingredients. The effects of enzymes were variable among ingredients: in camelina meal and citrus pulp this were more visible during the ileal phase while for camelina cake and maize meal these effects are more relevant during the faeces phase. Olive cake was the one with a lowest response to enzymes. Thus, the DIV_{DM} of a fibrous by-product depends on its composition, position in the intestinal tract and the ingredient profile (energy o protein yielding) and the addition of exogenous enzymes.

Keywords: *in vitro* digestibility, pigs, fibrous by-products, enzymes.

VALOR NUTRICIONAL DE LOS SUBPRODUCTOS DE CAMELINA SATIVA EN PORCINO: RESULTADOS PRELIMINARES

Ferrer¹, P., Piquer², O., Gómez¹, E.A., Gasa³, J., Cano⁴, J.L. y Cerisuelo¹, A.
¹Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Castellón. ²Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad CEU-Cardenal Herrera, Valencia. ³Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona. ⁴Innovater, Teruel. Email: cerisuelo_alb@gva.es

INTRODUCCIÓN

Camelina Sativa es una crucífera cuyo cultivo ha aumentado en los últimos años en España y Europa. El principal destino de su cultivo es la extracción de aceite para usos industriales. La harina y la torta de camelina son los subproductos que se obtienen de esta extracción y su composición está ligada a su método de extracción, utilizando solventes en el caso de la harina, o por prensado en el caso de la torta. Ambas contienen un elevado nivel de proteína bruta (PB; 37 y 34%, respectivamente) y fibra (32,2 y 25,1% de fibra neutro detergente-FND) y difieren en su contenido de grasa, siendo superior en el caso de la torta (13,6 vs 3,0%) (FEDNA, 2018). Su elevado contenido en PB convierte a estos subproductos en potenciales fuentes proteicas alternativas en alimentación animal. Su uso en porcino es todavía bajo y la información acerca de su contenido en nutrientes digestibles escasa. El objetivo de este estudio es determinar la energía digestible (ED) y digestibilidad ileal estandarizada de la PB y aminoácidos (AA) de la harina y de la torta de camelina en cerdos de cebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron dos experimentos; un primer experimento para estimar el contenido en ED de la harina y la torta de camelina (Exp. 1) y un segundo experimento para determinar la digestibilidad de la PB y AA de estos ingredientes (Exp. 2). En el Exp. 1 se utilizaron un total de 30 machos castrados Pietrain x (Landrace x Large White) de 61,8 ± 2,83 kg de peso. Los animales se dividieron en un total de 5 tratamientos a razón de 6 animales/tratamiento. Los piensos experimentales consistieron en un pienso control, con una base de maíz y soja, y 4 piensos más en los que se incluyeron diferentes proporciones de harina y torta de camelina a expensas de la misma cantidad de la mezcla maíz-soja (ingredientes que aportan energía) del pienso control: 100 y 200 g/kg de harina y 100 y 200 g/kg de torta. El estudio tuvo una duración de 16 días, con 10 días de adaptación, y 6 días de recogida total de heces tal y como se describe en Kim *et al.* (2017). Durante todo el periodo los animales fueron alimentados de manera restringida (3 x Energía metabolizable de mantenimiento-EMm). Al final del estudio, el contenido en materia seca (MS) y energía bruta (EB) en los piensos y en las heces fue analizado para calcular el coeficiente de digestibilidad de la energía de cada pienso. El coeficiente de digestibilidad de la harina y la torta de camelina fueron determinados por regresión mediante el procedimiento REG de SAS®, y las diferencias entre la harina y la torta testadas mediante el procedimiento GLM de SAS®. En el Exp. 2, se utilizaron un total de 33 machos castrados Pietrain x (Landrace x Large white) de 82,0 ± 2,57 kg de peso. Los animales se dividieron en 3 tratamientos (11 animales/tratamiento). Las dietas experimentales consistieron en dos piensos en los que se incluyeron un 30 y un 35% de harina y torta de camelina, respectivamente, como única fuente de PB y AA, y un pienso semisintético sin nitrógeno (N) utilizado para calcular las pérdidas basales de N, tal y como se describe en Almeida *et al.* (2013). Los animales fueron alimentados de manera restringida (3 x EMm). Tras 7 días de adaptación a los piensos, los animales fueron sacrificados para obtener el contenido del íleon terminal. El contenido en MS, PB, AA y dióxido de titanio (TiO₂) fue analizado en los piensos y en el contenido ileal para calcular el coeficiente de digestibilidad estandarizada (CDIs) de la PB y AA de la harina y la torta de camelina utilizando el método directo. Las diferencias entre la harina y la torta de camelina en términos de CDIs fueron testadas mediante el procedimiento GLM de SAS®. Además, se analizó la composición química de la harina y torta de camelina utilizadas en ambos estudios, su contenido en factores antinutricionales (FAN) y el perfil de polisacáridos no amiláceos (PNA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La harina y torta de camelina presentaron un contenido en PB de 41,3 y 37,0% y en EE de 2,92 y 11,46% en base seca, respectivamente. Ambas presentaron una elevada proporción de fibra (>30%FND) y PNA (24%) en comparación con otras materias primas. En cuanto al perfil de PNA, el contenido en PNA solubles e insolubles fue de un 6-6,5% y un 17-18%, respectivamente. Con respecto a los FAN analizados, el contenido en glucosinolatos y ácido erúxico de la harina y la torta de camelina fue bajo (1,82 y 5,04 μ moles/g para los glucosinolatos y 3,10 y 3,28% para el ácido erúxico, respectivamente). En la tabla 1 se muestra el coeficiente de digestibilidad aparente de la energía y el contenido en energía bruta y ED de la harina y de la torta de camelina obtenidos en el Exp. 1.

Tabla 1. Digestibilidad aparente de la energía (CDa, %) y contenido en energía bruta y digestible (kcal/kg MS) de la harina y torta de camelina.

	Harina de camelina			Torta de camelina			P-valor
	Media	EEM ¹	R ²	Media	EEM ¹	R ²	
CDa	0,653	0,021	0,86	0,700	0,020	0,79	0,256
Energía bruta	4639	-	-	5019	-	-	-
Energía digestible	3027	-	-	3513	-	-	-

¹EEM: error estándar de la media

Los coeficientes de digestibilidad aparente (CDa) de la harina y la torta de camelina obtenidos se situaron en torno al 65-70% y no presentaron diferencias significativas entre ellos. Estudios recientes indican valores de ED de la torta de camelina en porcino algo superiores (>4000 kcal/kg MS; Kahindi *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2017). Probablemente su mayor contenido en grasa o el método de cálculo de la ED (diferencia vs regresión) podría explicar parte de estas diferencias. El valor energético de la harina de camelina en porcino no ha sido previamente estudiado *in vivo*. Estos valores energéticos se asemejan a los asignados a otras materias primas proteicas como la harina y la torta de colza, soja y girasol (FEDNA, 2018). En la figura 2 se muestran los valores de CDIs para la PB y AA en la harina y torta de camelina obtenidos mediante el método directo.

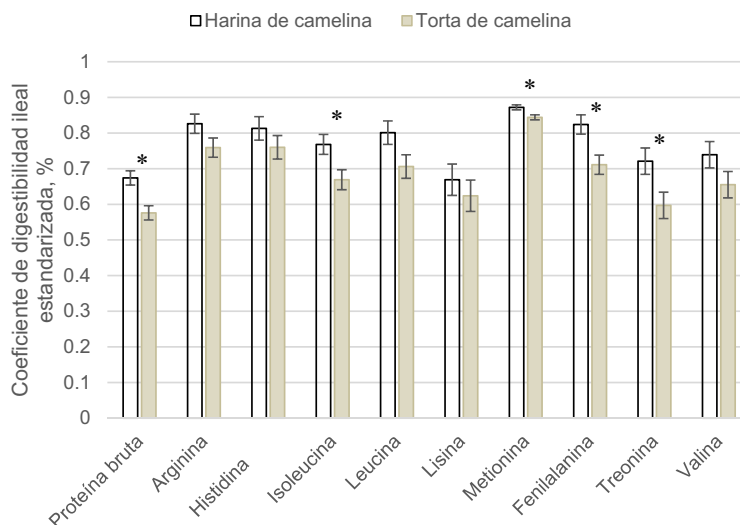


Figura 2. Coeficientes de digestibilidad ileal estandarizada (%) de la proteína bruta y aminoácidos esenciales de la harina y torta de camelina determinados mediante el método directo. * $p < 0.05$

El CDIs de la PB se situó en torno al 60-70%, en línea con los porcentajes obtenidos por Almeida *et al.* (2013) y Kahindi *et al.* (2014) para diferentes muestras de torta de camelina y fue significativamente superior en la harina que en la torta ($p < 0,05$). Con respecto al CDIs de los distintos AA, en general estos fueron similares a los obtenidos por Almeida *et al.* (2013) y Kahindi *et al.* (2014) para diferentes muestras de torta de camelina. Para ambas materias primas, y en línea con los trabajos anteriores, entre los AA esenciales la metionina, arginina y fenilalanina presentaron los valores de digestibilidad más elevados ($> 82\%$). Woyengo *et al.* (2010) observaron valores de digestibilidad de la metionina y lisina, dos de los AA más limitantes en porcino, similares en harina y torta de colza en porcino. Entre materias primas, el CDIs de la isoleucina, metionina, fenilalanina y treonina fue significativamente superior ($p < 0,05$) en la harina en comparación con la torta.

En conclusión, tanto la harina como la torta de camelina son posibles alternativas proteicas en dietas de porcino aportando valores de ED similares a otras fuentes proteicas como la soja, colza o girasol y valores de digestibilidad de lisina y metionina similares a los de la harina de colza.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, F.N., Htoo, J.K., Thomson, J. & Stein, H.H. 2013. Amino acid digestibility in camelina products fed to growing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 93:335-343.
- Kahindi, R.K., Woyengo, T.A., Thacker, P.A. & Nyachoti, C.M. 2014. Energy and amino acid digestibility of camelina cake fed to growing pigs. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 193:93-101
- Kim, J.W., Koo, B. & Nyachoti, C.M. 2017. Digestible, metabolizable, and net energy of camelina cake fed to growing pigs and additivity of energy in mixed diets. *J. Anim. Sci.* 95:4037-4044.
- Tablas FEDNA. 2018. Ed.: C. de Blas *et al.* Madrid.
- Woyengo, T.A., Kiarie, E., Nyachoti, C.M. 2010. Energy and amino acid utilization in expeller-extracted canola meal fed to growing pigs. *J. Anim. Sci.* 88:1433-1441.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado gracias al Proyecto “Estudio agronómico, tipificación nutricional y valorización de los productos y subproductos de camelina sativa para su utilización en nutrición animal (RTC-2015-3265-5)” financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad en el marco del Programa Retos-Colaboración.

NUTRITIONAL VALUE OF *CAMELINA SATIVA* BY-PRODUCTS IN PIGS: PRELIMINARY RESULTS

ABSTRACT: *Camelina sativa* by-products are becoming increasingly more available for animal feeding as alternative protein sources. In the present study, the digestible energy (DE) and the standardized ileal digestibility (CDIs) of crude protein (CP) and amino acids (AA) of camelina meal (CM) and camelina expellers (CE) were evaluated in growing pigs. Two experiments were conducted. In the experiment 1, a total of 36 barrows were fed 6 diets with different CM and CE inclusion levels (100 and 200 g/kg of CM and 100, 200 and 300 g/kg of CE) and the DE of these ingredients was determined using the regression method. In the experiment 2, a total of 33 barrows were used to determine the CDIs of CP and AA of these two ingredients using semisynthetic diets and the direct method. The DE obtained for CM and CE were 3,027 and 3,307 kcal/Kg dry matter, respectively. The CDIs of the CP was 67 and 58% for the CM and CE, respectively. The CDIs of CP and most of AA were higher ($p < 0.05$) for CM than CE. Among the essential AA, methionine (87%), arginine (83%) and phenylalanine (82%) showed the highest CDIs in both ingredients. Thus, CM and CE can be considered alternative protein and AA sources in pig diets.

Keywords: pigs, *Camelina sativa*, energy, amino acids.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE PULPA DE NARANJA SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS, LOS METABOLITOS FECALES Y EL MICROBIOMA INTESTINAL EN CERDOS DE ENGORDE

Ferrer^{1,2}, P., Calvet², S., Roca³, M., Cambra-López², M. y Cerisuelo¹, A.

¹Centro de Investigación y Tecnología Animal. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Pol. La Esperanza 100, 12400 Segorbe, Castellón. ²Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. ³Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Torre A, Avda. Fernando Abril Martorell 106, 46026 València. Email: ferrer_pabrie@gva.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales retos a los que se enfrenta el sector ganadero es la búsqueda de materias primas alternativas que permitan incrementar la eficiencia y sostenibilidad de las explotaciones. El uso de subproductos agroindustriales, como la pulpa de naranja deshidratada, subproducto típicamente mediterráneo procedente de la industria de los zumos, constituye una alternativa con ventajas medioambientales y económicas, respecto a las materias primas nobles empleadas habitualmente en piensos de engorde en monogástricos. Además, su inclusión en la dieta conlleva el aporte de fibra dietética que a su vez constituye el principal sustrato para la fermentación bacteriana, jugando un papel importante en el control de la salud intestinal. Su utilización en piensos de cerdos de cebo sin afectar negativamente a los rendimientos productivos ha sido descrita por varios autores (Amorim *et al.*, 2014; Watanabe *et al.*, 2010). Sin embargo, no existe información detallada sobre el efecto de la incorporación de pulpa de naranja sobre la salud intestinal, especialmente sobre el microbioma intestinal y los metabolitos fecales en cerdos de engorde. En base a ello, el objetivo planteado en el presente trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de pulpa de naranja deshidratada en la dieta sobre los rendimientos productivos, el microbioma intestinal y los metabolitos fecales en cerdos de cebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 80 cerdos Du x (LDxLW) de 25,3 ± 3,02 kg de peso vivo que se distribuyeron en 16 corrales a razón de 5 animales/corral. Los animales se alimentaron con un pienso comercial hasta los 70 kg de vida, momento en que se inició la administración del pienso experimental consistente en 2 tratamientos (8 corrales/tratamiento). Los piensos experimentales fueron formulados para ser isonutritivos, diferenciándose en el nivel de inclusión de pulpa de naranja deshidratada; 0% de inclusión (C) y un 24% de inclusión (PN) respectivamente. Durante todo el periodo experimental (96 días) los animales se pesaron cada 15 días, registrándose al mismo tiempo el consumo de pienso. Así mismo, en los días 46 y 90 del ensayo, coincidiendo con el cambio al pienso experimental y el final del ensayo, respectivamente, se realizó un muestreo de heces de dos animales/corral para el estudio del microbioma intestinal y el metaboloma fecal. Las heces se obtuvieron de forma aséptica y se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido, conservándose a -80°C hasta su posterior análisis. En cuanto al metaboloma fecal, únicamente se analizaron las muestras correspondientes al muestreo final del ensayo mediante un análisis metabolómico no dirigido, empleando un equipo UPLC-QTOF 6550 Agilent. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un análisis multivariante para posteriormente realizar una identificación "tentativa" de metabolitos. Para el estudio del microbioma intestinal se extrajo el ADN empleando un protocolo comercial modificado, evaluando la cantidad y calidad de ADN. A continuación, se generó una librería de secuenciación capturando la región hipervariable del 16s rRNA bacteriano. El microbioma bacteriano se obtuvo mediante la plataforma MySeq (Illumina). Las secuencias en bruto se filtraron en función de la calidad, se fusionaron y se anotaron.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran, a modo de resumen, los resultados obtenidos en el ensayo productivo. Se observan valores muy similares entre tratamientos, con pesos medios finales

en torno a 128 kg. Se detecta una tendencia ($P=0,063$) a la reducción en el consumo medio diario en los cerdos alimentados con pulpa de naranja, con valores que varían entre los 3,33 kg para el C y los 3,18 kg en PN que podrían estar asociados al efecto saciante de la fibra soluble que contiene la pulpa de naranja (Montagne *et al.*, 2003). La ganancia media diaria obtenida durante el periodo de administración del pienso experimental también fue muy similar con ambos piensos con valores en torno a 1,15 kg/animal y día.

Respecto a los resultados del metaboloma fecal, el análisis multivariante muestra que las principales variables discriminantes entre tratamientos son los metabolitos asociados a las sales biliares y metabolitos fenólicos. Gran parte de los flavonoides de la dieta no son absorbidos en el intestino delgado alcanzando el colon, donde ejercen su efecto modulador del microbioma (Dueñas *et al.*, 2015). Los polifenoles identificados en el metaboloma de los cerdos alimentados con la dieta PN se encuentran en la corteza de los cítricos por lo que su presencia se atribuiría directamente a la pulpa de naranja de los piensos.

En la Figura 1 se muestra la abundancia relativa de los principales géneros bacterianos obtenidos en el análisis del microbioma intestinal en función de la dieta. Tras las siete semanas de administración del pienso experimental, se observan diferencias significativas en los géneros bacterianos, destacando la reducción de *Clostridium* y el aumento de *Lactobacillus* con la inclusión de la pulpa de naranja en la dieta. Dichos cambios, en el microbioma fecal, se asocian a un aumento en la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y una reducción en la producción de amoníaco (NH_3) en el intestino de los cerdos, lo que a su vez favorece el crecimiento de bacterias beneficiosas como los lactobacilos (Jha y Leterme, 2012; Pieper *et al.*, 2008). También se analizó el microbioma del muestreo inicial (no se muestran los resultados) para asegurar que no existían diferencias significativas entre animales antes de la introducción de los piensos experimentales.

Los resultados indican que es posible el uso de pulpa de naranja en cerdos de engorde sin afectar a los parámetros productivos, mejorando la salud intestinal y que enfoques integradores con el análisis combinado del metaboloma y microbioma permiten evaluar los efectos exógenos y endógenos y, por tanto, generar información sobre cómo cambios en la alimentación pueden afectar a la salud intestinal.

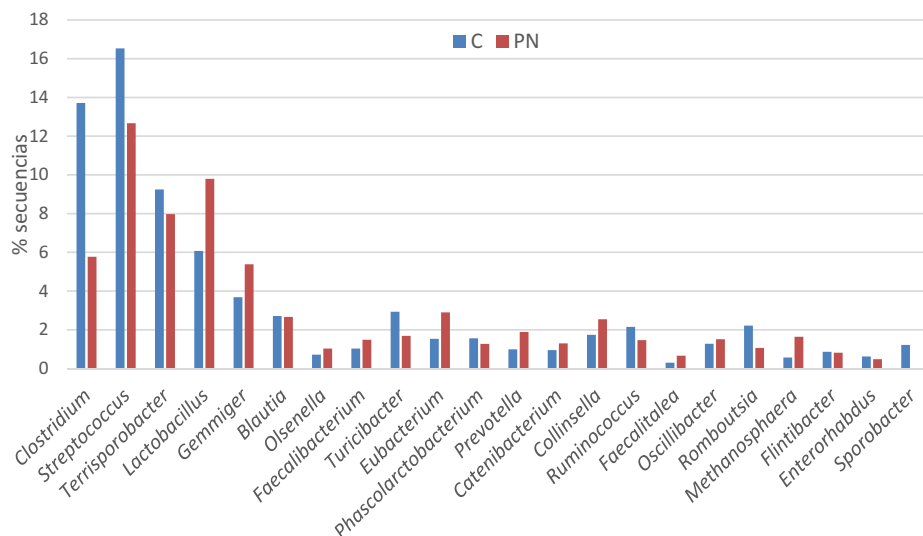


Figura 1. Abundancia relativa de los distintos géneros bacterianos del microbioma intestinal en el muestreo final.

Tabla 1. Valores medios de peso inicial y final, consumo medio diario (CMD), ganancia media diaria (GMD) e índice de conversión (IC).

	Dietas ^a		
	C	PN	P valor
Peso inicial (kg)	71,8 ± 6,77	70,8 ± 4,90	0,728
Peso final (kg)	128,9 ± 6,66	126,8 ± 6,64	0,548
CMD (kg pienso/animal)	3,33 ± 0,13	3,18 ± 0,18	0,063
GMD (kg PV/animal) ^b	1,16 ± 0,055	1,14 ± 0,08	0,735
IC (kg pienso/Kg PV) ^b	2,85 ± 0,077	2,78 ± 0,15	0,313

^aC y PN: 0 y 24% de inclusión pulpa de naranja deshidratada, respectivamente.

^bPV: peso vivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amorim, A.B., Thomaz, M.C., Ruiz, U., Martínez, J.F., Pascoal, L.A.F., Daniel, E., Watanabe, P.H. & Rosalen, D.L. 2014. Citrus pulp and enzyme complex for growing and finishing pigs, *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*
- Dueñas, M., Muñoz-González, I., Cueva, C., Jiménez-Girón, A., Sánchez-Patán, F., Santos-Buelga, C., Moreno-Arribas, M.V., Bartolomé, B. 2015. A Survey of Modulation of Gut Microbiota by Dietary Polyphenols. *Biomed Res. Int.* 2015, 1–15.
- Jha, R. & Leterme, P. 2012. Feed ingredients differing in fermentable fibre and indigestible protein content affect fermentation metabolites and faecal nitrogen excretion in growing pigs. *Animal* 6, 603–611.
- Montagne, L., Pluske, J.R., Hampson, D.J. 2003. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 108, 95–117.
- Pieper, R., Jha, R., Rossnagel, B., Van Kessel, A.G., Souffrant, W.B. & Leterme, P. 2008. Effect of barley and oat cultivars with different carbohydrate compositions on the intestinal bacterial communities in weaned piglets. *FEMS Microbiol. Ecol.* 66, 556–566.
- Watanabe, P.H., Thomaz, M.C., Ruiz, U.S., Santos, V.M., Masson, G.C.I., Fraga, A.L., Pascoal, L.A.F., Robles-Huaynate, R.A. & Silva, S.Z. 2010. Carcass characteristics and meat quality of heavy swine fed different citrus pulp levels. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.*

Agradecimientos: Este trabajo forma parte del proyecto AGL2014-56653-C3-2-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad.

EFFECT OF THE INCLUSION OF ORANGE PULP ON GROWTH PERFORMANCE, FAECAL METABOLITES AND INTESTINAL MICROBIOME IN FATTENING PIGS

ABSTRACT: An experiment was conducted to determine the effects of including orange pulp in diets, focusing on its effects on growth performance, gut microbiome and faecal metabolome. Two finishing diets were formulated to be isonutritive, a control (C) diet and a diet with orange pulp included at a 24% (OP). Eighty finishing male pigs Du x (LDxLW) of 71,2±5,83 kg body weight (BW) were divided in these two treatments. During the finishing period (70 to 120 kg BW, 50 days) average daily gain, average daily feed intake and feed conversion ratio were recorded. On days 56 and 90 of the study, faecal samples from the rectum of 16 animals per treatment were analysed for gut microbiome and faecal metabolome from day 90. No significant differences between treatments were found in performance, except for the average feed intake that tended to be lower (P=0.063) with the OP diets. The gut metabolome profile at the final sampling showed significant differences in genera between the animals fed the C and OP diets, highlighting *Clostridium* and *Lactobacillus*. Regarding the faecal metabolome, the main variables discriminating between treatments were the metabolites associated with bile salts and polyphenols derived compounds.

Keywords: Orange pulp, swine, metabolome, microbiota.

CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN HECES DE CERDOS IBÉRICOS ALIMENTADOS CON ALPERUJO DE DURANTE EL PERIODO DE CRECIMIENTO

Palma-Granados¹, P., García Casco¹, J.M., Muñoz¹, M., Fernández Barroso¹, M.A., López García¹, A., Muñoz-Mejías², A. y González², E.

¹Centro de I+D en Cerdo Ibérico, INIA, 06300 Zafra (Badajoz). ²Instituto Universitario de Investigación de Recursos Agrícolas (INURA), Universidad de Extremadura.

Email: patricia.palma@inia.es

INTRODUCCIÓN

El incremento en el precio de las materias primas de los piensos para uso ganadero, así como las implicaciones ambientales derivadas de determinados sistemas de producción poco sostenibles (de Miguel *et al.*, 2015) ha llevado a explorar otras alternativas que, además de minimizar los costes económicos, permitan aprovechar de manera óptima los recursos naturales. En este sentido, la utilización de subproductos agrícolas en alimentación animal podría ser una alternativa adecuada. Entre ellos, uno de los más accesibles y abundantes es el alperujo, principal residuo producido por la industria aceitera y de fácil acceso en España por ser uno de los mayores productores mundiales de aceite de oliva (Davidson, 2006). En trabajos anteriores se ha podido observar que el alperujo añadido a la dieta ocasiona una disminución en el crecimiento y engrasamiento de los animales (González Sánchez *et al.*, 2016; García Casco *et al.*, 2017 y López-García *et al.*, 2017). Por otro lado, la ingesta de alimento en el cerdo Ibérico debe ser restringida, hasta su entrada a montanera, con el fin de evitar un engrasamiento excesivo y cumplir la normativa de calidad RD4/2014 en cuanto a peso y edad de los cerdos. Esta puede ser la justificación al uso de dietas con baja concentración de energía y alto contenido en fibra, como los basados en la incorporación de subproductos derivados de la industria del aceite. El estudio de la influencia de estas dietas sobre la microbiota presente en el aparato digestivo puede resultar ser interesante, ya que en la actualidad se le está dando mucha importancia a la repercusión que sobre la salud intestinal y sobre otros aspectos tienen la presencia de determinados microorganismos en el tracto digestivo (Jha & Berrococo, 2015). El objetivo del trabajo es estudiar los ácidos grasos volátiles presentes en las heces, compuestos derivados del metabolismo de dicha microbiota.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 43 cerdos Ibéricos puros de $42 \pm 8,6$ kg de peso vivo (PV) y de 6,5 meses de edad aproximadamente que se dividieron en tres lotes con tres dietas diferentes durante el periodo de recría. La dieta control fue un pienso estándar para el periodo de crecimiento. La dieta de alperujo seco (AlpS) se basó en un pienso que contenía un 45% de subproducto de pulpa de oliva en forma granulada previamente deshidratada. Para la dieta de alperujo húmedo (AlpH) se fabricó una mezcla ensilada con alperujo (72% humedad) y paja de cebada en proporciones 75:25. Se complementaba esta dieta con un pienso. La composición química y analítica de las dietas se han descrito en detalle en un trabajo anterior (García-Casco *et al.*, 2017). Las dietas control y AlpS se administran restringidas. Para la dieta AlpH, el subproducto en forma de ensilado se suministró a voluntad, mientras que el suplemento alimenticio fue dado restringido. Los cerdos permanecieron en estas condiciones de alimentación durante 191 días, cuando alcanzaron un PV de $95 \pm 13,7$ kg. A partir de este momento, los cerdos fueron engordados en montanera y sacrificados con $162 \pm 8,8$ kg de PV, después de 118 días. Se tomaron muestras fecales a los 95 kg y a los 162 kg en tubos y se conservaron en N₂ líquido y posteriormente se almacenaron a -80°C hasta su análisis. Las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV) fueron determinadas por cromatografía de gases. El cálculo de las concentraciones se realizó siguiendo lo descrito por Brighenti (1997), para lo que se calcularon previamente los factores de respuesta de cada AGV y se utilizó la metodología de patrón interno. Los datos obtenidos al final de la recría fueron analizados mediante ANOVA con el siguiente modelo lineal de efectos fijos: $y = Xb + Xc + e$. Mientras que el modelo para los datos a los 162 kg fue: $y = Xb + Xc + Xd + e$ donde Xb representa la dieta suministrada durante el periodo en recría, Xc es el sexo y Xd es el día de sacrificio de los animales. Los resultados fueron analizados estadísticamente

mediante el programa RStudio (V.0.99.902) utilizando las funciones lm, anova y Tukey HSD. Las diferencias se consideraron significativas para un valor de P igual o inferior a 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de la dieta sobre los AGV en heces al final de periodo de recría (95 kg) se muestra en la Tabla 1. La concentración de AGV totales (nmol/L) presenta diferencias estadísticamente significativas entre los lotes ($P \leq 0,001$), siendo el grupo alimentado con AlpS el que contiene niveles superiores a los grupos control y AlpH. Los AGV son productos finales de la fermentación microbiana de los carbohidratos de la dieta, almidones resistentes y fibras dietética (Topping y Clifton, 2001), así como las proteínas que llegan a estos niveles. Su producción se ve afectada por varios factores, incluyendo el tipo y número de microorganismos presentes y el tipo de las fuentes de sustrato (Wong *et al.*, 2006).

Respecto a los AGV más abundantes, los cerdos alimentados con la dieta control y AlpS presentaron menor concentración de ácido acético y mayor de butírico que aquellos alimentados con la dieta AlpH ($P \leq 0,001$ y $P \leq 0,01$, respectivamente). En el caso del propiónico, los cerdos alimentados con AlpS presentaron mayor porcentaje que el obtenido en los grupos control y AlpH ($P \leq 0,001$). La suma de estos tres AGV mayoritarios (acético + propiónico + butírico-APB) fue más elevada en el grupo AlpS, seguido del AlpH y finalmente del grupo control. Las concentraciones de los ácidos grasos isobutírico e isovalérico, siguieron un patrón similar, con valores más altos en el grupo control, seguido de los animales alimentados con AlpH y finalmente aquellos con AlpS ($P \leq 0,001$). La proporción del ácido valérico presentó su valor más bajo con la dieta AlpS en comparación con los otros dos grupos ($P \leq 0,001$). La suma de los tres AGV minoritarios (isobutírico + isovalérico + valérico-IIV) tuvo mayor concentración en la dieta control que en AlpH, y a su vez mayor que en AlpS ($P \leq 0,001$). La ratio APB:IIV fue muy superior en el grupo de dieta AlpS, seguido de AlpH y del control ($P \leq 0,001$). El isovalérico, isobutírico y valérico se forman durante la degradación microbiana de los aminoácidos y proteínas (Zarling y Ruchim, 1987; Fernandes *et al.*, 2014).

Tabla 1. Efecto de la dieta basada en subproductos de oliva (Alperujo Seco y Húmedo) sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (% AGV) en heces de cerdos ibéricos de 95 kg de peso.

	Control	Alperujo Seco	Alperujo Húmedo	SEM	P valor
Acético	56,0 ^b	56,2 ^b	60,2 ^a	0,29	0,001
Propiónico	24,9 ^b	30,5 ^a	25,0 ^b	0,24	0,001
Butírico	8,97 ^a	8,75 ^a	7,81 ^b	0,134	0,003
Isobutírico	3,65 ^a	1,54 ^c	2,49 ^b	0,076	0,001
Isovalérico	4,63 ^a	1,72 ^c	2,94 ^b	0,112	0,001
Valérico	1,85 ^a	1,23 ^b	1,61 ^a	0,043	0,001
ΣAPB	89,9 ^c	95,5 ^a	92,7 ^b	0,22	0,001
ΣIIV	10,1 ^a	4,49 ^c	7,04 ^b	0,222	0,001
APB : IIV	9,18 ^c	22,0 ^a	13,8 ^b	0,51	0,001
AGV total (nmol/L)	60,1 ^b	99,7 ^a	73,1 ^b	2,20	0,001

^{a-c}Dentro de una fila, los valores medios con superíndices distintos son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

ΣIIV = Isobutírico + Isovalérico + Valérico; ΣAPB = Acético + Propiónico + Butírico

Los resultados obtenidos sobre los AGV al final del periodo de *montanera* se muestran en la Figura 1. No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre las distintas alimentaciones ($P > 0,05$), por lo que el dato mostrado es la media de todos los lotes. Sin embargo, la composición al final de la *montanera* es diferente a la obtenida al final de la recría. Durante la *montanera* se incrementa la concentración de los AGV totales (123,8 nmol/L) ($P \leq 0,001$), bajando los porcentajes de acético y propiónico ($P \leq 0,001$) y aumentando los de butírico, isobutírico, isovalérico y valérico ($P \leq 0,001$).

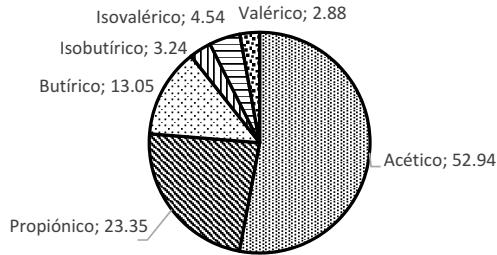


Figura 1. Composición de los ácidos grasos volátiles (% AGV) en heces de cerdos ibéricos de 162 kg de peso una vez acabada la montanera.

Las diferencias encontradas en la composición de los ácidos grasos volátiles nos indican un patrón diferente de fermentaciones en intestino grueso al finalizar la recría. Estas diferencias se anulan durante el cambio de alimentación en *montanera*. Sería interesante conocer el patrón de la microbiota presente y que ocasiona estas diferencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brighenti, F. 1997. *Profibre*: 114–119.
- Davidson, A. 2006. *The Oxford Companion to Food*, pp 590-591
- de Miguel, A. *et al.*, 2015. *Ecological Indicators*, 57: 465-474.
- García-Casco, J. *et al.*, 2017. *ACS*. 82: 1-4.
- González-Sánchez, E. *et al.*, 2016. *I Sym Ibérico de olivicultura*, Badajoz.
- Jha R. y Berrocoso, J. D. 2015. *Animal*, 9:1441–1452.
- López-García, A. *et al.*, 2017. *4th Fatty pig International Conference* (Badajoz).
- Topin, D.L. y Clifton P.M., 2001. *Physiological reviews* 81: 1031-1064.
- Wong, J. M. W. *et al.*, 2006. *Journal of Clinical Gastroenterology*: 40: 235-243.
- Zarling, E.J., y Ruchim, M.A., 1987. *J. Lab. Clin. Med.* 109: 566–570.
- Fernandes, J. *et al.*, 2014. *Nutr. Diabetes* 4, e121.

Agradecimientos: Financiado por el programa de la UE de Investigación e Innovación Horizonte 2020. Proyecto ref. 634476 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 los empleados de la granja Puerto Lobo (Cabeza la Vaca, Badajoz) y especialmente al propietario Francisco de Borja Ramírez.

CONCENTRATION OF VOLATILE FATTY ACIDS IN IBERIAN PIGS FED WITH OLIVE BY-PRODUCTS DURING THE GROWING PERIOD

ABSTRACT: The aim of this work was to assess the effects of two olive cake-based diets on the volatile fatty acid profile (VFA) on faeces of Iberian pigs. We used 43 Iberian pigs randomly assigned to three experimental diets. A control diet was compared with two diets based on olive by-products, one incorporating dry olive pulp in the feed (AlpS) and the other one incorporating olive cake in wet form (AlpH). Faeces were taken at the end of growing (95kg) and *montanera* periods (162kg). The concentration of volatile fatty acids at 95 kg was widely affected by diet. In general, the pigs fed with olive by-product presented higher concentrations of the main volatile fatty acids than those fed with control diet, with greater values of acetic in the AlpH and of propionic in the AlpS group. The AlpS group presented greater concentration of VFA in faeces than the rest of groups. However, these differences disappeared after *montanera* period and the three groups showed similar results. Therefore, the utilization of diets based in olive cake during growing period has not effect on volatile fatty acids of faeces of Iberian *montanera* pigs.

Keywords: volatile fatty acids, Iberian pigs, olive by-product, *montanera*.

LA BETAÍNA AUMENTA LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN CERDO IBÉRICO

Pardo, Z., Lachica, M. y Fernández-Figares, I.

Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición, Estación Experimental del Zaidín, Camino del Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada. Email: ifigares@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

La manipulación de la composición y la actividad metabólica de la microbiota intestinal para mejorar la salud intestinal se ha incrementado desde la prohibición del uso de antibióticos como promotores del crecimiento. La betaína o trimetil-glicina actúa como donador de grupos metilo en reacciones de transmetilación en distintos procesos metabólicos como la síntesis de proteína, carnitina o creatinina, y en el metabolismo energético (Ratriyanto *et al.*, 2009). Puede potencialmente reducir el estrés por calor ajustando la presión osmótica para evitar la deshidratación a nivel celular, mejorando la digestibilidad y el crecimiento de los animales (Eklund *et al.*, 2005; 2006). En general, la fermentación de carbohidratos se considera beneficiosa para el tracto gastrointestinal gracias a la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), que tienen un efecto trófico y promotor de la salud del tracto digestivo (Cummings & Macfarlane, 1991). Además, se asocia un mayor número de especies bacterianas beneficiosas como *Bifidobacterium* con la producción de AGV (Tzortzis *et al.*, 2005). En condiciones de estrés osmótico *in vitro*, la producción de AGV por las bacterias disminuye (Rink *et al.*, 2011). *In vivo*, hay pocos estudios sobre el efecto de la suplementación con betaína en la fermentación microbiana intestinal en cerdos. El objetivo de este estudio fue estudiar si la suplementación de la dieta con betaína afectaba a la concentración de AGV en vena porta y en arteria en cerdos Ibéricos de 30 kg PV.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron 8 cerdos Ibéricos machos castrados de 19 kg PV que fueron alojados en jaulas individuales en una nave con control de temperatura ($21 \pm 1,5^\circ\text{C}$). Se les asignó de forma aleatoria el tratamiento consistente en una dieta control o suplementada con 0,5% de betaína (Betafin S1, cristalina, 96% pureza; Danisco, Copenhagen, Dinamarca) a expensas de almidón de maíz. Las dietas fueron formuladas según el concepto de proteína ideal y estaban compuestas fundamentalmente por cebada y soja, a las que se añadió lisina y treonina (4 y 1 g/kg, respectivamente), conteniendo (en materia seca) 101 g/kg de proteína bruta y 14,7 MJ de energía metabolizable/kg. Los cerdos se alimentaron dos veces al día (09:00 y 15:00 h) por encima de mantenimiento ($2,4 \times \text{EMm}$). A los 30 kg PV se implantaron dos catéteres crónicos, uno en vena porta y otro en la arteria carótida según lo descrito por Rodríguez-López *et al.* (2013). Se realizó un muestreo seriado de sangre una vez recuperados los animales de la intervención. Para ello, se muestreó simultáneamente de ambos vasos sanguíneos 60 min antes de ofrecer 1200 g de dieta y a los 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min una vez ingerida la ración. Tras la obtención del plasma, las muestras se congelaron (-20°C) hasta la determinación de los AGV mediante cromatografía gaseosa. La extracción etanólica de AGV del plasma se realizó de acuerdo con el método de Remesy & Demigne (1974), usando ácido crotónico como estándar interno. Mediante cromatografía de gases se determinaron acetato, propionato, isobutirato, butirato, isovalerato, valerato y ácido caproico (Lachica *et al.*, 2018). La unidad experimental fue el cerdo. Los datos se analizaron como medidas repetidas usando el procedimiento MIXED del SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Los efectos principales en el modelo fueron la dieta, el tiempo de muestreo y la interacción. Las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran las concentraciones totales de AGV y las proporciones molares de cada AGV en plasma portal y arterial de cerdos Ibéricos alimentados con una dieta suplementada o no con betaína. El acetato era el AGV mayoritario seguido del propionato y butirato en el plasma de cerdos, tanto en sangre portal como arterial. Como es de esperar, la concentración de AGV en porta era superior que en arteria debido al metabolismo de los

mismos fundamentalmente a nivel hepático. Las medias globales de las concentraciones de ácido acético arterial y portal fueron, 1,65 y 2,37 mM, respectivamente; mientras que para ácido propiónico fueron 0,038 y 0,293 mM, respectivamente. Los AGV minoritarios también presentaron este patrón de menor concentración arterial que portal, lo que no es sorprendente ya que la vena porta lleva la sangre procedente del tracto gastrointestinal, páncreas y bazo, y es la principal vía para el transporte de los nutrientes absorbidos desde el tracto digestivo (Yen & Killefer, 1987), incluyendo los AGV. La gran diferencia entre concentraciones de AGV en sangre arterial y portal refleja la captación por el hígado de los mismos. Otros autores (Rérat *et al.*, 1987) encontraron igualmente que el hígado captaba una gran proporción de propiónico y también de butírico y valérico, como demostraba la baja concentración arterial de estos ácidos en contraste con los valores portales. Los valores de acético portal son similares a los encontrados por Yen *et al.* (1991) aunque mayores que los hallados por Rérat *et al.* (1987). La evolución en el tiempo de las concentraciones de AGV en plasma portal y arterial se muestra en la figura 1. La ausencia de un aumento postprandial de AGV no significa que la fermentación en el intestino grueso sea constante, ya que, si fuera así, se habría producido un incremento en la absorción neta de AGV debida al aumento del flujo plasmático portal postprandial. Las diferencias de concentración a nivel arterial de AGV totales entre cerdos alimentados con dieta control y betaína pueden ser debidas a que el hígado fundamentalmente capta una mayor cantidad de los mismos en los cerdos control (también podría haber un mayor uso de dichos AGV por los tejidos periféricos).

La mayor concentración de acético tanto en sangre portal como arterial en cerdos Ibéricos alimentados con dieta suplementada con betaína refleja una mayor fermentación en el intestino, lo que podría ser beneficioso en casos de estrés térmico por su efecto beneficioso sobre la microbiota. Un estudio sobre cómo afecta la betaína las poblaciones bacterianas puede ayudar a comprender la relación entre la suplementación con betaína y la mayor concentración plasmática de acético encontrada.

Tabla 1. Concentración media de ácidos grasos volátiles (AGV) y proporciones molares en sangre portal y arterial de cerdos Ibéricos alimentados con una dieta equilibrada suplementada o no con betaína (n=4 cerdos por tratamiento experimental)

	Control	Betaína	EEM
<u>Sangre portal</u>			
∑AGV, μM	1382 ^a	3955 ^b	299
Acético/ ∑AGV, %	70,9 ^a	86,6 ^b	1,40
Propiónico/ ∑AGV, %	21,2 ^a	9,20 ^b	0,93
Acético/Propiónico	3,59 ^a	14,3 ^b	1,45
Butírico/ ∑AGV, %	4,67 ^a	2,80 ^b	0,43
Isobutírico/ ∑AGV, %	0,94 ^a	0,42 ^b	0,065
Valérico/ ∑AGV, %	1,88 ^a	0,70 ^b	0,15
Caproico/ ∑AGV, %	0,40 ^a	0,28 ^b	0,057
<u>Sangre arterial</u>			
∑AGV, μM	597 ^a	3112 ^b	226
Acético/ ∑AGV, %	89,1 ^a	95,9 ^b	0,67
Propiónico/ ∑AGV, %	4,32 ^a	1,72 ^b	0,47
Acético/Propiónico	24,7 ^a	123,5 ^b	12,2
Butírico/ ∑AGV, %	2,51 ^a	0,76 ^b	0,18
Isobutírico/ ∑AGV, %	2,02 ^a	0,44 ^b	0,24
Valérico/ ∑AGV, %	1,70 ^a	1,12 ^a	0,24
Caproico/ ∑AGV, %	0,35 ^a	0,086 ^b	0,037

^a Medias con distinto superíndice dentro de cada columna son significativamente distintas, P<0.05.

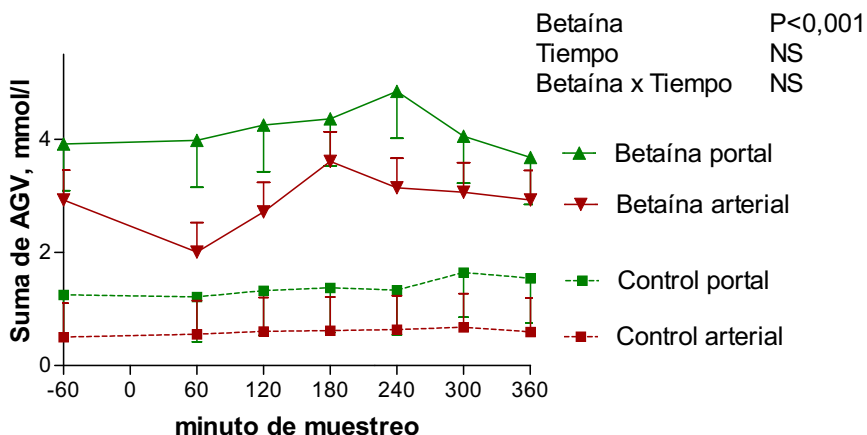


Figura 1. Cambios en la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) en plasma portal y arterial de cerdos Ibéricos alimentados con dieta control o suplementada con 0,5% de betaina. En el minuto 0 los animales ingieren las dietas. n=4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Cummings & Macfarlane, 1991 Appl. Bacteriol. 70: 443-459 • Eklund *et al.* 2005. Nutr. Res. Rev. 18: 31-48. • Eklund *et al.* 2006. Arch. Anim. Nutr. 60: 289-300. • Lachica *et al.* 2018. Anim. Prod. Sci. (en prensa). • Ratriyanto *et al.* 2009. Asian. Australas. J. Anim. Sci. 22: 1461-1476. • Remesy & Demigne. 1974. Biochem. J. 141: 85-91. • Rérat *et al.* 1987. J. Anim. Sci. 64: 448-456. • Rink *et al.* 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 169: 281-285. • Rodríguez-López *et al.* 2013. J. Agric. Sc. 151: 434-443. • Tzortzis *et al.* 2005. J. Nutr. 135: 1726-1731. • Yen & Killefer. 1987. J. Anim. Sci. 64: 923-934. • Yen *et al.* 1991. J. Anim. Sci. 69: 2001-2012.

Agradecimientos: Financiado por el proyecto AGL2016-80231-R. Zaira Pardo disfruta de una ayuda de contrato predoctoral para la formación de doctores ref. BES-2017-081486.

DIETARY BETAINE INCREASES PLASMA VOLATILE FATTY ACIDS IN IBERIAN PIGS

ABSTRACT: Modulation of intestinal fermentation by betaine may benefit gastrointestinal health altering composition and metabolic activity of microbiota. The aim of this study was to determine the effect of betaine on volatile fatty acids (VFA) concentration in arterial and portal blood of Iberian pigs as a measure of intestinal fermentation. Eight Iberian barrows, 19 kg BW, were individually housed and randomly assigned to one of two diets: control (barley-soy bean basal diet, 101 g of crude protein/kg, 4 g L-Lys/kg, 14.7 MJ ME/kg (in dry matter basis) or betaine (basal diet supplemented with 0.5% betaine). Pigs were restrictively fed and at 30 kg were fitted with chronic indwelling catheters in portal vein and carotid artery. When pigs were recovered from surgery blood samples were taken simultaneously from carotid artery and portal vein before feeding and every 60 min after feeding for 6 h. Portal was considerably greater than arterial concentration of VFA indicating the uptake of liver for energy. Acetate accounted for 71-87% of total VFA in portal blood and 89-96% in arterial blood. Compared to control group, betaine increased portal and arterial total VFA (186 and 421%, respectively; $P<0.001$), reflecting enhanced hindgut fermentation, which could be of benefit under heat stress conditions.

Keywords: volatile fatty acids, acetate, Iberian pig, plasma.

EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE MAÍZ POR PULPA DE CÍTRICOS EN UNA DIETA PARA OVINO LECHERO SOBRE SU FERMENTACIÓN EN EL SISTEMA RUSITEC

Mateos I.¹, García-Rodríguez, J.¹, Saro C.², Carro M.D.³ y Ranilla M.J.^{1,2}

¹ Departamento de Producción Animal, Universidad de León, 24071 León.

² Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas, 24346 Grulleros, León.

³ Departamento de Producción Agraria, E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España; mjrang@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Los subproductos agroindustriales representan un importante problema en muchos países, siendo unos restos difíciles de eliminar en muchos casos. Su utilización en alimentación animal puede ser una solución para las industrias agroalimentarias, y también para los ganaderos que tendrían a su disposición un alimento de bajo coste. El objetivo de utilizar estos subproductos no es solo el de disponer de alimentos alternativos para los animales, sino también favorecer las exigencias medioambientales por medio del reciclado de estos productos (Rincón et al., 2017). La pulpa de cítricos es el residuo sólido resultante de exprimir la fruta fresca para obtener su zumo y puede ser utilizada como sustituto de los cereales en la alimentación de los rumiantes por su alto contenido en energía y su elevada digestibilidad (Heuzé et al., 2017). El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto de la pulpa de cítricos como sustituto del maíz en la fermentación ruminal *in vitro* de una dieta para ovino lechero en fermentadores Rusitec.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 fermentadores Rusitec en un diseño cruzado con dos periodos de 14 días cada uno. Se utilizaron dos dietas con una proporción 50:50 de forraje:concentrado cuyos ingredientes y composición química se encuentran en la tabla 1. Una de ellas contenía un 20% de maíz (M) expresado en materia fresca y la otra pulpa de cítricos (PC) como sustituto del maíz de la fracción del concentrado. Las dos dietas se formularon para tener un contenido en proteína (PB) y fibra neutro detergente (FND) similar, por lo que también se modificó el porcentaje de harina soja y de cebada.

Tabla 1. Ingredientes (en % de materia fresca) y composición química de las dietas experimentales (Maíz (M) y Pulpa de cítricos (PC), en % de materia seca).

	M	PC
Heno de alfalfa	26,7	26,7
Ensilado de maíz	23,3	23,3
Harina de soja	15,8	16,6
Maíz	20,0	0,0
Cebada	12,3	11,5
Pulpa de cítricos	0,0	20,0
Jabón cálcico	0,9	0,9
Premezcla	1,0	1,0
Composición química		
Materia orgánica	94,4	90,0
Proteína bruta	15,4	15,9
Fibra neutro detergente	33,9	34,3
Fibra ácido detergente	15,8	18,6
Lignina	1,9	2,6

En los días 9, 10, 11 y 12 de incubación, se midió el pH en el interior de los fermentadores, se tomaron muestras del efluente para medir la producción diaria de ácidos grasos volátiles (AGV) mediante cromatografía de gases en un cromatógrafo Shimadzu GC 2010 (Supelco, Barcelona, España), previa mezcla del efluente con una solución acidificante desproteinizante (0,6 g de ácido crotónico y 20 g de ácido metafosfórico por litro de HCl 0,5 N). Esos mismos

días, se midió la digestibilidad de la dieta a partir de la pérdida de peso de la cantidad de sustrato incubado tras el lavado y posterior secado de las bolsas que contenían el sustrato en los fermentadores. Los días 13 y 14 se recogieron muestras para determinar la síntesis de proteína microbiana utilizando ^{15}N como marcador microbiano (Martínez et al., 2010). Para ello del día 10 al 14 se añadió una solución de $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ (Sigma-Aldrich Química S.L., Madrid, España) en la saliva artificial (4,0 mg de $^{15}\text{N/g}$ de N en la dieta).

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza con medidas repetidas en el tiempo usando el PROC MIXED del paquete estadístico SAS. El efecto de la dieta, el periodo de incubación y el día de muestreo fueron considerados como efectos fijos y el fermentador se consideró un efecto aleatorio. La significación estadística se estableció en $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la tabla 2, la producción total de AGV no se vio afectada ($P > 0,05$) por la dieta incubada, aunque la producción de propiónico fue mayor ($P = 0,003$) en los fermentadores que recibieron la dieta PC. Sin embargo, Piquer et al. (2009) observaron *in vivo* un aumento en la producción de acético y una tendencia a disminuir la de propiónico cuando se incluía un 26% de pulpa de cítricos en la dieta de ovejas de raza manchega en sustitución de trigo. Debido a la mayor cantidad de propiónico, la relación acético:propiónico fue menor ($P < 0,001$) en los fermentadores alimentados con la dieta PC. La digestibilidad aparente de la materia seca fue mayor ($P = 0,006$) para la dieta que contenía pulpa de cítricos que para la dieta con maíz (74,0% vs. 71,1%), al igual que lo observado *in vivo* por Tadayon et al. (2017) quienes vieron que la digestibilidad de la dieta aumentaba al aumentar la cantidad (0, 110, o 220 g/kg de MS) de pulpa de naranja seca incluida en la dieta de corderos de engorde. Sin embargo, según Tayengwa et al. (2018) la digestibilidad de la MS disminuye a medida que la cantidad de pulpa de cítricos aumenta por encima de 150 g/kg de MS. La digestibilidad de la FND fue menor para la dieta PC (33,2% vs. 39,2%; $P < 0,001$), lo que coincide con lo observado en la revisión de Tayengwa et al. (2018), en la que la digestibilidad de la FND disminuye a medida que la cantidad de pulpa de cítricos aumenta por encima de 150 g/kg de MS. El pH aumentó con la inclusión de pulpa de cítricos en la dieta con respecto a la dieta de maíz (6,12 vs. 6,40, respectivamente; $P < 0,001$) lo que concuerda con lo observado por Piquer et al. (2009) al incluir un 26% de pulpa de clementina en la dieta de ovejas.

Tabla 2. Efectos de sustituir el maíz (M) por pulpa de cítricos (PC) en una dieta de ovino lechero sobre la fermentación ruminal *in vitro* en fermentadores Rusitec.

	M	PC	EEM ¹	P =
Ácidos grasos volátiles (AGV) totales, mmol/d	90,9	90,0	3,54	0,708
Acético, mmol/d	43,2	41,4	1,74	0,158
Propiónico, mmol/d	15,3	17,3	0,83	0,003
Butírico mmol/d	18,1	18,7	0,97	0,273
Otros AGV ² , mmol/d	14,8	11,3	0,73	<0,001
Acético/Propiónico, mol/mol	2,83	2,40	0,096	<0,001
Digestibilidad aparente (%)				
Materia seca	71,1	74,0	1,36	0,006
Fibra neutro detergente	39,2	33,2	1,45	<0,001
pH	6,12	6,40	0,059	<0,001
Síntesis de proteína microbiana (mg N microbiano/d)				
Fase sólida	180	200	7,7	0,142
Fase líquida	137	116	7,9	0,155
Total	317	316	6,4	0,920

¹ Error estándar de la media

² Calculado como la suma de isobutírico, isovalérico, valérico y caproico.

En lo que se refiere a la síntesis de proteína microbiana en los fermentadores, la dieta

incubada no afectó a este parámetro ($P>0,05$) en ninguna de las fases de la digesta ni tampoco al crecimiento microbiano total.

En conclusión, y a la vista de los resultados obtenidos en este trabajo, la sustitución de maíz por pulpa de cítricos en la dieta no afectó negativamente a la fermentación ruminal en fermentadores Rusitec y mejoró la digestibilidad aparente de la materia seca y el perfil de AGV. Por tanto, los resultados de este estudio indican que los subproductos de la industria de zumos podrían ser incluidos en la dieta de los animales ruminantes, promoviendo una mejor fermentación ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Heuzé, V., Tran, G., Hassoun, P. & Lebas, F. 2017. Citrus pulp, fresh. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. from <https://www.feedipedia.org/node/679>.
- Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Saro, C. & Carro, M.D. 2010. The effect of the diet fed to donor sheep on in vitro methane production and ruminal fermentation of diets of variable composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 158, 126–135.
- Piquer, O., Ródenas, L., Casado, C., Blas, E. & Pascual, J.J. 2009. Whole citrus fruits as an alternative to wheat grain or citrus pulp in sheep diet: Effect on the evolution of ruminal parameters. *Small Rumin. Res.* 83, 14–21.
- Rincón, A.A., García-Fraga, J.M., Álvarez, S., Pino, V., Fresno, M.R., Ayala, J.H. & Afonso, A.M. 2017. Effect of the inclusion of banana silage in the diet of goats on physicochemical and sensory characteristics of cheeses at different ripening times. *Small Rumin. Res.* 149, 52–61.
- Tadayon, Z., Rouzbehan, Y. & Rezaei, J. 2017. Effects of feeding different levels of dried orange pulp and recycled poultry bedding on the performance of fattening lambs. *J. Anim. Sci.* 95, 1751–1765.
- Tayengwa, T., Mapiye, C., Tayengwa, T. & Mapiye, C. 2018. Citrus and Winery Wastes: Promising Dietary Supplements for Sustainable Ruminant Animal Nutrition, Health, Production, and Meat Quality. *Sustainability* 10, 3718.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2016-75322-C2-1-R y AGL2016-75322-C2-2-R financiados por el MINECO.

EFFECTS OF REPLACING CORN BY CITRUS PULP IN A DAIRY SHEEP DIET ON ITS FERMENTATION IN THE RUSITEC SYSTEM

ABSTRACT: The objective of this study was to assess the effects of replacing maize by citrus pulp in a dairy sheep diet on ruminal fermentation in Rusitec fermenters. Four fermenters were given daily 30 g of diet (50:50 alfalfa hay:concentrate). Half of them received the diet with 20% of corn (M) and in the other half corn was totally replaced by citrus pulp (CP), in a cross-over design with two 14-day incubation periods. Total VFA production was unaffected ($P>0,05$) by diet, although propionate production was higher ($P=0,003$) in fermenters receiving the CP diet. Accordingly, acetate/propionate ratio was lower ($P<0,001$) when fermenters were fed the diet containing citrus pulp. Dry matter apparent digestibility was higher ($P<0,01$) for CP than for M diet (74.0% vs. 71.1%), but neutral detergent fibre digestibility was lower for CP diet (33.2% vs. 39.2%; $P<0,001$). In addition, pH values in CP fermenters were higher ($P<0,001$) than in M ones. Microbial growth was not affected by the type of diet incubated ($P>0,05$). The results of this study indicate that by-products from juice industry could be included in ruminant's diets, promoting better ruminal fermentation.

Keywords: Rusitec, citrus pulp, sheep, microbial growth

UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS EN DIETAS DE OVEJAS LECHERAS: EFECTO SOBRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS RUMINALES

Mateos, I.¹, Saro, C.², Carro, M.D.³ y Ranilla, M.J.^{1,2}

¹ Departamento de Producción Animal, Universidad de León, 24071 León.

² Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas, 24346 León.

³ Departamento de Producción Agraria, E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España; mjrang@unileon.es

INTRODUCCIÓN

España es el mayor productor de aceite de oliva del mundo. La extracción del aceite genera varios subproductos que pueden ser usados en alimentación animal. Uno de estos subproductos es el orujo de aceituna y está formado fundamentalmente por restos de pulpa y piel, ya que los huesos suelen eliminarse. Es un producto poco homogéneo, fibroso y con alto contenido en lignina (FEDNA, 2010) y cuyo valor nutritivo depende del aceite que contenga. Además, el orujo de aceituna contiene compuestos bioactivos con actividades antimicrobianas y antioxidantes (Uribe et al., 2014) que podrían ser beneficiosas para los animales, pero también podrían afectar a las poblaciones microbianas ruminales. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la inclusión de orujo de aceituna en la ración como sustituto de parte de la fracción fibrosa de una dieta estándar para ovino de leche sobre las comunidades bacterianas ruminales desarrolladas en fermentadores Rusitec.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar este trabajo se utilizaron dos dietas con una proporción 50:50 de forraje:concentrado. Una de ellas contenía un 10% de paja de cebada y un 20% de ensilado de maíz (PM) expresado en materia fresca y la otra dieta un 16,7% de orujo de aceituna (O) como sustituto de parte de la paja y el ensilado de maíz. Se utilizaron 4 fermentadores Rusitec en un diseño cruzado en dos periodos de incubación durante 14 días cada uno. Los días 13 y 14 de incubación se recogieron muestras para estudiar las comunidades bacterianas asociadas a las fases sólida y líquida de la digesta. De estas muestras se extrajo el ADN que tras la amplificación de las regiones v3-v4 del ARN ribosómico 16S de bacterias se secuenciaron en un secuenciador Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, EE.UU.) en el Centre for Genomic Regulation (Barcelona, España).

Tabla 1. Ingredientes (en % de materia fresca) y composición química de las dietas PM (paja de cebada y silo de maíz) y O (orujo de aceituna) (en % de materia seca).

	PM	O
Heno de alfalfa	20,0	20,0
Ensilado de maíz	20,0	6,7
Paja de cebada	10,0	6,7
Orujo de aceituna	0,0	16,7
Harina de soja	14,7	14,7
Maíz	13,3	13,3
Cebada	20,0	20,0
Jabón cálcico	0,9	0,9
Premezcla	1,0	1,0
Composición química		
MO	94,3	92,9
PB	15,0	15,3
FND	32,4	32,8
FAD	16,3	15,5
Lignina	2,0	3,8

Las secuencias obtenidas del secuenciador fueron filtradas usando FROGS (Escudié et al., 2018). La asignación taxonómica fue realizada utilizando el algoritmo BLAST enfrenteado a la base de datos SILVA SSU Ref NR 128 (Quast et al., 2012). El análisis estadístico de las secuencias y las figuras fueron realizados con los paquetes lme4 (Bates et al., 2015) y phyloseq (McMurdie and Holmes, 2013) en el programa R (R Core Team, 2018). La significación estadística se estableció en $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se pueden ver el número de unidades taxonómicas operacionales (OTUs) observados y el índice de diversidad de Shannon para las dos dietas incubadas tanto en la fase sólida como en la líquida de los fermentadores. Estos valores no variaron significativamente ($P > 0,05$) en función de la dieta, aunque para el número de OTUs hubo una tendencia ($P = 0,084$) a ser menor en la dieta O. El índice de Shannon si varió en función de la fracción del fermentador de la que se recogió la muestra ($P < 0,05$). No hubo ($P > 0,05$) interacción de la dieta con la fracción.

Tabla 2. Índices de diversidad y número de OTUs observados para las dos dietas (sin orujo de aceituna, PM y con orujo, O) incubadas en los fermentadores Rusitec.

	Fase	Dieta		EEM ¹	Dieta	P =	
		PM	O			Fase	Dieta x Fase
OTUs observados	Sólido	752	689	31,2	0,084	0,371	0,436
	Líquido	853	696				
Índice de Shannon	Sólido	4,18	4,15	0,097	0,740	0,005	0,593
	Líquido	4,62	4,75				

¹ Error estándar de la media

En el análisis de coordenadas principales basado en la distancia de Bray-Curtis, representado en la figura 1, la coordenada principal 1 separa las muestras en función de la fase del fermentador de la que se recogió la muestra. En lo que se refiere al contenido líquido de los fermentadores la coordenada 2 separa las muestras en función de la dieta.

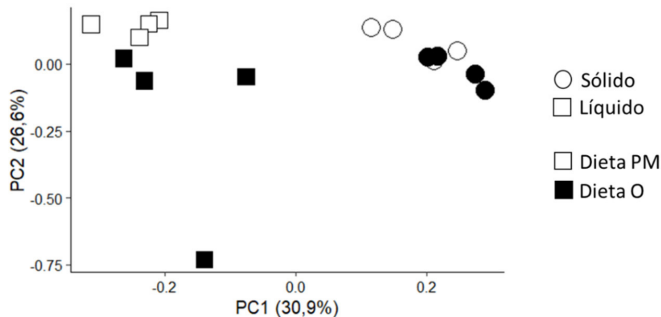


Figura 1. Análisis de coordenadas principales en el cual se representan las muestras de la dieta orujo de aceituna (O) y las muestras de la dieta paja de cebada y ensilado de maíz (PM) tanto de la fase sólida como de la fase líquida.

En cuanto a la composición taxonómica de la comunidad bacteriana de las muestras (tabla 3), el filo *Firmicutes* es el más abundante en las muestras de ambas dietas con un 50% de abundancia relativa. El segundo y tercer filo más abundantes son *Bacteroidetes* (23%) y *Actinobacteria* (20%). La abundancia de ninguno de ellos se vio afectada significativamente por la dieta incubada. De los 10 filios más abundantes, sólo, *Spirochaetes* fue significativamente más abundante cuando la dieta incubada fue la PM (3,62% vs. 1,73%; P ajustado=0,009)

Tabla 3. Abundancia relativa (%) de los 10 fillos más abundantes en los fermentadores que recibieron las dos dietas (sin orujo de aceituna, PM y con orujo, O).

Filo	Dieta		EEM ²	P ajustado ¹ =	
	PM	O		Dieta	Fase
<i>Actinobacteria</i>	21,77	18,41	2,256	0,474	0,001
<i>Bacteroidetes</i>	21,23	24,68	1,337	0,474	0,454
<i>Cyanobacteria</i>	0,18	0,30	0,073	0,730	0,514
<i>Euryarchaeota</i>	0,64	0,40	0,083	0,474	0,514
<i>Fibrobacteres</i>	0,26	0,26	0,049	0,968	0,118
<i>Firmicutes</i>	49,89	51,08	1,406	0,831	0,014
<i>Patescibacteria</i>	0,49	0,34	0,098	0,730	0,037
<i>Proteobacteria</i>	0,86	1,78	0,370	0,207	0,001
<i>Spirochaetes</i>	3,62	1,73	0,342	0,009	0,037
<i>Synergistetes</i>	0,44	0,32	0,126	0,831	0,037

¹ Valor de P ajustado con el método false discovery rate

² Error estándar de la media

A la vista de los resultados obtenidos en este trabajo, podemos decir que al incluir orujo de aceituna en una dieta de ganado ovino lechero la diversidad bacteriana y la abundancia relativa de los fillos mayoritarios no variaron con respecto a la dieta sin orujo. La diversidad bacteriana y la abundancia relativa de los fillos *Firmicutes* y *Actinobacteria* variaron en función de la fase de la digesta analizada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bates, D. 2015, J. Stat. Softw. 67, 1–48.
- Escudié, F. 2018, Bioinformatics 34, 1287–1294.
- FEDNA 2010, Orujo de aceituna | FEDNA, Retrieved on 28 January 2019, from http://www.fundacionfedna.org/subproductos_fibrosos_humedos/orujo-de-aceituna.
- McMurdie, P.J. 2013, PLoS One 8, e61217.
- Quast, C. 2012, Nucleic Acids Res. 41, D590–D596.
- R Core Team 2018, R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Uribe, E. 2014, Food chem. 147, 170–6.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2016-75322-C2-1-R y AGL2016-75322-C2-2-R financiados por el MINECO.

USING BY-PRODUCTS IN DAIRY SHEEP DIETS: EFFECTS ON RUMINAL BACTERIAL COMMUNITIES

ABSTRACT: The aim of this study was to assess the effects of partially replacing straw and corn silage by olive cake in a dairy sheep diet on bacterial populations in Rusitec fermenters. Two diets were incubated in 4 Rusitec fermenters in a cross-over design with two 14-day incubation periods, Fermenters were given daily 30 g of diet (50:50 forage:concentrate), half of them received the diet with no olive cake (PM) and the other half received 16,7% of olive cake (O). Samples of ruminal content were collected from the fermenters and the DNA was extracted and sequenced in an Illumina MiSeq sequencer. The OTUs observed and Shannon diversity index were not affected ($P > 0.05$) by the diet incubated. Samples were segregated by PC1 corresponding to the fermenter content in the principal coordinate analysis. There was not a clear division conforming to the diet. In the top ten phyla, only, the *Spirochaetes* relative abundance was higher in PM diet than in O diet (3.62% vs. 1.73%; respectively, $P_{\text{adjusted}} = 0.009$). The inclusion of olive cake in the dairy sheep diet did not affect the diversity and the most abundant phyla when these diets were fermented in a Rusitec system.

Keywords: olive cake, sheep, MiSeq sequencing, Rusitec

SUBPRODUCTOS DE LA GRANADA EN LA DIETA DE RUMIANTES: CUANDO LOS PROPIOS TANINOS PROTEGEN A LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA BIOHIDROGENACIÓN EN EL RUMEN

Natalello, A.^{1,2}, Hervás, G.¹, Toral, P.G.¹, Luciano, G.², Valenti, B.², Mendoza, A.G.¹, Pauselli, M.³, Priolo, A.² y Frutos, P.^{1*}

¹Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Univ. de León), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España. ²Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali (Di3A), Universidad de Catania, Via Valdisavoia 5, 95123, Catania, Italia. ³Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali (DSA3), Universidad de Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06123, Perugia, Italia; * p.frutos@csic.es

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de granadas (*Punica granatum* L.) en numerosos países, y especialmente de su zumo, está llevando a un llamativo aumento de sus subproductos, lo cuales son ricos en compuestos bioactivos.

En concreto, las semillas de este fruto contienen una alta concentración de ácido linoléico conjugado (CLnA, principalmente ácido punícico, c9t11c13 18:3), un ácido graso con propiedades beneficiosas para los consumidores muy infrecuente en alimentos vegetales (Lansky y Newman, 2007).

El resto (pulpa y pieles, incluida la corteza) tiene una considerable cantidad de taninos, la mayoría elagitaninos (Kýralan et al., 2009). Estos compuestos fenólicos podrían proteger a los ácidos grasos insaturados más saludables de su hidrogenación en el rumen (Vasta y Luciano, 2011; Carreño et al., 2015).

Por lo tanto, la inclusión de unos u otros subproductos en la dieta puede dar lugar a variaciones significativas en los procesos ruminales y en los metabolitos que pasen después al intestino y a los productos finales.

En este trabajo se analizó el efecto de la inclusión en la dieta de ovejas de 3 subproductos de la granada (las semillas, la pulpa más pieles, y el subproducto completo tras la extracción del zumo) sobre la biohidrogenación ruminal *in vitro* de los ácidos grasos (BH), con el objetivo final de incrementar el contenido de ácidos grasos (AG) potencialmente saludables que aparezcan finalmente en la carne o la leche de rumiantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo mediante cultivos no renovados de microorganismos ruminales, para lo cual se contó con tres ovejas merinas canuladas en el rumen (PV = 65 ± 3,2 kg) como donantes del inóculo. Estos animales se alimentaron con una ración completa mezclada (TMR) basada en heno de alfalfa y concentrado (ratio F:C 50:50).

Como sustrato para los cultivos se utilizaron 4 dietas: la TMR que consumían las ovejas (control, **C**) y, sobre MS, un 80% de dicha TMR más un 20% del subproducto completo de la granada, una vez extraído el zumo (**G**), de semillas (**SG**) o de pulpa y pieles (**PPG**).

En cada botella se pesaron 500 mg de sustrato (10 mg/mL de líquido ruminal tamponado). El fluido tamponado se preparó con una relación 1:4 entre fluido ruminal, extraído de las ovejas antes de la comida de la mañana y filtrado a través de una membrana de nailon de 400 µm, y saliva artificial (Goering y Van Soest, 1970).

Las incubaciones se realizaron a 39,5 °C, duraron 24 horas y se repitieron 3 días diferentes (=réplicas). Una vez detenida la fermentación, las muestras de digesta se congelaron inmediatamente a -80°C y después se liofilizaron (Carreño et al., 2015).

La composición de AG se determinó por cromatografía de gases siguiendo la metodología descrita por Shingfield et al. (2003) y Toral et al. (2017), pero con una temperatura menor (40°C) en la metilación ácida para evitar problemas relacionados con la isomerización de los CLnAs.

El contenido de taninos se analizó siguiendo el método del Folin-Ciocalteu en combinación con polivinil-pirolidona, con ácido tánico como estándar de referencia (Makkar, 2003).

Los resultados se analizaron mediante ANOVA utilizando el procedimiento MIXED del SAS 9.4 (SAS Inst. Inc., EE. UU.). El modelo incluyó el efecto fijo de la dieta y el aleatorio de la tanda de incubación. Las medias se ajustaron para comparaciones múltiples usando el método de Bonferroni.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla 1, el contenido más elevado de CLnAs se detectó en las semillas de granada, donde representaban más del 60% del total de ácidos grasos antes de la incubación. A estos isómeros conjugados se les atribuyen propiedades beneficiosas para la salud de los consumidores. Por ejemplo, Tsuzuki et al. (2004) señalaron un efecto antitumoral más potente que el del ácido linoleico conjugado (CLA).

La mayor proporción de $\Delta 11,13$ CLA y de ácido vaccénico (VA, $t11$ 18:1) en el tratamiento SG, con un valor intermedio en G, sugiere que estos metabolitos derivan de la saturación de los CLnAs presentes en las semillas. Por otro lado, la concentración de ácido ruménico (RA, $c9t11$ CLA) no difirió entre el control y los tratamientos SG y G, pero fue significativamente superior en PPG, lo que podría indicar que la BH se vio más limitada en este tratamiento. Esto coincidiría con el efecto inhibidor de los taninos sobre la biohidrogenación ruminal, como se ha mostrado en trabajos previos (Vasta y Luciano, 2011; Carreño et al., 2015). El contenido de estos compuestos fenólicos en PPG (44,7 g/kg MS, en equivalentes de ácido tánico, en comparación con los 2,4 g en el control), podría haber afectado negativamente a la actividad de los microorganismos del rumen implicados en la BH de los AG insaturados de la dieta. Esta hipótesis estaría apoyada por la alta proporción de ácidos linoleico ($c9c12$ 18:2) y linoléico (18:3n-3) encontrados en este mismo tratamiento (PPG).

Tabla 1. Perfil parcial de la digesta ruminal (g/100 g AG) después de 24 h de incubación *in vitro* de 4 dietas: C= TMR control, G= 80% TMR + 20% del subproducto completo de la granada, SG= 80% TMR + 20% de semillas y PPG=80% TMR + 20% de pulpa y pieles.

	Dieta				eed ¹	Prob ² .
	C	G	SG	PPG		
$t11$ 18:1	4,54 ^c	5,11 ^b	6,88 ^a	4,64 ^c	0,0833	<0,001
$c9c12$ 18:2	1,70 ^c	1,92 ^b	1,11 ^d	2,33 ^a	0,0525	<0,001
$c9t11$ CLA ³	0,093 ^b	0,130 ^{ab}	0,092 ^b	0,162 ^a	0,0141	0,007
$\Sigma \Delta 11,13$ CLA	0,043 ^c	0,324 ^b	0,694 ^a	0,059 ^c	0,0267	<0,001
18:3n-3	0,382 ^b	0,382 ^b	0,214 ^c	0,440 ^a	0,0157	<0,001
$c9t11c13$ 18:3	-	0,217 ^b	0,431 ^a	-	0,0419	0,036
Otros $\Delta 9,11,13$ 18:3	-	0,757 ^b	1,852 ^a	0,141 ^c	0,1641	<0,001
Σ AGPI ⁴	2,82 ^c	4,26 ^{ab}	5,02 ^a	3,73 ^b	0,2088	<0,001

^{abc}Para cada ácido graso, diferentes superíndices indican diferencias significativas.

¹Error estándar de la diferencia. ²Probabilidad. ³Ácido linoleico conjugado. ⁴Ácidos grasos poliinsaturados.

Esto último, junto con el hecho de que la concentración de ácido vaccénico fuera similar en el control y en PPG sugiere que los taninos de la granada, al menos en las condiciones de este ensayo *in vitro*, habrían alterado principalmente los primeros pasos de la BH, algo acerca de lo que aún existe cierta controversia, que ya algunos trabajos indicaban que el efecto inhibidor de los taninos se ejercería fundamentalmente sobre el último paso de la BH (e. g., Buccioni et al., 2011).

Todos los tratamientos con granada mostraron un mayor contenido de AG poliinsaturados que el control, observándose el valor más alto en SG, lo que se atribuye a la cantidad de CLnA en las semillas incubadas.

En conclusión, los subproductos de la granada pueden ser utilizados para aumentar el contenido de ácidos grasos saludables en los productos derivados de los rumiantes (i. e., en la carne y la leche). No obstante, los efectos específicos dependerán del subproducto utilizado.

El hecho de que los taninos de la pulpa y las pieles sirvan para proteger a los PUFA de la dieta, encontrados básicamente en las semillas, frente a la biohidrogenación ruminal,

constituye un buen ejemplo de las posibles interacciones entre compuestos bioactivos y del potencial que ofrecen en la alimentación animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Buccioni, A., et al. 2011. *Animal*, 5: 1521-1530. • Carreño, D., et al. 2015. *Anim. Feed Sci. Technol.* 202: 42-51. • Goering M.K. & Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analysis. *Agriculture handbook* 379. USDA, EE. UU. • Kýralan, M., et al. 2009. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 86: 985-990. • Lansky, E.P. & Newman, R.A. 2007. *J. Ethnopharmacol.* 109: 177-206. • Makkar, H.P.S. 2003. *Small Rumin. Res.* 49: 241-256. • Shingfield, K.J., et al. 2003. *Anim. Sci.* 77: 165-179. • Toral, P.G., et al. 2017. *J. Dairy Sci.* 100: 6187-6198. • Tsuzuki, T., et al. 2004. *Carcinogenesis* 25: 1417-1425. • Vasta, V. & Luciano, G. 2011. *Small Rumin. Res.* 101: 150-159.

Agradecimientos: Este trabajo se financió con fondos del contrato de investigación VATC-20160394. P.G. Toral disfruta de un contrato Ramón y Cajal del MINECO con apoyo del Fondo Social Europeo.

POMEGRANATE BY-PRODUCTS IN RUMINANT DIET: WHEN THE OWN TANNINS PROTECT THE FATTY ACIDS FROM RUMINAL BIOHYDROGENATION

ABSTRACT: Pomegranate (*Punica granatum* L.) seeds contain a high concentration of conjugated linolenic acids (CLnA; especially *c9t11c13* 18:3), while residual peels and pulps include tannins. This study investigated the effect of including three pomegranate by-products in sheep diet on *in vitro* rumen biohydrogenation (BH) of fatty acids (FA). Four diets were incubated *in vitro*: a TMR (control), and, on a DM basis, 80% TMR plus 20% of either pomegranate seeds (SG), or pomegranate peels and pulps (PPG) or whole pomegranate by-product (G). The results showed that the inclusion of pomegranate by-products in sheep diets increased the content of potentially beneficial fatty acids in the ruminal digesta but specific effects depended on the by-products. The higher proportion of $\Delta^{11,13}$ CLA and vaccenic acid (*t11* 18:1) in the SG treatment suggests that they derive from saturation of the CLnAs present in the seeds (>60% of total FA). The concentration of rumenic acid (*c9t11* CLA) was only significantly greater in PPG, which suggests that BH was limited in this treatment, likely due to the presence of tannins (44.7 g tannic acid equivalents/kg DM). All treatments containing pomegranate by-products showed a higher content of total PUFA than the control. Tannins in PPG and G probably protected dietary PUFA from ruminal BH, representing a clear example of interactions between bioactive compounds.

Keywords: conjugated linolenic acid, pomegranate by-products, rumen biohydrogenation, tannins.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE CANTIDADES CRECIENTES DE BRÓCOLI EN DIETAS PARA OVINO LECHERO SOBRE SU FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*

De Evan, T.¹, Cevallos, A.C.¹, Marcos, C.N.¹, Ranilla, M.J.² y Carro, M.D.¹

¹ Dpto. Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. ² Dpto. Producción Animal, Universidad de León, 24071 León. Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros (León), España; tdeevan@ucm.es

INTRODUCCIÓN

La producción anual de brócoli en España superó las 527.000 toneladas en el 2017, incrementándose así la producción un 10,2% respecto al año anterior (MAPA, 2018). Esto sitúa a España como el mayor productor de brócoli de Europa con un 28,5% de la producción anual (FAOSTAT, 2018). Las inflorescencias son la parte comercial y consumida del brócoli y representan tan solo el 5-35% del material vegetal, por lo que se genera un 65-95% de subproductos. Estos restos suponen una gran cantidad de toneladas y dan lugar a un fuerte impacto ambiental, lo que justifica la necesidad de buscar un aprovechamiento alternativo (Dominguez-Perles et al., 2012). Una posible opción es su utilización en alimentación animal, pero no existen datos de su valor nutritivo, por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de la inclusión de cantidades crecientes de brócoli en una dieta de ovino lechero, sobre su fermentación ruminal *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizó una mezcla de muestras de brócoli obtenidas en diferentes supermercados locales y diferentes materias primas de uso habitual en la alimentación del ganado ovino lechero. Todas las materias primas fueron molidas a 1 mm para los análisis de su composición química (AOAC, 2005) y posterior formulación de las dietas experimentales. Con los resultados obtenidos se formularon 4 dietas (Tabla 1) con una relación heno de alfalfa:concentrado 40:60 y el mismo contenido en proteína bruta (PB; 16,1%) y fibra neutro detergente (FND; 31,5%).

Tabla 1. Ingredientes y composición química de la dieta control (sin brócoli) y las dietas experimentales con brócoli a diferentes niveles (8, 16 y 24% del concentrado).

Item	Control	Br8	Br16	Br24
Ingredientes del concentrado (% materia fresca (MF))				
Brócoli	-	8,0	16,0	24,0
Maíz	32,0	32,0	32,0	32,0
Cebada	30,0	30,0	30,0	30,0
Trigo	15,0	12,5	10,5	8,10
Harina de soja 46	14,0	10,5	7,5	3,9
Salvado de trigo	7,0	5,0	2,0	0,0
Otros ¹	2,0	2,0	2,0	2,0
Composición química de la dieta (g/100g MS, excepto MS)²				
Materia seca (MS)	89,7	89,6	89,6	89,7
Materia orgánica (MO)	93,0	92,3	91,5	90,8
Proteína bruta (PB)	16,1	16,1	16,1	16,1
Fibra neutro detergente (FND)	31,5	31,6	31,6	31,7
Fibra ácido detergente (FAD)	15,9	16,3	16,6	17,0
Extracto etéreo (EE)	4,18	4,29	4,37	4,47

¹ Jabón cálcico (1%), carbonato cálcico (0,5%) y premezcla vitamínico-mineral (0,5%).

² Calculada a partir de la composición analizada en los ingredientes individuales.

El concentrado de la dieta control no contenía brócoli y en los concentrados de las 3 dietas experimentales se incluyeron cantidades crecientes de brócoli desecado: 8 (Br8), 16 (Br16) y 24% (Br24), sustituyendo parcialmente el trigo, la harina de soja 46 y el salvado de trigo. La composición química (en MS, excepto la MS) de la muestra de brócoli fue 89,9% de MS;

87,3% materia orgánica (MO); 34,3% PB; 27,0% FND; 17,8% fibra ácido detergente (FAD) y 6,7% extracto etéreo (EE).

Se realizaron dos incubaciones *in vitro* con líquido ruminal obtenido de cuatro ovejas adultas fistuladas en el rumen y alimentadas con heno de alfalfa y concentrado en proporción 60:40. En primer lugar se incubaron 400 mg de materia seca (MS) de cada dieta en viales de 120 ml, a los que se añadieron 40 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, 11, 14, 22, 26, 30, 34, 48, 58, 72, 96 y 120 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: $Y = PPG (1 - e^{(-c(t - Lag)})$, en el que PPG es la producción potencial de gas, c es el ritmo fraccional de producción de gas, t el tiempo de medida y Lag el tiempo necesario para que comience la producción de gas. Además, se calculó el ritmo medio de producción de gas (RMPG) y la degradabilidad efectiva de la MS para un ritmo de paso del 6% (DEMS₆). Posteriormente se realizó una incubación con el mismo procedimiento experimental, y al cabo de 24 horas, se midieron la producción de gas, CH₄, ácidos grasos volátiles (AGV) y la concentración de NH₃-N. Las concentraciones de CH₄, y AGV se determinaron por cromatografía de gases y las concentraciones de NH₃-N mediante un método colorimétrico según los procedimientos descritos por García-Martínez et al., 2005). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza mixto (PROC MIXED, SAS), incluyendo la dieta como efecto fijo y el inóculo como efecto aleatorio. Adicionalmente, se estudiaron los efectos lineales y cuadráticos de la inclusión de brócoli en cantidades crecientes en las dietas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó un aumento lineal del RMPG (P=0,014) y una tendencia (P=0,061) a aumentar la DEMS₆ al aumentar la cantidad de brócoli en la dieta (Tabla 2). Además el aumento de la cantidad de brócoli en la dieta provocó un aumento cuadrático de la PPG (P=0,046), siendo más alta en la dieta Br16 que en la dieta control. La degradación del sustrato está relacionada directamente con la producción de gas (France et al., 2000), lo que indicaría que las dietas con brócoli se degradaron en mayor medida que la dieta control.

Por otro lado, se observó un aumento lineal en la producción total de ácidos grasos volátiles (AGV), en la proporción molar de acético y en la relación Ac/Pr (P<0,001) a medida que aumentó la cantidad de brócoli en la dieta. Sin embargo, las proporciones molares de propiónico y butírico sufrieron un descenso lineal (P<0,05). La concentración de NH₃-N aumentó de forma lineal (P=0,002) al aumentar la cantidad de brócoli, lo que indicaría que la proteína del brócoli se degradó ampliamente en el rumen. Estos resultados concuerdan con los observados por Meneses et al. (2002), quienes encontraron que la digestibilidad de la proteína del brócoli es muy elevada (83%). No hubo diferencias significativas entre dietas en la producción de metano.

En resumen, la inclusión de cantidades crecientes de brócoli secado en una dieta para ovino lechero a niveles del 16 y 24% de la materia fresca (MF) del concentrado aumentó el ritmo de degradación de la dieta y la cantidad total de AGV producidos. Estos aumentos indicarían que el animal puede obtener una mayor cantidad de energía a partir de los AGV. La inclusión de brócoli al nivel de 8% apenas afectó a la fermentación ruminal *in vitro* de la dieta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• AOAC. 2005. Official Method of Analysis. 18th Edition, AOAC, Washington DC. • Domínguez-Perles, et al. 2012. Grupo THM. Disponible en: <http://publicaciones.poscosecha.com/es/poscosecha/8-alimentacion-y-sostenibilidad-aprovechamiento-de-los-subproductos-del-brocoli-para-uso-industrial.html>. • FAOSTAT. 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data>. • France, J. et al. 2000. Br. J. Nutr. 44: 143–50. • García-Martínez, R. et al. 2005. Br. J. Nutr. 94: 71-77 • Goering, H. K., Van Soest, P. J. 1970. Agriculture Handbook No. 379, Agricultural Research Service-USDA, Washington, D.C. • MAPA. 2018. Producciones horticolas-frutas y Hortalizas. Disponible en (11/01/2019): www.mapa.gob.es/estadistica/pags/anuario. • Meneses, M. 2002. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Murcia, España. pp: 187-190.

Tabla 2. Parámetros de producción de gas y fermentativos de la dieta control (sin brócoli) y las dietas experimentales con brócoli a diferentes niveles (8, 16 y 24% del concentrado).

Parámetros ¹	Control	Br8	Br16	Br24	EEM ²	P=	
						Lineal	Cuadrático
Producción de gas							
PPG(ml/g MS)	280 ^a	285 ^{ab}	290 ^b	282 ^a	2,8	0,431	0,046
c (%/h)	3,90	3,90	4,00	4,00	0,000	0,119	0,823
Lag (h)	1,10	0,93	0,90	0,76	0,129	0,102	0,881
RMPG (ml/h)	7,40 ^a	7,57 ^{ab}	7,91 ^b	7,77 ^b	0,107	0,014	0,195
DEMS ₆ (%)	36,1	35,7	36,0	36,9	0,29	0,061	0,075
Fermentativos							
Total AGV (μmol/vial)	2446 ^a	2489 ^a	2537 ^b	2572 ^b	13,4	<0,001	0,787
Proporciones molares (mol/100 mol)							
Acético (Ac)	61,5 ^a	62,0 ^{ab}	62,4 ^b	62,5 ^b	0,18	<0,001	0,300
Propiónico (Pr)	18,7 ^b	18,6 ^b	18,5 ^{ab}	18,2 ^a	0,10	0,004	0,338
Butírico	15,5 ^b	15,2 ^a	15,0 ^a	15,0 ^a	0,15	0,026	0,287
Otros AGV ³	4,27 ^b	4,15 ^{ab}	4,13 ^a	4,27 ^b	0,043	0,996	0,028
Ac/Pr (mol/mol)	3,31 ^a	3,36 ^{ab}	3,41 ^{bc}	3,46 ^c	0,025	<0,001	0,777
NH ₃ -N (mg/l)	274 ^a	282 ^{ab}	289 ^{bc}	296 ^c	3,8	0,002	0,865
CH ₄ (ml)	14,9	15,0	15,6	14,9	0,31	0,742	0,238

¹ PPG: producción potencial de gas; c: ritmo fraccional de producción de gas; Lag: tiempo hasta que empieza la producción de gas; RMPG: ritmo medio de producción de gas; DEMS₆: degradabilidad efectiva de la materia seca para un ritmo de paso del 6,0%. ² EEM: error estándar de la media.

³ Calculados como la suma de los ácidos isobutírico, isovalérico, valérico y caproico.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2016-75322-C2-1-R y AGL2016-75322-C2-2-R financiados por el MINECO.

IN VITRO RUMINAL FERMENTATION OF DAIRY SHEEP DIETS INCLUDING INCREASING AMOUNTS OF BROCCOLI

ABSTRACT: The objective of this study was to assess the effects of replacing increasing proportions of cereals by broccoli in a dairy sheep diet on *in vitro* ruminal fermentation. Four concentrates were formulated: a control concentrate (without broccoli) and 3 concentrates that included dried broccoli at 8, 16 and 24% (dry matter (DM) basis) replacing wheat and soybean meal. All diets had 40:60 alfalfa hay:concentrate and the same content of crude protein (16.1%) and neutral detergent fiber (31.5%). Two *in vitro* incubations were carried out with sheep ruminal liquid to determine gas production kinetics and fermentative parameters. A linear increase in average gas production rate ($P = 0.014$), a quadratic increase in the potential gas production ($P = 0.046$) and a linear increase in total volatile fatty acids production, molar proportion of acetate and acetate/propionate ratio ($P < 0.001$) were observed when the amount of broccoli augmented in the diets. In addition, a trend ($P = 0.061$) to increased DM effective degradability was detected. Molar proportions of propionate and butyrate showed a linear decrease as the amount of broccoli increased in the diet ($P < 0.05$). In conclusion, including 16 or 24% of dried broccoli in a concentrate for dairy sheep increased the ruminal degradation rate and the production of volatile fatty acids.

Keywords: Ruminal fermentation, gas production, dairy sheep, broccoli.

EVALUACIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE ENSILADO DE ORUJO DE UVA MEDIANTE LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*

¹Barraso, C., ²Hernandez, T., ¹López, M^a.M., ²Chaso, M.A. y ²Rodríguez, P.

¹Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Finca La Orden-Valdesequera, CICYTEX. ²Facultad de Veterinaria. UNEX.; cbgil93@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los gases de efecto invernadero: CO₂, CH₄, NO₂ se han incrementado en las últimas décadas debido a las distintas actividades del hombre, entre ellas, la agricultura. Dicha labor, genera un 10% de las emisiones totales (CONAMA 2014). Dentro de este porcentaje, un tercio corresponde al CH₄ procedente de la fermentación entérica, principalmente de ovino y vacuno, debido a su elevado censo (Gerber *et al.*, 2013). Este ganado libera más CH₄ en la etapa de mayor consumo de alimento, debido a la adaptación de su aparato digestivo para fermentar la fibra (McDonald *et al.*, 2010). Son varias las estrategias posibles para la mitigación de CH₄ a nivel entérico. Desde el punto de vista de la alimentación hay que considerar el importante papel que juegan los compuestos polifenólicos (taninos), capaces de inhibir la producción de CH₄ a nivel ruminal (Carrulla *et al.*, 2005). El orujo de uva, es un subproducto resultante de la elaboración del vino, con alto contenido en taninos (Spanghero *et al.*, 2009). En 2018, España registró una producción de 2.909.731 Tm de uva (MAPAMA). Teniendo en cuenta que el orujo presenta un 13% en peso de uva fresca (Cáceres *et al.*, 2011), podemos estimar que la producción bruta de orujo sería de 378.265 Tm aproximadamente. Debido a esa alta cantidad de subproductos generados ricos en taninos, se plantea como idea determinar la producción de CH₄ de diferentes variedades de ensilado de orujo de uva mediante el proceso de fermentación *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio de fermentación *in vitro* se ha llevado a cabo sobre cuatro variedades de ensilado de orujo de uva, dos tintas (*Graciano* y *Merlot*), y dos blancas (*Pardilla* y *Montúa*). Las muestras fueron desecadas y molidas. Se analizó el contenido en cenizas, grasa bruta, proteína bruta, fibra bruta, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente (BOE, 1995). La producción de gas se determinó según Menke *et al.* (1979), mediante jeringas de vidrio. Como fuente de inóculo se emplearon heces frescas de ovino (El Saher *et al.*, 1987). Se fabricó la saliva artificial y el líquido fecal (mezcla homogénea de saliva artificial y heces frescas), siguiendo lo propuesto por Aghajanzadeh *et al.*, (2015). Se realizaron 4 ensayos (uno para cada variedad de ensilado de orujo), cada uno de ellos compuesto por 12 jeringas con 30ml de líquido fecal, de las cuales, 2 ejercen de "blancos" (sin ningún tipo de sustrato), 2 de "testigo", cuyo sustrato es 0,2g de cebada y las 8 restantes contenían 0,2g de ensilado de orujo de las variedades de estudio. Se incubaron a 39°C durante 96 horas, midiendo el avance del émbolo a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72, y 96 horas (El-Meadaway *et al.*, 1998; Rasouli, *et al.*, 2016). Las curvas de producción de gas se modelizaron siguiendo el modelo de Mc Donald (1981) [$P = a + b(1 - e^{-c(t-t_0)})$]. Finalmente se midió el porcentaje de CH₄ en el gas producido mediante un detector específico (GMI-PS200). El efecto del sustrato sobre la producción de gas y CH₄ se ha estudiado mediante un análisis de varianza y una prueba de Tukey mediante el programa SPSS. La modelización de la cinética, se ha efectuado mediante programación Solver de Excel, minimizando los errores para los parámetros la ecuación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 recoge la composición química de los tipos de ensilados de orujos; aunque bastante heterogéneos, son valores habituales en este subproducto (Bernal, 2017; Abarghwei *et al.* 2010; Bahrami *et al.* 2010; Baumgärtel *et al.* 2007). En la Tabla 2, se indican los valores de la cinética de producción de gas, donde podemos observar que la variedad *Pardilla* es la que mayor cantidad de gas produce en las 12 primeras horas, y a partir de las 24 horas, es la variedad *Merlot* la mayor productora de gas. Nuestros valores a las 72 horas de incubación presentan un promedio de 30 cc de gas, encontrándose dentro de los valores propuestos por Blümmel y Orskov (1993) para pajas de cereal. Dado que los ensilados de orujo de uva presentan una composición química mejor que la de una paja de cereal, cabría

esperar una mayor producción de gas. Por lo tanto, los resultados experimentales, avalan la acción inhibitoria de los taninos sobre la fermentación.

La Tabla 3 recoge los parámetros de la ecuación propuesta por McDonald 1981 [$P = a + b (1 - e^{-c(t-t_l)})$], observándose que los valores de R^2 son muy elevados, lo que indica que el modelo propuesto presenta un ajuste bastante bueno. El tiempo de retraso de inicio de la fermentación (t_l) indicado en la tabla 3, no se corresponde con valores reales, solo sirven para ajustar el modelo numéricamente.

Tabla 1. Composición analítica de los orujos en % sobre materia seca.

med±d.t	CENIZAS	G.B	P.B	F.B	FND	FAD
Graciano	7,65±0,72	8,69±0,38	12,89±0,97	25,90±0,19	53,15±0,06	47,31±0,64
Merlot	8,67±0,72	8,14±0,74	9,79±0,45	25,64±0,55	48,15±3,30	43,36±0,95
Pardilla	4,12±0,0	7,27±0,28	9,62±0,59	30,39±0,45	51,55±0,0	49,96±0,79
Montúa	5,64±0,73	7,97±0,70	11,78±0,13	28,02±0,34	55,99±0,74	53,90±2,22

G.B: grasa bruta. P.B: proteína bruta. F.B: fibra bruta. FND: fibra neutro detergente. FAD: fibra ácido detergente. med±d.t: media ± desviación típica.

Tabla 2. Evolución de la producción de gas en los ensilados experimentales de orujo de uva (cc).

Tiempo incubación (h)	Graciano	Merlot	Pardilla	Montúa
2 (p<0,001)	0,47a±0,11	0,67a±0,16	0,00b±0,00	0,00b±0,00
4 (p<0,001)	1,48a±0,09	1,88a±0,33	5,95b±1,46	2,13a±0,52
6 (p<0,001)	4,65a±0,54	4,88a±0,68	8,02b±0,20	5,73a±0,80
8 (p<0,001)	6,62a±0,90	7,21a±1,43	10,86b±0,31	8,16a±0,53
10 (p<0,001)	8,39a±1,05	9,42a±1,20	13,37b±0,24	9,56a±0,79
12 (p<0,001)	9,30a±1,18	10,37a±1,33	15,71b±0,50	11,15a±0,65
24 (p<0,001)	23,64b±1,21	28,27a±1,82	23,59b±0,96	21,25b±1,62
48 (p<0,01)	29,30ab±2,09	32,83a±3,56	27,54b±1,88	25,63b±1,00
72 (p<0,05)	30,28ab±3,54	33,37a±3,61	28,36a±1,57	25,59b±0,78
96 (p<0,05)	30,37ab±3,51	33,46a±3,58	28,83ab±1,50	27,09±0,79

h: horas. Nota: letras diferentes en la misma fila implica medias estadísticamente distintas.

Tabla 3. Parámetros de la ecuación de modelización propuesta por McDonald (1981) [$P = a + b (1 - e^{-c(t-t_l)})$].

	a	b	c	t_l	R^2
Graciano	4,8495	26,8556	0,0509	6,2119	0,9821
Merlot	6,6610	29,6503	0,0534	6,6749	0,9765
Pardilla	6,6816	21,8941	0,0780	5,1170	0,9956
Montúa	3,9257	23,3690	0,0608	4,9003	0,9951

a: producción de gas a tiempo 0. b: producción potencial de gas. c: constante de degradación del sustrato. t_l : tiempo de retraso de inicio de fermentación.

Tabla 4. Producción de CH_4 en los ensilados experimentales de orujo de uva (% metano/cc gas producido en 96 horas).

	Graciano	Merlot	Pardilla	Montúa	p
Media	0,2414a	0,2556a	0,3385b	0,4065c	<0,001
d,t	0,0351	0,0244	0,0167	0,0269	

d.t: desviación típica.

La producción de metano (tabla 4) muestra diferencias significativas entre las variedades estudiadas, siendo las variedades tintas (*Graciano* y *Merlot*) las menos metanogénicas,

frente a la variedad *Montúa*, que resulta ser la mayor productora de este gas. Por su parte, la variedad *Pardilla* indica una producción intermedia. Autores como Jayanera *et al.*, 2012, concluyen que el incremento de taninos en el alimento disminuye la respuesta inhibitoria de la producción de metano progresivamente (a mayor dosis, menor inhibición proporcional). Las diferencias encontradas en nuestros resultados podrían deberse a la naturaleza de los taninos aportados por cada variedad de uva, a su concentración o incluso a la combinación de ambos efectos.

Como conclusión, podemos determinar que cada variedad de uva presenta una cinética de producción de gas diferente. Las mayores diferencias se observan durante las 12 primeras horas, siendo más degradables los ensilados de orujos de las variedades blancas. Por otro lado, la producción final de metano tras 96 horas de incubación se ve afectada por la variedad de uva, siendo las variedades tintas las que menos cantidad de metano producen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarghwei. 2010. *Livestock Sci* 132: 73-79.
- Aghajanzadeh, A. 2015. *Iranian J of Appl Anim Sci* 5(2): 339-345.
- Bahrami, Y. 2010. *J Animal & Plant Sci* 6(1): 605-610.
- Baumgärtel, T. 2007. *Small Rumi Research*, 67: 302-306.
- Bernal, C. 2017. TFG. *Fac Veterinaria UNEX*.
- BOE 1995. RD 2257/1994.
- Blümmel. 1993. *Anim Feed Sci and Tech*, 40: 109-119.
- Cáceres, C.X 2011 HYFUSEN.
- Carulla, J.E. 2005. *Aust J Agri Res* 56(9) 961-970.
- CONAMA (2014).
- El Shaer, H.M 1987. *J Agricul Sci. Cabri*.109: 257-259.
- El-Meadaway, A 1998. *Canadian J of Anim Sci* 78(4): 673-679.
- Gerber, P. J. 2013. FAO.
- Jayanegara, A. 2012. *J of Anim Physiology and Anim Nut*, 93: 365-375.
- MAPAMA
- McDonald, P 2010 *Animal Nut* (7th Ed.).
- McDonald, I. 1981. *J Agricult Sci* 96(1): 251-252.
- Menke, K.H.1979. *J Agricul Sci Cambri*.93(1): 217-222.
- Rasouli, B. 2016. *Environ Resour Research*, 4(2): 141-152.
- Spanghero, M.2009. *Anim Feed Sci Tech*152:243-255.

Agradecimientos: trabajo financiado por el proyecto “Disminución de la huella de metano por inclusión de polifenoles vitivinícolas en la alimentación de rumiantes. Monitorización de su efecto en el bienestar de los animales durante el cebo de terneros” (RUMIMETA) AA-16-0082-2.

EVALUATION THE DIFFERENTS TYPE OF SILAGE GRAPE MARC BY TECHNIQUE PRODUCTION GAS *IN VITRO*.

ABSTRACT: The aim of this study was to determine the effect on *in vitro* gas and methane production fermentation of four varieties of grape marcs (red varieties: *Graciano*, *Merlot*. White varieties: *Pardilla*, *Montúa*). The *in vitro* fermentation was carried out in glass syringes. The source of inoculums was fresh faeces from sheeps and the substrates were the varieties of grape marcs. The kinetics of gas production was studied according the model suggested by McDonald (1981) and the methane was determined by specific detector of methane gas. The results obtained indicate that the different varieties of grape marcs have different gas production kinetics, finding the most differences in the first 12 hours. By the other hand, the red varieties produce less methane.

KEYWORDS: grape marcs, gas production, methane production.

EFFECTO DE LA INMUNOCASTRACIÓN Y LA DIETA SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS, LOS METABOLITOS SÉRICOS Y LA CALIDAD DE LA CANAL DE CERDOS DESTINADOS A JAMÓN DOP TERUEL

Pérez-Ciria¹, L., Miana-Mena², F.J., Amanzougarene¹, Z., Yuste¹, S. y Latorre¹, M.A.

¹Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (Universidad de Zaragoza-CITA). 50013 Zaragoza.

²Dpto. Farmacología y Fisiología. Universidad de Zaragoza. 50013 Zaragoza.

E-mail: leticiapcgm@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los cerdos destinados a la Denominación de Origen Protegida (DOP) Jamón de Teruel deben alcanzar un elevado peso al sacrificio (en torno a 130 kg) para poder cumplir con la calidad requerida. En este contexto, la castración de los machos se convierte en una necesidad para evitar el olor sexual en su carne y, de hecho, es una de las requerimientos recogidos en el Reglamento de la DOP (BOA, 2017). El método quirúrgico es el empleado tradicionalmente para ello. Ante la posibilidad de que en la UE pueda llegar a prohibirse dicha práctica, se buscan alternativas, y entre ellas está la inmunocastración. Sin embargo, algunos estudios (Batorek *et al.*, 2012) muestran que los machos inmunocastrados (MIC) tienen un nivel de deposición grasa menor que los castrados quirúrgicamente (MCQ). Esto no interesaría en el caso de la producción de Jamón de Teruel, puesto que se requiere un considerable espesor de cobertura grasa (>16 mm a nivel del músculo *Gluteus medius*-EGGM) para favorecer el proceso de curación de los perniles (Ruíz *et al.*, 2002). Por este motivo, podría ser interesante testar planes de alimentación que favorezcan la deposición grasa. Así pues, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la inmunocastración y de una dieta alta en energía sobre los rendimientos productivos, los metabolitos séricos y la calidad de la canal de cerdos destinados a Jamón DOP Teruel.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 96 cerdos Duroc x (Landrace x Large White) de $35,2 \pm 3,97$ kg de peso vivo (PV), todos machos, que se alojaron en 12 corrales, con 8 animales/corral, según su peso inicial (grandes, medianos y pequeños). La mitad de ellos se castraron quirúrgicamente la primera semana de vida y la otra mitad se inmunocastraron, con Improvac[®], a los 56, 101 y 122 días de vida (aprox. 20, 59 y 80 kg PV, respectivamente). Asimismo, se testaron dos dietas experimentales (A=control vs B=alta en energía) tanto en engorde (80-110 kg) como en finalización (110-137 kg). La dieta A contenía 2.330 kcal de energía neta (EN)/kg y la dieta B 2.480 kcal EN/kg y fueron isoproteicas e isoaminoacídicas dentro de cada periodo. Los piensos se suministraron *ad libitum* en forma de gránulo. Hubo, por tanto, 4 tratamientos experimentales con 2 tipos de castración y 2 dietas. En la granja se pesaron individualmente todos los animales para calcular la ganancia media diaria (GMD): a los 22 d de administrar la primera dosis de Improvac[®], al aplicar la segunda y la tercera vacuna (esta última coincidiendo con el suministro del pienso de engorde), al cambiar al pienso de finalización y el día previo al sacrificio. También se controló la ingestión de pienso, por corral, a partir del pienso suministrado y del residuo sobrante durante los periodos de engorde y finalización para calcular el consumo medio diario (CMD). A partir de la GMD y el CMD se calculó el índice de conversión (IC) por corral. Además, se tomaron muestras de sangre de la yugular de cuatro cerdos por tratamiento elegidos al azar (siempre los mismos) al final del engorde y el día previo al sacrificio, con la finalidad de determinar las concentraciones de albúmina, urea, triglicéridos y colesterol. Cuando los animales alcanzaron aprox. 137 kg PV fueron sacrificados. En el matadero, de 15 animales por tratamiento, elegidos al azar, se tomaron las siguientes medidas: peso de la canal, EGGM y longitud, anchura y peso del jamón. Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS 9.4. (2016) como un modelo factorial (2 tipos de castración x 2 dietas). En el caso de los rendimientos productivos, se incluyó en el modelo el peso de los animales como bloque. La unidad experimental fue el corral para los rendimientos productivos (n=3) y el animal para los metabolitos séricos (n=4) y para los parámetros de canal (n=15). Las medias se separaron mediante un *t*-test y se consideró que la diferencia era estadísticamente significativa cuando $P < 0,05$ y como una tendencia cuando $0,05 < P < 0,10$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se detectó ninguna interacción significativa, en ningún parámetro, entre el tipo de castración y la dieta ($P>0,10$), por lo que los resultados se presentan como efectos principales. Desde el día 22 post-aplicación de la 1ª dosis de Improvac® hasta la administración de la 3ª dosis (35-80 kg PV) no hubo diferencias ($P>0,10$) en el crecimiento entre MCQ y MIC (Tabla 1). Durante la fase de engorde (80-110 kg PV), las ganancias de peso de ambos grupos siguieron siendo similares ($P>0,10$), pero los MIC tendieron a presentar mejor IC ($P=0,085$) que los MCQ. En la fase de finalización (110-137 kg PV), los MIC crecieron más rápido ($P=0,011$) sin verse afectado el IC ($P>0,10$). En el periodo global (engorde + finalización), los MIC mostraron mayor GMD ($P=0,005$) y mejor IC ($P=0,0002$) que los MCQ, resultados similares a los obtenidos por Nautrup *et al.* (2018). Por otro lado, al final del experimento, los animales que consumieron la dieta B tendieron a ingerir menos pienso ($P=0,080$) y resultaron más eficientes convirtiendo el alimento en peso ($P=0,001$) que los que consumieron el pienso A, resultados que concuerdan con los obtenidos por Clarke *et al.* (2018). Las diferencias en el CMD, debidas a la dieta, fueron más notorias en la fase de engorde ($P=0,058$) mientras que las detectadas en el IC se apreciaron más en la fase de finalización ($P=0,020$). En cuanto a los metabolitos séricos (Tabla 2), sólo el colesterol se vio afectado, y únicamente al final del engorde (aprox. 110 kg PV); los MIC presentaron mayor concentración en sangre que los MCQ ($P=0,025$). En lo relativo a la calidad de la canal (Tabla 3), los MIC mostraron canales más ligeras ($P=0,022$) y menor rendimiento de canal ($P=0,021$) y EGGM ($P=0,001$) que los MCQ, lo que confirmaría el trabajo de Nautrup *et al.* (2018). Asimismo, los MIC tuvieron jamones menos pesados ($P=0,050$), probablemente debido al menor peso de la canal, sin verse afectadas las dimensiones y el rendimiento de los mismos ($P>0,10$). Los animales que fueron alimentados con la dieta B mostraron jamones más largos ($P=0,037$) y tendieron a presentar mayor peso y rendimiento de canal y EGGM ($P<0,10$) que los que consumieron la dieta A. Otros autores, sin embargo, no encontraron efecto de la energía dietaria en la calidad de la canal (Clarke *et al.*, 2018).

Podemos concluir que los MCQ serían preferibles a los MIC, para la DOP Jamón de Teruel, puesto que presentan mayor engrasamiento de la canal pero muestran peores rendimientos productivos. Por otra parte, una dieta alta en energía podría ser interesante porque mejora el IC y tiende a incrementar el nivel de deposición grasa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Batorek *et al.* 2012. *Animal* 6: 1330-1338.
- BOA 2017. Boletín Oficial de Aragón 223: 32778-32795.
- Clarke *et al.* 2018. *Animal Feed Science and Technology* 242: 77-85.
- Nautrup *et al.*, 2018. *Research in Veterinary Science* 119: 182-195.
- Ruiz *et al.* 2002. *Meat Science* 61: 247-254.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España (Proyecto AGL2016-78532-R).

IMPACT OF IMMUNOCASTRATION AND DIET ON GROWTH PERFORMANCE, SERUM METABOLITES AND CARCASS QUALITY OF MALE PIGS

ABSTRACT: A trial was carried out to study the effect of immunocastration and feeding in pigs intended for the elaboration of Teruel dry-cured ham. A total of 96 Duroc x (Landrace x Large White) male pigs of 35.2 ± 3.97 kg body weight were used; half of them were surgically castrated and the other half was immunocastrated. Also, two experimental diets (control-A vs high energy level-B) were tested from 80 to 137 kg body weight. Variables related with growth performances, serum metabolites and carcass quality were evaluated. It can be concluded that surgically castrated males would be more desirable than immunocastrated males because the level of fat thickness in their carcasses is higher, although their growth performances are worse. Also, a high energy level in the diet might be interesting because it improves the feed conversion ratio and tends to increase the fat deposition.

Keywords: immunocastration, dietary energy level, male pigs.

Tabla 1. Efecto de la inmunocastración y de la dieta sobre los rendimientos productivos de cerdos destinados a Jamón DOP Teruel^a

	Castración ^b		Dieta ^c		EEM ^d (n=6)	Significación ^e	
	MCQ	MIC	A	B		Castración	Dieta
GMD 35-59 kg ^f , kg/d	1,022	1,009	1,007	1,024	0,0158	NS	NS
GMD 59-80 kg ^g , kg/d	1,026	1,024	1,022	1,028	0,0301	NS	NS
Periodo de engorde (80-110 kg)							
GMD, kg/d	1,015	1,112	1,100	1,027	0,0373	NS	NS
CMD, kg/d	3,28	3,34	3,45	3,17	0,0857	NS	0,058
IC	3,23	3,01	3,15	3,10	0,0753	0,085	NS
Periodo de finalización (110-137 kg)							
GMD, kg/d	0,834	0,967	0,862	0,938	0,0260	0,011	0,085
CMD, kg/d	3,21	3,45	3,41	3,25	0,0914	NS	NS
IC	3,85	3,59	3,95	3,49	0,1035	NS	0,020
Periodo global (80-137 kg)							
GMD, kg/d	0,918	1,036	0,980	0,974	0,0192	0,005	NS
CMD, kg/d	3,24	3,39	3,43	3,20	0,0744	NS	0,079
IC	3,53	3,27	3,50	3,30	0,0229	0,0002	0,001

^aGMD: ganancia media diaria; CMD: consumo medio diario; IC: índice de conversión. ^bMCQ: machos castrados quirúrgicamente; MIC: machos inmunocastrados. ^cA: control (2.330 kcal EN/kg); B: alta en energía (2.480 kcal EN/kg). ^dEEM: error estándar de la media (3 corrales/tratamiento de 8 cerdos/corral). ^eNS: $P>0,10$. No se detectaron interacciones significativas tipo de castración x dieta ($P>0,10$). ^fDesde el día 22 tras la aplicación de la 1ª dosis hasta la aplicación de la 2ª dosis de Improvac[®]. ^gDesde la aplicación de la 2ª dosis hasta la aplicación de la 3ª dosis.

Tabla 2. Impacto de la inmunocastración y de la dieta sobre metabolitos séricos de cerdos destinados a Jamón DOP Teruel.

	Castración ^a		Dieta ^b		EEM ^c (n=8)	Significación ^d	
	MCQ	MIC	A	B		Castración	Dieta
Al final del periodo de engorde (110 kg)							
Albúmina, g/dl	3,24	3,37	3,28	3,33	0,122	NS	NS
Urea, mg/dl	32,1	30,6	32,6	30,1	1,988	NS	NS
Triglicéridos, mg/dl	62,5	54,6	49,1	68,0	9,156	NS	NS
Colesterol, mg/dl	64,3	80,1	71,0	73,4	4,393	0,025	NS
Al sacrificio (137 kg)							
Albúmina, g/dl	4,95	4,62	4,80	4,77	0,156	NS	NS
Urea, mg/dl	41,6	35,1	41,5	35,3	3,382	NS	NS
Triglicéridos, mg/dl	43,8	46,3	43,8	46,3	6,039	NS	NS
Colesterol, mg/dl	106,9	114,5	110,8	110,6	5,347	NS	NS

^aMCQ: machos castrados quirúrgicamente; MIC: machos inmunocastrados. ^bA: control (2.330 kcal EN/kg); B: alta en energía (2.480 kcal EN/kg). ^cEEM: error estándar de la media (se utilizaron 4 cerdos/tratamiento elegidos al azar). ^dNS: $P>0,10$. No se detectó ninguna interacción significativa tipo de castración x dieta ($P>0,10$).

Tabla 3. Efecto de la inmunocastración y de la dieta sobre la calidad de la canal de cerdos destinados a Jamón DOP Teruel.

	Castración ^a		Dieta ^b		EEM ^c (n=30)	Significación ^d	
	MCQ	MIC	A	B		Castración	Dieta
Peso sacrificio, kg	134,2	135,5	132,9	136,8	1,48	NS	0,067
Peso canal, kg	105,5	102,8	103,2	105,2	0,81	0,022	0,094
Rendimiento de canal, %	78,4	76,3	76,5	78,2	0,62	0,021	0,071
Espesor grasa m.GM ^e , mm	23,9	20,3	21,2	23,0	0,71	0,001	0,076
Longitud jamón, cm	39,8	39,5	39,3	40,0	0,23	NS	0,037
Anchura jamón, cm	78,3	78,3	78,4	78,2	0,34	NS	NS
Peso jamón, kg	13,4	13,0	13,2	13,2	0,11	0,050	NS
Rendimiento jamón, % canal	12,7	12,7	12,8	12,6	0,13	NS	NS

^aMCQ: machos castrados quirúrgicamente; MIC: machos inmunocastrados. ^bA: control (2.330 kcal EN/kg); B: alta en energía (2.480 kcal EN/kg). ^cEEM: error estándar de la media (se utilizaron 15 cerdos/tratamiento elegidos al azar). ^dNS: $P>0,10$. No se detectó ninguna interacción significativa tipo de castración x dieta ($P>0,10$). ^em.GM: músculo *Gluteus medius*.

INTERÉS DEL ALBERJÓN (*Vicia narbonensis*) EN ALIMENTACIÓN DE CERDO GRASO. DATOS PRODUCTIVOS

Gómez-Izquierdo¹, E., Ciruelos¹, J.J., Tomás¹, C., Guillamón², E., Varela³, A., Martín-Pedrosa³, M., López-Nuez⁴, P., Latorre⁵, M.A. y de Mercado¹, E.

¹Centro de Pruebas de Porcino del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Consejería de Agricultura y Ganadería. Ctra. Riaza a Toro s/n, 40353Hontalbilla, Segovia.

²Centro para la Calidad de los Alimentos, INIA, Campus Universitario Duques de Soria, 42004 Soria. ³Departamento de Tecnología de los Alimentos, INIA, Ctra. A Coruña km 7,5, 28040 Madrid. ⁴Copiso Soria Sociedad Cooperativa, Av. Valladolid 105, 42005 Soria. ⁵Dpto.

Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Avda. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. Email: gomizqem@itacyl.es

INTRODUCCIÓN

Los alberjones (*Vicia narbonensis*) (Alb) son leguminosas de grano, originarias de la cuenca mediterránea, de interés agronómico por su adaptación a condiciones adversas, resistencia a patologías y rendimiento (Franco Jubete y Ramos, 1996; Firincioglu *et al.*, 2012). Nutricionalmente presentan unos niveles altos de proteína, que pueden llegar al 30%, y de aminoácidos azufrados (Tate & Enneking, 2006). Contienen un factor antinutritivo que puede limitar su inclusión en dietas de porcino, el dipéptido γ -Glutamyl-S-Ethenyl-Cysteine (GEC), presente en los cotiledones, que transmite un sabor azufrado al pienso afectando a la palatabilidad (Enneking, 1995; Muzquiz *et al.*, 2004; Muzquiz, 2012). Hay muy pocas referencias de su utilización en piensos, que difieren en sus resultados, mejorando o empeorando el rendimiento de los cerdos según el porcentaje de GEC en la semilla (Enneking & Wink, 2000; Arias Royo *et al.*, 2006; Gómez-Izquierdo *et al.*, 2018). En el presente estudio se han valorado los resultados productivos de cerdos grasos alimentados con distintos niveles de inclusión de una variedad de Alb con 1,52% de GEC en el grano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 192 cerdos, todos machos castrados, que iniciaron el ensayo con 61 días de edad ($20,9 \pm 1,39$ kg) finalizando con 171 días de edad ($114 \pm 5,49$ kg). Los animales experimentales fueron alojados en cuatro salas, provistas con 12 departamentos por sala y cuatro cerdos en cada uno, con cama de paja, tolva tipo holandés y un bebedero de chupete ($1,40$ m² por cerdo). Las condiciones ambientales se controlaron automáticamente durante todo el periodo experimental, siendo la temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y la humedad relativa de $55 \pm 20\%$. El diseño fue en bloques completos al azar, con cuatro tratamientos según el porcentaje de inclusión de Alb en el pienso: 0, 5, 15 ó 25%; con cuatro bloques, ocho réplicas por tratamiento y cuatro cerdos por réplica. Los piensos (Tabla 1) fueron isoproteicos e isoenergéticos (2,45 Mcal/kg) y se administraron *ad libitum* en gránulo de 4 mm. La cantidad de GEC se valoró con la técnica de Sánchez-Vioque *et al.* (2011).

Tabla 1. Ingredientes principales y análisis calculado de las dietas experimentales (%)

Ingredientes	Estárter: 60-82 d				Crecimiento: 83-110 d				Cebo: 111-152 d				Acabado: 153-171 d			
	0%	5%	15%	25%	0%	5%	15%	25%	0%	5%	15%	25%	0%	5%	15%	25%
Soja 47	12,5	10,7	8,2	6,2	15,5	13,7	10,3	8,3	10,9	9,2	5,7	2,3	8,7	6,9	3,3	0,2
Alberjón	-	5,0	15,0	25,0	-	5,0	15,0	25,0	-	5,0	15,0	25,0	-	5,0	15,0	25,0
Cebada	45,9	43,0	35,9	28,2	52,6	49,7	43,4	35,6	57,8	54,7	48,6	42,3	60,6	57,6	51,6	44,8
Trigo	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
SE ¹	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Otros ²	12,6	12,3	11,9	11,6	7,9	7,6	7,3	7,1	7,3	7,1	6,7	6,4	6,7	6,5	6,1	6
Análisis calculado																
Cenizas	6,5	5,5	5,4	5,8	4,23	4,74	5,26	4,51	3,59	3,69	4,37	3,67	4,21	3,67	3,78	3,60
PB ³	18,9	18,1	18	18,3	14,8	14,8	14,7	14,9	14,5	14,3	14,4	14,1	13,0	12,8	12,9	12,8
GB ⁴	5,3	5,2	5,5	5,2	4,80	5,20	4,15	5,00	4,43	4,79	4,67	4,29	4,83	4,58	4,68	4,62

¹SE: soja extrusionada. ²Otros: grasa mezcla (3,2%), compuestos vitamínico-minerales y aminoácidos sintéticos. ³PB: proteína bruta. ⁴GB: grasa bruta.

Los datos productivos se analizaron mediante los procedimientos GLM y REG del SAS® 9.1 (2004), siendo el pienso el efecto principal y el peso inicial (P0) la covariable. Se realizó un análisis de covarianza con el siguiente modelo: $Y_{ij} = \mu + \text{Pienso}_i + \alpha P0 + \varepsilon_{ij}$, donde: Y: variable productiva (pesos -P-, ganancia media diaria -GMD-, consumo medio diario -CMD-, índice de conversión -IC-), μ : media general, pienso: 0, 5, 15 y 25% de Alb, α : coeficiente de regresión parcial entre la covariable (peso inicial P0) e Y, ε : error residual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el periodo estándar (Tabla 2) los cerdos alimentados con la dieta que contenía 5% de Alb tuvieron los mayores CMD y GMD ($P < 0,05$) estando igualados los cerdos del 0 y del 15%; el IC fue igual para estas tres dietas. Los cerdos que comieron el pienso del 25% de Alb empeoraron significativamente todas las variables. Durante el cebo y acabado, los cerdos del 5% y 0% fueron equilibrando sus resultados y los del 15% empeoraron; los cerdos del 25% quedaron muy por detrás en GMD e IC debido a un bajo consumo de pienso. Globalmente (60 a 171 días de edad), los cerdos que comieron las dietas con 0% y 5% de Alb no presentaron diferencias productivas, siendo inferiores en los del 15% y de manera más notable los del 25%.

Tabla 2. Efecto del nivel de alberjones en la dieta sobre el rendimiento productivo según edad y periodos.

Variables ^a	0%	5%	15%	25%	EEM ^b	P-valor ^c
Peso (kg)						
Inicial (a 60 d)	20,9	20,9	20,8	20,8	0,210	Cov
A 82 d	37,2 ^b	39,3 ^a	37,3 ^b	32,6 ^c	0,527	***
A 110 d	59,3 ^b	62,5 ^a	58,4 ^b	49,0 ^c	1,097	***
A 152 d	100,6 ^a	105,8 ^a	92,9 ^b	77,1 ^c	1,719	***
Sacrificio (a 171 d)	123,3 ^a	127,6 ^a	112,4 ^b	93,5 ^c	2,178	***
Estárter (de 60 a 82 d)						
CMD	1,347 ^b	1,493 ^a	1,378 ^b	1,166 ^c	0,030	***
GMD	0,744 ^b	0,840 ^a	0,747 ^b	0,534 ^c	0,023	***
IC	1,82 ^b	1,78 ^b	1,85 ^b	2,22 ^a	0,051	***
Crecimiento (de 83 a 110 d)						
CMD	1,789 ^b	1,979 ^a	1,801 ^b	1,438 ^c	0,049	***
GMD	0,786 ^{ab}	0,828 ^a	0,751 ^b	0,586 ^c	0,024	***
IC	2,28 ^b	2,39 ^{ab}	2,41 ^a	2,46 ^a	0,042	0,03
Engorde (de 111 a 152 d)						
CMD	2,605 ^{ab}	2,702 ^b	2,444 ^a	2,056 ^c	0,059	***
GMD	0,983 ^a	1,029 ^a	0,824 ^b	0,669 ^c	0,022	***
IC	2,65 ^c	2,62 ^c	2,97 ^b	3,07 ^a	0,033	***
Acabado (de 153 a 171 d)						
CMD	3,636 ^a	3,669 ^a	3,210 ^b	2,762 ^c	0,107	***
GMD	1,195 ^a	1,147 ^a	1,023 ^b	0,858 ^c	0,034	***
IC	3,05	3,22	3,12	3,22	0,060	0,15
Gobal (de 60 a 171 d)						
CMD	2,347 ^{ab}	2,468 ^a	2,222 ^b	1,861 ^c	0,051	***
GMD	0,931 ^a	0,970 ^a	0,832 ^b	0,660 ^c	0,019	***
IC	2,52 ^c	2,54 ^c	2,67 ^b	2,82 ^a	0,016	***

^aCMD: consumo medio diario (kg/d); GMD: ganancia media diaria (kg/d); IC: índice de conversión (kg/kg). ^bEEM: error estándar de la media (n=12). ^cP: probabilidad; Cov: covariable, *** $P < 0,001$. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Hay muy poca información sobre la aplicación de Alb en piensos para cerdos. Enneking (1995) observó diferentes resultados con cerdos de 20-40 kg. En ese trabajo, los lechones con un peso promedio de 26,6 kg toleraron inclusiones del 12,5% de Alb en la alimentación durante 4 días sin cambiar el CMD; sin embargo, cuando la inclusión de Alb se incrementó a

25%, el CMD disminuyó un 32,74% en comparación con la dieta de control (8% de harina de soja). Estos resultados están de acuerdo con los valores obtenidos en nuestro experimento durante la fase estándar, pero con cerdos alimentados con Alb durante más tiempo. De Mercado *et al.* (2013) obtuvieron peores resultados durante el cebo con dietas que incluían un 10% de Alb con guisante y sin soja. Por otro lado, y en la fase de transición (7 a 22 kg), Gómez-Fernández *et al.* (2013) testaron dietas con inclusión de un 5% de Alb frente a solo soja, con los mismos resultados productivos. De igual modo, Gómez-Izquierdo *et al.* (2018), durante la fase de estándar (11,5 a 23,4 kg), determinaron que un 5% de Alb en la dieta mejoraba significativamente el CMD y la GMD, y ambos se mantenían con un 15% de Alb frente a una dieta exclusivamente de soja.

En nuestras condiciones experimentales concluimos que la inclusión en la alimentación de cerdos de cebo de un 5% de Alb (*Vicia narbonensis*) que reemplazó parcialmente a la soja y la cebada logró un rendimiento productivo similar a la de una alimentación control con cereal-soja sin Alb; aumentar el porcentaje al 15% de Alb empeoró productivamente a partir de los 110 días de vida. Dietas con un 25% fueron inferiores productivamente desde los 60 hasta los 171 días de vida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Arias-Royo *et al.* 2006. Grain Legumes N°. 47–3rd quarter, 18-19. • de Mercado *et al.*, 2013. Jornadas AIDA 1: 171-173. • Enneking, D. 1995. Tesis Doctoral, Universidad de Adelaida, Australia. • Enneking, D. & Wink, M. 2000. Curr. Plant Sci. Biotechnol. Agric. Vol. 34. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London pp. 375-384. • Firincioğlu *et al.* 2012. Span. J. Agric. Res. 10(2): 430-442. • Franco Jubete, F. & Ramos, A. 1996. El Cultivo de las Leguminosas de Grano en Castilla y León. Junta de Castilla y León, Consejería de Agricultura y Ganadería. • Gómez-Fernández *et al.* 2013. XV Jornadas AIDA, Vol 1: 135-137. • Gómez-Izquierdo *et al.*, 2018. ITEA, 114 (3), 243-258. • Muzquiz *et al.* 2004. J. Sci. Food Agric. 84: 556-560. • Muzquiz, M. 2012. Actas IV Jornadas de la AEL Pontevedra, 6 y 7 de junio, 59-64. • Sánchez-Vioque *et al.* 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 165: 125-130. • SAS Institute, 2004. • Tate, M. & Enneking, D. 2006. Grain Legumes N°. 47 – 3rd quarter, 16-17.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Dr. Marcelino de los Mozos del Centro de Investigación Agraria de Albaladejito (Cuenca), la valiosa colaboración y asistencia técnica en los análisis de GEC y a la Dra. Ana de Coca (Unión Regional de Cooperativas Agrarias de Castilla y León, Valladolid) por la coordinación de los distintos grupos de investigación. Este trabajo ha sido financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (IDI-2010-0284) y la Agencia de Inversiones y Servicios de Castilla y León (04-09-SO-0013).

INTEREST OF THE NARBON VETCH (*VICIA NARBONENSIS*) IN FEEDING OF FATTY PIG. PRODUCTIVE DATA

ABSTRACT: A total of one hundred ninety-two pigs (barrows) with 171 days of age (114 ± 5.49 kg) were used to assess four diets with different levels of narbon vetch (NV) about the productive performance in growing-finishing phase. The experimental animals were housed in four rooms with 12 pens for room and four pigs in each. The design was in complete blocks randomized with four treatments and different levels of NV inclusion in the feed: 0%, 5%, 15%, 25%; with four blocks, eight replicates per treatment and four pigs per replicate (1.40 m² per pig). The inclusion in the feed of finishing pigs from 5% NV (*Vicia narbonensis*) replacing soybean and barley (about 2 to 3% respectively) achieved similar productive performance than a control feed with grain-soybean (0% NV), whereas percentages of 15 and 25% as replacement of soybean and barley, worsened the productive results of heavy pigs in phase of growing-finishing. In young pigs between 21 and 38 kg of body weight, inclusion of 15% of NV in feed does not worsen the productive results with respect to the feed control (0% NV) only with grain-soybean, although in later developmental stages got worse the productive results.

Keywords: fatty pigs, narbon vetch, antinutritional factors.

EFECTO DEL TIPO PRODUCTIVO Y NIVEL DE PROTEÍNA DE LA RACIÓN SOBRE EL RITMO FRACCIONAL DE SÍNTESIS PROTEICA EN CERDOS EN CRECIMIENTO

Sarri L., Seradj, A.R., Tor, M., De la Fuente, G. y Balcells, J.

Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida – Agrotecnio Center, Lleida.

Email: laura.sarri.espinosa@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Dado el aumento en la demanda de productos de origen animal (Fischer *et al.*, 2009), y la creciente presión ejercida por los consumidores hacia una producción más respetuosa con el medio ambiente y los recursos naturales, es necesario diseñar estrategias de alimentación que incrementen la eficiencia nutritiva, y para ello debe lograrse un ajuste óptimo entre necesidades y aportes. En el presente ensayo, se pretende analizar la influencia del tipo productivo o genético, así como el contenido de proteína bruta (PB) en la ración, sobre los procesos metabólicos y eficiencia de síntesis proteica en cerdos en crecimiento. Con este propósito se utilizaron dos tipos productivos; animales seleccionados bien para la producción de carne magra, o bien para mejorar las características organolépticas de algunas piezas por una mayor infiltración grasa en el músculo (Cameron *et al.*, 2000). Para ello se aplicó la técnica de “flooding dose” (Garlick *et al.*, 1980), que nos permite determinar el ritmo fraccional de síntesis (FSR) en diferentes tipos de tejidos como son el muscular (*longissimus dorsi*) y el hepático. La combinación de cromatografía de líquidos y espectrómetro de masas (UPLC/MS) nos permitió trazar la incorporación del aminoácido marcado en los precursores y en las proteínas de nueva síntesis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 cerdos macho de dos variedades productivas, de los cuales 8 eran cerdos magros enteros F₂ [Pietrain ♂ x F₁:(Duroc x Landrace) ♀] y los 8 restantes eran cerdos castrados Duroc en pureza de 30,5 ± 1,36 y 25,2 ± 0,91 Kg de peso vivo, respectivamente. Los animales fueron divididos en dos sub-lotes de 4 animales y cada sub-lote recibió sendas raciones experimentales que se diferenciaban únicamente en el contenido de PB. Las raciones se formularon para contener un 17% (nivel normal-NP) y 15% de PB (nivel bajo-BP), respectivamente. Tras un periodo de adaptación de 3 días a las instalaciones y raciones, los animales fueron alojados en jaulas metabólicas durante 7 días donde se realizaron los correspondientes balances de digestibilidad y colección de orina. Antes de la finalización del ensayo (24 h) los cerdos fueron sometidos a una cateterización percutánea en vena yugular externa derecha, siguiendo la técnica descrita por Flournoy & Mani (2009). Al séptimo día en jaula, se obtuvo, en primer lugar, una muestra plasmática de cada cerdo para determinar el enriquecimiento natural en aminoácidos (AA) y, a continuación, se procedió a la infusión de Fenilalanina, 2,89 g por animal de los cuales un 15% era marcada (L-Phenyl-D5-alanina (²H₅-Phe)), disueltos en 10 mL de solución salina, durante 10 min a través del catéter yugular. A continuación, se prosiguió con el muestreo de plasma a los 12, 15, 20, 25, 30 y 40 min tras el inicio de la infusión, siguiendo el protocolo de muestreo propuesto por Rivera-Ferre *et al.* (2005), tras lo cual se procedió, de forma inmediata, al sacrificio (Euthasol® (ESTEVE S.A., Oudewater, Holanda) y posterior muestreo tisular de los animales.

Para determinar los niveles de enriquecimiento en AA libres en plasma y tejidos, se prepararon las muestras según los protocolos descritos por Piraud *et al.* (2005) y Qin *et al.* (2015), respectivamente; mientras que para el enriquecimiento de los AA conjugados se siguió el protocolo descrito por Colgrave *et al.* (2008). En ambos casos, el enriquecimiento fue cuantificado mediante UPLC/MS (Guo *et al.*, 2013). El cálculo del FSR (%/día) se obtuvo a partir de la siguiente fórmula: $FSR = (MPE_{\text{ligado}} \times 100) / (MPE_{\text{libre}} \times t)$ donde MPE es el porcentaje molar en exceso y t es el tiempo.

Los resultados fueron analizados con el software SAS Institute Inc con un modelo lineal de dos factores, dieta (NP, BP) y genotipo (F2 y Duroc) y su interacción. La significación se estableció a P<0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los FSR fueron muy superiores ($P < 0,001$) en hígado que en músculo ($61,2 \pm 3,28$ vs $15,9 \pm 1,13$), resultados que coinciden con la literatura existente: ($44,3$ vs $6,3$) en cerdos Landrace y ($46,8$ vs $8,0$) en Ibéricos; ($42,0$ vs $7,0$) en cruzados y (115 vs $8,1$) en Landrace según (Rivera-Ferre *et al.*, 2005; Wykes *et al.*, 1996; Simon *et al.*, 1978) respectivamente, y que están relacionados con el mayor potencial metabólico por parte del hígado (Burd *et al.*, 2013). El tipo de ración administrada (o una mayor disponibilidad de AA) no alteró los FSR ni tampoco se detectaron diferencias significativas relacionadas con el tipo productivo, aunque numéricamente la raza con una menor presión de selección (Duroc) mostró mayores FSR, tendencia que coincide con los resultados publicados por Rivera-Ferre *et al.* (2005), quienes al comparar dos variedades genéticas, Landrace e Ibérico, observaron un mayor FSR en las variedades más grasas (Ibérico). A diferencia de lo que cabría esperar, las variedades genéticas más magras (con, en general, mayores ritmos de crecimiento e incluso mayores tasas de retención de N) no presentaron las mayores FSR de proteína; estos resultados sugieren que las diferencias entre ambos grupos de animales en el metabolismo proteico pueden ser explicadas por variaciones en las tasas fraccionales o absolutas de degradación del tejido muscular.

Tabla 1. Tasa fraccional de síntesis (FSR, %/día) determinada en músculo longissimus dorsi (LD) e hígado en 16 cerdos (8 híbridos enteros y 8 Duroc castrados) alimentados con diferentes niveles de PB en la dieta.

	Tipo Productivo (TP)		Dieta (D)		² EEM	Significación		
	Duroc	F2	¹ NP	¹ BP		² TP	² D	TPxD
LD	17,0	14,9	16,8	15,2	1,68	0,41	0,51	0,55
Hígado	65,0	57,3	63,0	59,4	4,87	0,29	0,61	0,79

¹NP: dieta con 17% PB; BP: dieta con 15% PB.

²EEM: Error estándar de la media; TP: Tipo productivo; D: Dieta.

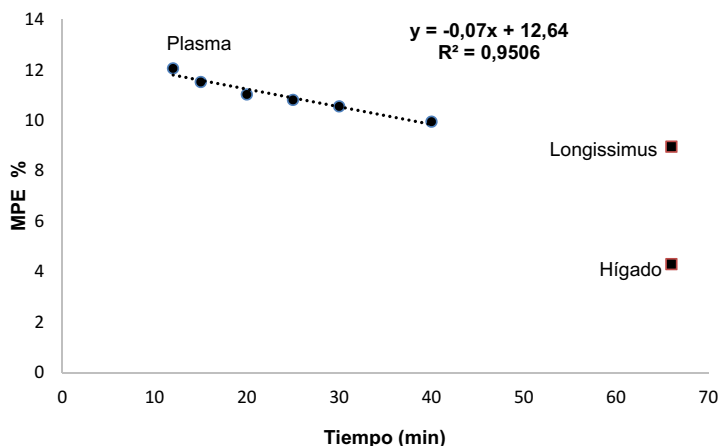


Figura 1. Ejemplo de una curva de enriquecimiento (Porcentaje molar en exceso-MPE-) en fenilalanina libre a los 12, 15, 20, 25, 30 y 40 min en plasma sanguíneo tras una infusión de dicho aminoácido; junto con el valor de MPE en hígado y músculo longissimus dorsi después del sacrificio de un cerdo Duroc alimentado con una dieta con un nivel normal de proteína.

Como ejemplo de la técnica de “flooding dose” se presenta la figura 1, donde se observa el descenso del MPE (en %) de fenilalanina libre en el plasma sanguíneo a través del tiempo (12, 15, 20, 25, 30 y 40 min después del inicio de la infusión), así como los niveles de enriquecimiento registrados en hígado y músculo (*longissimus dorsi*) correspondiente a la fenilalanina libre disponible en tejido en el tiempo t. Estas curvas de descenso isotópico se realizaron para cada animal para establecer los valores individuales de FSR.

En línea con la bibliografía existente, los valores de FSR fueron más elevados en hígado que en músculo debido a su mayor potencial metabólico. No hubo diferencias significativas entre ambos tipos productivos o niveles de proteína en la ración, aunque hubo diferencias numéricas apreciables entre tipos productivos y también entre dietas. Más estudios con animales de distintos estadios fisiológicos son necesarios para confirmar los resultados obtenidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burd, N.A., Hamer, H.M., Pennings, B., Pelliikan, W.F., Senden, J.M.G., Gijzen, A.P., & van Loon, L.J.C. 2013. PLoS ONE 8: 1-9
- Cameron, N.D., Enser, M., Nute, G.R., Whittington, F.M. & Penman, J.C. 2000. Meat Science 55: 187–195.
- Colgrave, M.L., Allingham, P.G. & Jones, A. 2008. Journal of Chromatography 1212: 150–153.
- Fischer, R.A., Byerlee, D. & Edmeades, G.O. 2009. Proceedings of the Expert Meeting on How to Feed the World in 2050, FAO, Rome, June 24–26, 2009
- Flournoy, W.S. & Mani, S. 2009. Laboratory Animals 43: 344–349.
- Garlick, P.J., McNurlan, M.A., & Preedy, V.R. 1980. Biochemical Journal 192: 719–723.
- Guo, S., Duan, J.A., Qian, D., Tang, Y., Qian, Y., Wu, D. & Shang, E. 2013. Journal of Agricultural and Food Chemistry 61: 2709–2719.
- Piraud, M., Vianey-Saban, C., Petritis, K., Elfakir, C., Steghens, J.P. & Bouchu, D. 2005. Rapid Communications in Mass Spectrometry 19: 1587–1602.
- Qin, C., Huang, P., Qiu, K., Sun, W., Xu, L., Zhang, X. & Yin, J. 2015. Journal of Animal Science and Biotechnology 6: 1–10.
- Rivera-Ferre, M.G., Aguilera, J.F. & Nieto, R. 2005. Journal of Nutrition 135: 469–478.
- Simon, O., Munchmeyer, R., Bergner, H., Zebrowska, T. & Buraczewska, L. 1978. British Journal of Nutrition 40: 243–252.
- Wykes, L.J., Fiorotto, M., Bãæerrin, D.G., Rosario, M.D.E.L., Frazer, M.E., Pond, W.G. 1996. Journal of Nutrition 126: 1481–8.

Agradecimientos: El estudio ha sido financiado por el proyecto Feed-a-Gene del programa H2020 (Referencia 633531) y por el programa retos del MINECO (Referencia AGL2017-89289-R).

EFFECT OF THE PRODUCTIVE TYPE AND LEVEL OF PROTEIN OF THE RATION ON FRACTIONAL PROTEIN SYNTHESIS RATE IN GROWING PIGS

ABSTRACT: The general scope of the present assay is to analyse the effect of productive variety and dietary protein supply on protein metabolism, and further to improve precision feeding and productive efficiency. To this end, a 2 x 2 factorial design trial was conducted with 16 pigs of two different varieties, castrated Duroc and entire (F2) between 25 and 30 kg BW, fed with two diets with different crude protein content, 17% (normal level-NP) and 15% (low level-LP). 24 h before infusion, animals were catheterized in their external right jugular vein and fractional synthesis rate (FSR) was analysed using a flooding dose of phenylalanine (15% as [²H₅]-phenylalanine). Natural enrichment of phenylalanine was determined before infusion and blood samples were taken from 12 to 40 min after the start of the infusion, then samples from *longissimus dorsi* muscle and liver were obtained.

The FSR was higher in liver than in *longissimus dorsi* (61.17 ± 3.279 vs. 15.95 ± 1.128) but differences were neither detected between productive varieties nor between protein supply.

Keywords: fractional synthesis rate, flooding dose technique, growing pigs.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD Δ 9-DESATURASA EN CERDOS DUROC DIANTE LA ADMINISTRACIÓN DE ÁCIDO ESTEÁRICO DEUTERADO EN LA DIETA

Sarri, L., De la Fuente, G., Seradj, A.R., Estany, J., Pena, R.N., Balcells, J. y Tor, M.
Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, Lleida.
Email: laura.sarri.espinosa@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La creciente inquietud de los consumidores por una alimentación más saludable provoca, entre otros, el incremento en la demanda de productos con menor contenido en ácidos grasos (AG) saturados y con una mayor proporción en AG monoinsaturados. Los saturados se relacionan con una mayor incidencia de enfermedades coronarias (Hu & Willett, 2002) y los monoinsaturados mejoran la calidad nutricional, tecnológica y organoléptica de la carne (Wood *et al.*, 2003). En el cerdo existe un polimorfismo en el promotor del gen de la enzima esteroil-CoA desaturasa (SCD) (g.2228T>C) que incrementa los niveles de ácido oleico en la grasa intramuscular (Estany *et al.*, 2014). Generalmente, la actividad Δ 9-desaturasa se mide como la razón entre los AG monoinsaturados cis-9 sobre sus precursores saturados. Debido a que la deposición de ambos puede ser de origen dietético o endógeno, la actividad real de la enzima SCD puede quedar enmascarada por la deposición de los AG que provienen de la dieta.

En la actualidad, los equipos de cromatografía de líquidos acoplados a espectrómetros de masas de triple cuádruplo (UPLC/TQ) permiten desarrollar métodos de monitorización de reacciones múltiples (MRM) que pueden separar moléculas marcadas isotópicamente de las naturales con una buena cuantificación, de manera simultánea, en rangos dinámicos amplios y unos límites de detección muy bajos.

El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad real de la enzima SCD, midiendo la incorporación al tejido adiposo de ácido esteárico deuterado (18:0D35) añadido a la dieta, y la concentración de ácido oleico deuterado (18:1D33), derivado del anterior, por la acción de la enzima SCD.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el experimento se utilizaron 24 cerdos en crecimiento de aproximadamente 25-30 Kg de peso vivo, distribuidos según un diseño factorial, 3 (tipos genéticos) x 2 (dietas). Los tres tipos genéticos fueron: machos enteros F2 (Pietrain ♂ x (Duroc x Landrace) ♀); machos castrados Duroc-TT (Duroc de genotipo TT para el gen SCD); y machos castrados Duroc-CC (Duroc de genotipo CC para el gen SCD). Todos los cerdos fueron alimentados durante 7 días con una dieta que incorporaba un 0.02% de 18:0D35 (Tracer, Madrid, España). Dentro de cada tipo genético, la mitad de los cerdos se alimentaron con una dieta baja en proteína (15%; LP) y la otra mitad con una dieta normal (17%; NP). A partir del segundo día, se tomó diariamente, en todos los cerdos, una muestra de sangre de la vena yugular, que seguidamente fue centrifugada y almacenada (-40°C). Al séptimo día, los cerdos fueron sacrificados con una dosis letal de Euthasol® (ESTEVE S.A., Oudewater, Holanda), y se obtuvieron muestras de tejido adiposo subcutáneo, *m. longissimus thoracis* e hígado. Se realizó la extracción de los lípidos totales de las muestras de plasma y de tejidos en frío (Folch *et al.*, 1957) y la posterior hidrólisis de los triglicéridos (Aldai *et al.*, 2006). Los AG se extrajeron con éter de petróleo, se evaporó el disolvente, se re-disolvió en isopropanol y, previamente a la cromatografía, se filtraron a través de un filtro hidrofílico de politetrafluoroetileno de 0.2 μ m de diámetro de poro. Para el análisis de los AG se utilizó un sistema UPLC/XevoTQs equipado con una columna HSS-T3 (2.1 x 150 mm; 1.8 μ m tamaño de partícula) (Waters, Milford, MA, EEUU). Se diseñó y optimizó un método MRM que incluyó los siguientes AG: esteárico (14:0), palmítico (16:0), palmítico deuterado (16:0D31), palmítoleico (16:1), esteárico 18:0, 18:0D35, oleico (18:1), 18:1D33, linoleico (18:2), linoléico (18:3) y araquidónico (20:4). Se calcularon los ratios 18:0D35/18:0; 18:1/18:0 y 18:1D33/18:0D35. Los datos se procesaron mediante el software QuanLynx®. Para el análisis estadístico se realizó mediante el software JMP Pro12 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU). Para el tejido adiposo se utilizó un modelo lineal de dos factores, dieta

(LP, NP) y genotipo (Duroc-TT; Duroc-CC; F2) y su interacción. Para el enriquecimiento del plasma sanguíneo se utilizó un modelo mixto con el factor fijo día (de 3 a 7) y el factor aleatorio animal. La significación se estableció a $P < 0.05$. La separación de las medias se realizó mediante una prueba t de Student.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica analítica utilizada fue suficientemente sensible para detectar los niveles de 18:0D35 en plasma y en los tejidos hepático, adiposo y muscular, después de administrar la dieta suplementada durante siete días. Además, aumentando el volumen de inyección del cromatógrafo y modificando los parámetros del espectrómetro de masas, fue posible detectar el ácido graso 18:1D33 en el tejido adiposo, aunque no en el hígado. En cerdo, el tejido adiposo es el órgano de mayor síntesis de AG, incluso por encima del hígado (O'Hea & Leveille, 1969), a diferencia de lo que ocurre con los humanos o en ratón. Este hecho, junto a que el tejido adiposo es un tejido de acumulación de lípidos, explicaría la presencia de 18:1D33 por encima de los niveles de detección y cuantificación únicamente en este tejido.

En el plasma sanguíneo, la incorporación del 18:0D35 de la dieta fue muy rápida, detectándose el ácido graso marcado a partir del tercer día de ingestión y estabilizándose los niveles a partir del cuarto (Figura 1.a). En tejido adiposo, el enriquecimiento del 18:0D35, medido como la ratio 18:0D35/18:0 ($\times 1000$) fue de 0.059 ± 0.0087 y no presentó diferencias ni entre genotipos ni según los niveles de proteína de la dieta. En la Figura 1.b se presenta la actividad $\Delta 9$ -desaturasa aparente, como ratio entre los ácidos oleico y esteárico. No se detectó ningún efecto significativo de la dieta ni interacción de esta con el genotipo. En cambio, sí se observaron claras diferencias con respecto al tipo genético, coincidentes con la bibliografía (Estany et al., 2014). Los cerdos Duroc de genotipo CC tuvieron una ratio de insaturación significativamente menor que los Duroc TT y F2. La actividad $\Delta 9$ -desaturasa real presentó un comportamiento diferente al de la aparente. En este caso, no se observó un efecto significativo de la dieta, pero sí una interacción de esta con el genotipo (Figura 1.c). Así pues, en los animales que recibieron una dieta con niveles normales de proteína no se observaron diferencias en la actividad $\Delta 9$ -desaturasa real entre genotipos. Por el contrario, en los animales que recibieron una dieta con restricción en el contenido de proteína hubo una clara diferencia entre genotipos. El genotipo CC mostró una actividad $\Delta 9$ -desaturasa real claramente inferior al genotipo TT. En los cerdos con dieta LP, la ingestión de una ración isocalórica, pero con un nivel de proteína restringido, pudo suponer un aumento de la lipogénesis durante los días que duró la fase experimental, tal y como reportó Kerr *et al.* (2003). Esto implicaría, por tanto, una intensificación de la actividad $\Delta 9$ -desaturasa y por ende de que se manifestaran más claramente las diferencias entre los genotipos CC y TT. De algún modo, la actividad $\Delta 9$ -desaturasa real mide lo sucedido en el tejido adiposo durante los días del experimento, mientras que la actividad $\Delta 9$ -desaturasa aparente es un reflejo de acumulación de lípidos en la célula durante un periodo mucho más amplio. Posiblemente, con una fase experimental más larga, que diera tiempo a la acumulación en el adipocito de ácido 18:1D33, se detectaría también el efecto del genotipo en los animales que ingirieron la dieta NP.

Puesto que el AG 18:1D33 es de origen exclusivamente endógeno, se ha confirmado una mayor actividad del gen *SCD* en los genotipos F2 y Duroc-TT respecto al Duroc-CC en animales jóvenes, de entre 25 y 30 kg de peso vivo, donde predomina la deposición de proteína frente a la de grasa. Convendría comprobar si la actividad $\Delta 9$ -desaturasa real se incrementa efectivamente en fases más avanzadas, cuando la curva de crecimiento del tejido adiposo se halla cercana a su punto de inflexión. Por otro lado, medir la actividad $\Delta 9$ -desaturasa real a partir de un ácido graso marcado, ha permitido distinguir el efecto de enmascaramiento de la dieta y acotar la medida de la actividad $\Delta 9$ -desaturasa a un periodo de tiempo determinado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldai, N. *et al.* 2006. J. Chromatogr. A 1110: 133-139.
- Estany, J. *et al.* 2014. PLoS One 9: 1-11.
- Folch, J. *et al.* 1957. J Biol Chem 226: 497-509.
- Hu, F.B. & Willett, W.C. 2002. JAMA 288: 2569-2578.
- Kerr, B.J. *et al.* 2003. J Anim Sci. 81: 3075-87.
- O’Hea, E.K. & Leveille, G.A. 1969. J Nutr. 99:338-344.
- Wood, J.D. *et al.* 2003. Meat Sci. 66: 21-32.

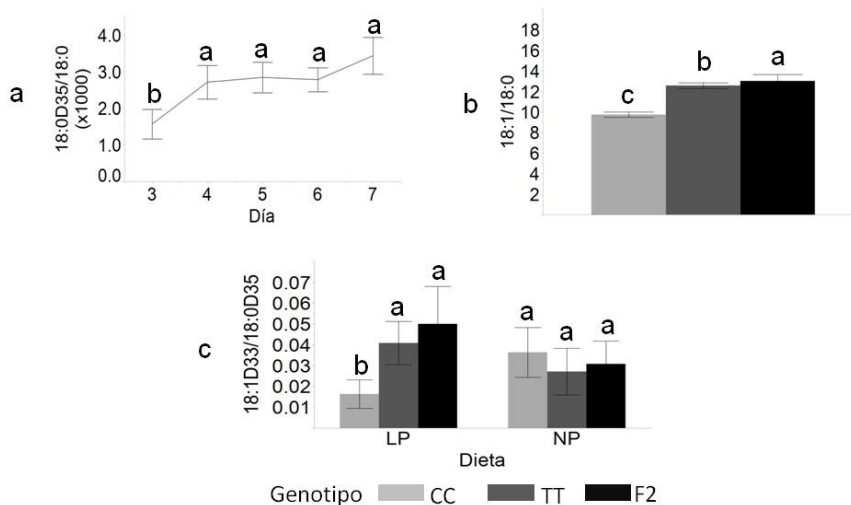


Figura 1. Efecto de un polimorfismo en la enzima esteroil-CoA desaturasa (SCD; g.2228T>C) sobre los índices de incorporación y desaturación del ácido esteárico deuterado (18:0D35). (a) Evolución del enriquecimiento del ácido esteárico marcado en el plasma sanguíneo. (b) Actividad SCD aparente y (c) actividad SCD real, en el tejido adiposo subcutáneo en dietas con contenido en proteína bajo (LP) y normal (NP). Letras distintas dentro de cada figura indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Agradecimientos: Estudio financiado por el proyecto Feed-a-Gene del programa H2020 (Referencia 633531) y por el programa retos del MINECO (Referencia AGL2017-89289-R).

DETERMINATION OF THE REAL $\Delta 9$ -DESATURASE ACTIVITY IN DUROC PIGS BY ADDING DEUTERATED STEARIC ACID IN THE DIET

ABSTRACT: A C>T polymorphism in the promoter of the pig stearoyl-CoA desaturase (SCD) gene is responsible for enhanced biosynthesis of oleic acid by desaturating stearic acid in intramuscular fat. To evaluate the real activity of the SCD enzyme, an experiment was carried out with 24 growing pigs of 25-30 kg body weight, of two commercial varieties: 8 entire F2 and 16 castrated purebred Duroc pigs, 8 CC/ 8 TT for the SCD genotype. Each variety was subdivided in 2 groups that were fed for 7 days with 2 levels of crude protein [15% low protein (LP); 17% normal protein (NP)]. A 0.02% of deuterium-labelled C18:0 (C18:0D35) was incorporated in all diets. Blood samples were collected daily for 5 days before culling and then adipose, muscle and liver were sampled. C18:0D35 in plasma was detected from the second day of ingestion and stabilised at day 3. Subcutaneous fat enrichment in C18:0D35 was uniform and did not present differences between genotypes nor by dietary protein level. Differences between genotypes were detected on apparent SCD activity, being the Duroc pigs CC genotype the lowest, while this effect only was detected on pigs fed the LP diet in real SCD activity, probably due to enhanced lipogenesis.

Keywords: pig, adipose tissue, $\Delta 9$ -desaturase activity, deuterated stearic acid, lipogenesis.

FACTORES QUE AFECTAN A LAS EMISIONES DE AMONIACO Y METANO PROCEDENTES DE PURINES PORCINOS: COMPOSICIÓN DEL PURÍN Y FACTORES NUTRICIONALES

Antezana¹, W., Cerisuelo², A., Estellés³, F. y Calvet³, S.

¹Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Agronomía y Zootecnia. Av. De la Cultura. Cusco, Perú.² Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Pol. La Esperanza 100, 12400 Segorbe, Castellón, España. ³Universitat Politècnica de València, Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Camino de Vera s.n. 46022 Valencia, España. E-mail: salcalsa@upvnet.upv.es

INTRODUCCIÓN

La nutrición animal desempeña un papel fundamental en la sostenibilidad del sector ganadero. Además de ser el principal coste de producción, consume una importante cantidad de cosechas de cultivos. Por tanto, el suministro de ingredientes para piensos es un reto prioritario que debe afrontarse en los próximos años (Lassaletta *et al.*, 2018). Entre otros, se puede considerar el uso de alimentos más eficientes o el reciclaje de subproductos. Se sabe que podemos mitigar las emisiones gaseosas procedentes de los purines a través de la alimentación (Aarnink y Verstegen, 2007). La bibliografía recoge muchas evidencias de los efectos que tiene la modificación de las dietas en la composición de los purines (p.e. el contenido en proteína) y el efecto asociado en la reducción de emisiones gaseosas.

El contenido en proteína de la dieta está directamente relacionado con el N excretado mediante la orina, y por tanto en las emisiones de amoniaco (NH₃). Sin embargo, también se ha observado que a un nivel de proteína bruta similar el patrón de excreción puede variar a causa de otros efectos nutricionales (p.ej. el tipo y nivel de fibra). Por tanto, es necesario cuantificar las complejas relaciones nutricionales entre los componentes del pienso, la productividad animal, las excreciones de nutrientes y las emisiones de gases.

Con este objetivo, se ha recopilado información de diversos estudios que evalúan el balance de nutrientes y las emisiones en dietas con contenido nutricional similar. Se pretende así analizar el efecto de dietas que incluyen diferentes subproductos en los balances de energía y nitrógeno a nivel de animal, como forma de analizar las vías para reducir las emisiones de NH₃ y metano (CH₄).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un meta análisis utilizando datos de los ensayos descritos por Antezana *et al.* (2015) y Beccaccia *et al.* (2015a y b) en porcino de cebo intensivo. Todas las dietas ensayadas (Tabla 1) fueron formuladas siguiendo estándares comerciales.

Tabla 1. Composición nutricional (g/kg sobre material fresca) de las dietas evaluadas. El número de repeticiones de cada dieta fue n=6.

	Beccaccia <i>et al.</i> , 2015a					Beccaccia <i>et al.</i> , 2015b				Antezana <i>et al.</i> , 2015			
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13
MS	912	902	903	895	899	884	896	891	905	905	909	899	889
Cenizas	51,8	53	54,3	52	51	57,9	52,7	50,7	45	46,4	47,8	49,4	52,1
PB	158	156	154	153	157	153	164	159	146	145	147	146	144
EE	43	53,3	62,9	59,2	72,1	60,1	51,3	47,5	31,2	51,5	83,6	54,6	75,5
FS	61,2	75,9	97,3	60,1	71,4	62,3	17,1	25	28,4	44	37,7	95,6	106
FND	154	165	158	164	161	148	144	132	167	157	163	169	166
FAD	45,6	52,3	56,3	61	75,4	73,6	49,4	31,5	50,8	44,7	48	60,3	59,7
EB (MJ/kg)	16,8	16,9	17	16,9	17,4	16,7	16,9	16,9	16,3	16,8	17,7	16,7	17,2
EN (MJ/kg)	9,83	9,83	9,83	9,83	9,83	9,91	9,91	9,91	9,2	9,75	10,3	9,41	9,91

MS: materia seca; PB: proteína bruta; EE: Extracto etéreo; FS: Fibra Soluble; NDF: fibra neutro detergente; FAD: Fibra ácido detergente; EB: energía bruta; EN: Energía neta.

Estos estudios analizaron el efecto de diferentes fuentes de proteína, fibra y grasa en parámetros nutricionales, la composición del purín y las emisiones gaseosas. El período experimental consistió en pruebas de digestibilidad individual (n=6 por dieta) en las que, tras 14 días de adaptación, se recogieron muestras de heces y orina para realizar el balance alimentario, los análisis de purines y las pruebas de emisiones de NH₃ y CH₄ procedentes del purín (véanse detalles en las publicaciones referenciadas).

Se realizó un balance de materia seca (MS), N y energía bruta (EB) a nivel animal, referido al incremento de peso de cada animal. Como resultado, obtuvimos los valores de ingesta, digestión (diferencia entre ingesta y excreción fecal), retención (diferencia entre ingesta y excreciones fecales y urinarias) y excreción total.

Un análisis de varianza previo demostró que no había diferencias significativas de emisiones entre estudios (es decir, estudios sistemáticamente con emisiones más altas o más bajas) y por tanto todos los datos se analizaron conjuntamente. Se obtuvieron las correlaciones entre los componentes del balance alimentario y las emisiones de gases. Igualmente se realizó un análisis de varianza (Proc GLM de SAS) para comparar los componentes del balance entre los animales categorizados como de emisiones altas, medias y bajas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso animal difirió entre estudios y fue más elevado en las dietas #1 a #5, por lo que los componentes del balance también difirieron entre dietas. Por esta razón, y para poder comparar la influencia real de la composición del alimento, los componentes del balance se expresaron por incremento de peso vivo (PV) y se comparó con las emisiones de gases, también expresadas por incremento de PV. El análisis de correlaciones entre las emisiones de gases y los balances nutricionales recogió que las emisiones de NH₃ y CH₄ estuvieron positivamente correlacionadas entre ellas (r=0,31, p<0,01). La emisión de CH₄ por kg de incremento de PV se correlacionó positivamente con el PV (r=0,36, p<0,01), al igual que el NH₃ (r=0,52, p<0,001). A pesar del contenido nutricional relativamente similar entre dietas, se encontró una importante variación de emisiones cuando estas fueron expresadas por incremento de PV, tanto para el CH₄ (Tabla 2) como para el NH₃ (Tabla 3).

Este estudio evidencia un elevado efecto de la dieta en las emisiones, incluso con dietas de composición similar, lo que abre la puerta a mejoras en el ámbito de la nutrición.

Tabla 2. Componentes del balance nutricional y emisiones de CH₄ (expresados por kg de incremento de peso vivo). Se muestran separados los datos de animales de emisiones bajas, medias y altas. Los coeficientes de correlación entre los componentes del balance y las emisiones de CH₄ también se indican (p<0.05 *, p<0.01 **, p<0.001***).

		r	CH ₄ bajo	CH ₄ medio	CH ₄ alto	SEM	Valor p
	n		26	26	26		
	CH ₄ (L/kg ΔPV)		74,6 ^a	99,0 ^b	141,1 ^c	2,90	<0,001
Balance MS	Ingesta MS	0,77***	1792 ^a	2113 ^b	2436 ^c	63,5	<0,001
	MS heces	0,84***	270 ^a	329 ^b	417 ^c	10,3	<0,001
	MS orina	0,43***	76,6 ^a	93,6 ^b	105,1 ^b	5,25	0,001
	MS retenida	0,71***	1445 ^a	1691 ^b	1914 ^c	54,9	<0,001
Balance N	Ingesta N	0,72***	49,2 ^a	57,0 ^b	65,8 ^c	1,86	<0,001
	N heces	0,75***	8,71 ^a	10,81 ^b	13,85 ^c	0,46	<0,001
	N orina	0,43***	11,7 ^a	13,1 ^a	16,2 ^b	0,99	0,008
	N retenido	0,53***	28,8 ^a	33,1 ^b	35,8 ^c	1,25	<0,001
	N heces: orina	0,14	0,83	0,91	1,01	0,078	0,25
Balance EB	Ingesta EB	0,80***	33,5 ^a	39,7 ^b	46,4 ^c	1,16	<0,001
	EB heces	0,85***	5,11 ^a	6,30 ^b	8,30 ^c	0,20	<0,001
	EB orina	0,45***	0,75 ^a	0,99 ^b	1,15 ^b	0,065	<0,001
	EB retenida	0,72***	27,6 ^a	32,4 ^b	37,0 ^c	1,04	<0,001

ΔPV: incremento de peso vivo (kg), MS: material seca; EB: energía bruta.

Tabla 3. Componentes del balance nutricional y emisiones de NH₃ (expresados por kg de incremento de peso vivo). Se muestran separados los datos de animales de emisiones bajas, medias y altas. Los coeficientes de correlación entre los componentes del balance y las emisiones de NH₃ también se indican ($p < 0.05$ *; $p < 0.01$ **, $p < 0.001$ ***).

Variable		r	NH ₃ bajo	NH ₃ medio	NH ₃ alto	SEM	Valor p
	n		26	26	26		
Balance MS	NH ₃ (L/kg ΔPV)		337 ^a	530 ^b	860 ^c	27,2	<0,001
	Ingesta MS	0,52***	1840 ^a	2180 ^b	2322 ^b	72	<0,001
	MS heces	0,33**	304 ^a	348 ^b	363 ^b	15,0	0,018
	MS orina	0,48***	75,1 ^a	93,6 ^b	106,7 ^b	5,13	<0,001
Balance N	MS retenida	0,52***	1460 ^a	1737 ^b	1851 ^b	58,3	<0,001
	Ingesta N	0,55***	49,5 ^a	58,4 ^b	64,1 ^c	1,96	<0,001
	N heces	0,15	10,3	11,7	11,4	0,61	0,21
	N orina	0,78***	10,1 ^a	12,4 ^b	18,6 ^c	0,78	<0,001
Balance EB	N retenido	0,26*	29,2 ^a	34,3 ^b	34,2 ^b	1,29	0,008
	N heces: orina	-0,60***	1,14 ^a	0,97 ^a	0,62 ^b	0,067	<0,001
	Ingesta EB	0,51***	34,8 ^a	40,9 ^b	43,8 ^b	1,38	<0,001
	EB heces	0,24*	6,03	6,80	6,88	0,32	0,12
EB	EB orina	0,47***	0,754 ^a	0,961 ^b	1,17 ^c	0,064	<0,001
	EB retenida	0,53***	28,0 ^a	33,2 ^b	35,7 ^b	1,12	<0,001

ΔPV: incremento de peso vivo (kg), MS: material seca; EB: energía bruta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarnink, A.J.A., *et al.* 2007. *Livest. Sci.* 109, 194-203.
- Antezana, W., *et al.* 2015. *Anim. Feed Sci. Technol.* 209, 128-136.
- Beccaccia, A., *et al.* 2015a. *Anim. Feed Sci. Technol.* 208, 158-169.
- Beccaccia, A., *et al.* 2015b. *Anim. Feed Sci. Technol.* 209, 137-144.
- Lassaletta, L., *et al.* 2019. *Sci. Tot. Env.* 665, 739-751.

Agradecimientos: Este proyecto fue financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2014-56653).

ANALYSIS OF FACTORS AFFECTING AMMONIA AND METHANE EMISSIONS FROM PIG SLURRIES: SLURRY COMPOSITION AND DIETARY FACTORS

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the impacts of different diets on nitrogen (N) and energy balances. A total of 13 diets were evaluated in digestibility trials using 78 animals. Nutrient intake, excretion and potential NH₃ and CH₄ (Biochemical methane potential) emissions from slurry were measured. Animal weight was also monitored. For the N balance, a two-fold range in faeces to urine N excretion ratio was found throughout the experiments, even considering the low crude protein variations (from 15 to 16%). This was related to the ammonia emissions from slurry ($r = -0.60$, $p < 0.001$). In fact, the amount of crude protein ingested to increase 1 kg of metabolic weight was positively correlated with the associated emissions ($r = 0.58$, $p < 0.001$). The difference between animals associated with high or low NH₃ emissions per weight gain was related to urine losses due to excess N intake. The energy balance shows that methane potential from slurry was mainly related to the excretion of indigested feed components, mainly the fibrous fraction (particularly the soluble fibre). It was clear that animals emitting high amounts of methane were those with higher dry matter and energy ingestion.

Keywords: NH₃, CH₄, Slurry, Nutrition balance.

EFFECTO DE AUMENTAR LA CANTIDAD DE LACTORREEMPLAZANTE SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y SALUD EN TERNEROS FRISÓN LACTANTES

Verdú¹, M., Grau², J., Gómez², M. y Cucurull¹, J.

¹Alimentació Animal i Producció, CAGSA (Corporación Alimentaria Guissona, S.A.) - bonÀrea Agrupa, 25210 Guissona, España. ²SETNA NUTRICIÓN S.A.U., 28522 Madrid, España; marsal.verdu@bonarea.com

INTRODUCCIÓN

Un hecho controvertido en la cría de terneros lactantes (mamones) es la existencia de programas de leche que suministran bajas cantidades de lactorreemplazante que no llegan a cubrir las necesidades de crecimiento de los animales. Esta práctica tiene por objetivo estimular cuanto antes mejor la ingesta de pienso y minimizar la aparición de diarreas asociadas supuestamente a mayores aportes de lactorreemplazante. Asimismo, este manejo del programa de leche es aún más cuestionable al percibir anorexia transitoria asociada al mercadeo y transporte que este tipo de ganado frecuentemente padece la primera semana tras la llegada a granja. Se ha observado que el incremento de aporte de lactorreemplazante durante la lactancia tiene efectos beneficiosos en el crecimiento y salud de los terneros (Díaz et al., 2001; Ballou et al., 2013). En relación al estado de salud, aunque a priori se esperaría una mejoría de la salud con una mayor aportación de lactorreemplazante, algunos estudios observan un incremento de diarreas con el incremento de lactorreemplazante suministrado (Huber et al., 1984; Quigley et al., 2006). De este modo, la hipótesis de trabajo es que un programa de leche intensivo, en términos de mayor cantidad de lactorreemplazante suministrada, conllevará una mejora del crecimiento, sin perjudicar el consumo de pienso y salud de los animales. Así pues, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de incrementar la cantidad de lactorreemplazante suministrada en el programa de leche sobre el consumo de pienso, crecimiento y salud de terneros Frisón lactantes criados bajo un sistema de producción intensivo y en condiciones experimentales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 48 terneros machos Frisón ($61 \pm 1,1$ kg de peso vivo y $32 \pm 2,2$ días de edad), procedentes de mercado nacional, fueron utilizados en un estudio aleatorizado. Los terneros fueron alojados individualmente en casetas de polietileno con corralillo (2,7 x 1,0 m). Cada caseta disponía de un par de cubos, donde se administraba pienso y agua a libre disposición, un soporte donde se suministraba la leche con cubo y tetina, y paja como cama. Cada caseta fue asignada a 1 de los 2 programas de leche de acuerdo con la cantidad de lactorreemplazante (LR) suministrada: un programa convencional (CON) de 6,5 kg/ternero, y un programa intensivo (INT) de 10,6 kg/ternero, un 60% más de aporte de LR. En el programa CON, los terneros recibieron LR a razón de 2 tomas de 360 y 300 g/d las semanas 1 y 2, y 1 toma de 180 y 90 g/d las semanas 3 y 4, respectivamente. En el programa INT, se administró LR mediante 2 tomas de 600 y 500 g/d las semanas 1 y 2, y 1 toma de 300 y 150 g/d las semanas 3 y 4, respectivamente. El destete se realizó el día 28 de estudio. El estudio tuvo una duración de 92 días con dos períodos diferenciados de lactancia (28 días) y post-destete (64 días). Todos los animales recibieron LR tipo spray [(1,46 unidades forrajeras de carne (UFC), 22,0% proteína bruta (PB), 19,0% grasa bruta (GB) sobre materia fresca (MF)], 4 piensos comerciales de formulación distinta, además de paja y agua a libre disposición. El programa de piensos consistió en un estérter (1,02 UFC, 15,7% PB sobre MF) los primeros 35 días de estudio, en harina los primeros 14 días y en granulado los 21 días posteriores, un post-estérter granulado los 27 días siguientes (1,02 UFC, 14,5% PB sobre MF), y un pienso de crecimiento (1,02 UFC, 13,8% PB sobre MF) los últimos 30 días de estudio. En cada caseta, durante la lactancia, se registró a diario el consumo de LR y el estado de salud de los animales (tratamientos veterinarios, animales retirados del estudio y muertos), además de una calificación de la consistencia de las heces, y, semanalmente, el consumo de pienso y peso vivo (PV). A partir del día 36 de estudio en adelante, el consumo de pienso, paja y el PV se registraron cada 14 días. La unidad experimental fue la caseta. Los datos se analizaron usando un modelo de efectos mixtos con medidas repetidas (Versión 9.4, SAS Inst., Inc., Cary, NC). El modelo estadístico incluyó el PV inicial como covariable, el tratamiento, el tiempo y su interacción como efectos fijos, y, la caseta como efecto aleatorio. Los datos relativos al estado de salud de los animales se analizaron con un test Chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en el estado salud y calificación de la consistencia de las heces ($P > 0,10$). Durante el período pre-destete, los terneros del programa INT tendieron a ser más eficientes que los CON ($P = 0,06$; Tabla 1). Como era de esperar, las diferencias de consumo de lactorreemplazante fueron debidas al programa de leche suministrado. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en crecimiento y consumo de pienso ($P > 0,10$; Tabla 1). En relación al período post-destete, los terneros INT registraron un mayor consumo de paja que los alimentados con el programa CON ($P < 0,01$; Tabla 1). Además, los terneros CON tendieron a exhibir mejor eficiencia alimentaria que los INT ($P = 0,10$; Tabla 1).

Tabla 1. Consumo de pienso y datos productivos de terneros alimentados según programa de leche y cantidad de lactorreemplazante recibida.

	Programa ¹		EEM ²	P-valor Programa
	CON	INT		
Período pre-destete (28 días)				
Peso vivo inicial, kg	61,1	61,0	1,09	0,99
Edad inicial, días	31,8	31,8	2,18	0,99
Peso vivo final, kg	65,7	68,6	1,37	0,13
Consumo total de lactorreemplazante, kg MF	6,5	10,6	0,05	<0,01
Consumo total de pienso, kg MF	19,5	16,5	1,53	0,18
Ganancia media diaria, kg/d	0,17	0,27	0,049	0,14
Eficiencia alimentaria, kg/kg	0,23	0,32	0,033	0,06
Período post-destete (64 días)				
Peso vivo final, kg	132,5	135,7	3,31	0,51
Edad final, d	123,4	123,7	0,53	0,68
Consumo total de pienso, kg MF	199,5	204,4	6,86	0,61
Consumo total de paja, kg	6,8	9,2	0,53	<0,01
Ganancia media diaria, kg/d	1,05	1,04	0,037	0,83
Eficiencia alimentaria, kg/kg	0,32	0,31	0,006	0,10

¹Programa de leche según la cantidad de lactorreemplazante recibida: CON = convencional (6,5 kg/ternero), INT = intensivo (10,6 kg/ternero).

²EEM: Error estándar de la media.

En conclusión, un programa de leche intensivo con un aumento del 60% de la cantidad de lactorreemplazante para la cría de terneros mamones tuvo varios efectos positivos sobre los resultados productivos y de salud en el período pre-destete: 1) mejoró un 40% la eficiencia alimentaria (0,09 kg/kg), 2) mejoró numéricamente un 4% el PV final (2,9 kg), 3) no redujo el consumo de pienso, y, 4) no perjudicó la salud de los terneros. Estos resultados se mantuvieron durante el período post-destete hasta el final del estudio, salvo la eficiencia alimentaria que empeoró un 4% (0,01 kg/kg) debido a un incremento del consumo de pienso y paja de los terneros que siguieron el programa de leche intensificado. A la luz de los resultados, se puede refutar la idea que programas de leche con mayores aportes de lactorreemplazante durante la lactancia sean contraproducentes en términos de comprometer la ingesta de pienso y/o acrecentar la aparición de diarreas y empeorar el estado de salud de los terneros. No obstante, queda pendiente estudiar qué factores pueden causar el desconcertante ligero efecto de intensificar la cantidad de lactorreemplazante sobre el crecimiento y eficiencia alimentaria en terneros mamones procedentes de mercado, ya que experiencias similares en la recría de terneras son mucho más exitosas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ballou, M. 2013. Prof. Anim. Sci. 29:116-123.
- Díaz, M. C. 2001. J. Dairy Sci. 84:830-842.
- Huber, J. T. 1984. J. Dairy. Sci. 67:2957-2963.
- Quigley, J. D. 2006. J. Dairy Sci. 89:207-216.

Agradecimientos: Este estudio ha sido posible gracias a la colaboración del personal de Granja Nial, Corporación Alimentaria Guissona, S.A. (CAGSA) - bonÀrea Agrupa.

EFFECT OF INTENSIFYING THE AMOUNT OF MILK REPLACER ON CONCENTRATE CONSUMPTION, PERFORMANCE, AND HEALTH IN MILK-FED HOLSTEIN CALVES

ABSTRACT: The study aim was to evaluate the effect of increasing the amount of milk replacer on concentrate intake, performance, and health in milk-fed calves. Forty-eight Holstein calves were housed in individual pens, and each pen was randomly assigned to one of the 2 treatments according to milk replacer program and the amount of milk replacer provided: a conventional program with 6.5 kg/calf, and an intensive program with 10.6 kg/calf. Conventional program was 360 and 330 g/d week 1 and 2, twice daily, and 180 and 90 g/d week 3 and 4 once daily. Intensive 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, fecal score, and milk consumption were registered daily, and concentrate intake and animal body weight weekly. Data were analyzed using a mixed-effects model with repeated measures. In conclusion, intensive program achieved during preweaning period an improvement of feed efficiency and increase of body weight without impairing concentrate consumption and health status. These productive results were kept during the postweaning period. Thus, the intensive program recorded slight and encouraging productive benefits.

Keywords: amount of milk replacer, concentrate consumption, milk-fed calves, performance

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON UN POSTBIÓTICO BASADO EN BACTERIAS LÁCTICAS Y LEVADURAS EN EL SISTEMA INMUNE DE TERNERAS LECHERAS DE REPOSICIÓN

Salama¹, A.A.K. y Rovai², M.

¹Grup de Recerca en Remugants (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Barcelona. ²Dairy and Food Science Department, Box 2104, South Dakota State University, Brookings, 57007, SD, EEUU; ahmed.salama@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La microbiota intestinal afecta muy marcadamente al estado nutricional e inmunológico de los animales. En las últimas décadas, la suplementación de la dieta animal con suplementos fermentados ha mostrado resultados muy prometedores, aumentando la productividad y reduciendo las enfermedades, y por lo tanto la necesidad de antibióticos (Aguilar-Toalá et al., 2018). Los probióticos (microorganismos vivos) y prebióticos (alimento para la microflora) confieren un beneficio para la salud en el huésped (Fijan, 2014). Por otro lado, los postbióticos son una amplia gama de compuestos que se producen durante el proceso de fermentación o la actividad metabólica del microorganismo probiótico (Aguilar-Toalá et al., 2018). Estos compuestos juegan un papel extremadamente importante en la regulación de la salud y en el mantenimiento de un microbioma saludable.

Los terneros de edades tempranas se enfrentan a periodos de baja inmunidad (especialmente alrededor del destete) y tienen más riesgo de sufrir enfermedades (Chase et al., 2008). Por ello, el uso de postbióticos podría mejorar el estado inmunológico de los terneros, reduciendo su disposición a la infección y así mejorar la productividad.

Probisán[®] es un postbiótico obtenido del proceso de fermentación de un cultivo de bacterias lácticas y levaduras. La hipótesis del presente estudio fue que la suplementación con Probisán[®] tendría un efecto inmunomodulador y mejoraría el sistema inmunológico de las terneras, especialmente en periodos críticos de la vida productiva.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y condiciones de manejo: Se utilizaron un total de 70 terneras (Holstein×Jersey) desde el nacimiento hasta la semana 18, en un experimento de diseño de bloques completos al azar, en una granja lechera comercial (Hammink Dairy Farm; Bruce, SD, EEUU) durante el invierno (−35 a −4°C). Durante las primeras 7 semanas, las terneras recibieron 5,7 L/d (6 qt.US liq) de leche de vaca pasteurizada en 3 tomas/d (7, 13 y 18 h). Las terneras se destetaron en la semana 9 y se alimentaron con concentrado y heno ad libitum. A los 43 ± 2 d de edad se descornaron aplicando un descornador eléctrico, previa administración de un antiinflamatorio (Meloxicam 15 mg; Unichem, Goa, India) y un sedante (Rompun; Bayer HealthCare, KS, EEUU). En la semana 9, las terneras se vacunaron por vía intranasal contra los virus de sincitial respiratorio bovino (BRV), rinotraqueitis infecciosa bovina y parainfluenza-3 (Inforce 3, Zoetis Services, Parsippany, NJ, EEUU).

Tratamientos: Al día 3 de edad, las terneras se dividieron en 2 grupos experimentales:

- Control (**CON**; n = 35): terneras sin suplementación.
- Probisán[®] (**PRO**; n = 35): terneras suplementadas con un postbiótico (Probisán[®], Pentabiol, Navarra, ES). Del día 3 al destete, se añadieron 3 g de PRO en la leche. Después del destete, se añadieron 1,5 g/kg de PRO al concentrado.

Muestreo y medidas: El peso vivo se registró semanalmente, utilizando una balanza digital Caf-Cart[®] (Raytec LLC, Ephrata, PA, EEUU). Se registró diariamente la ingestión de materia seca de concentrado. A los d 10 y 20 después del descornado se evaluó el estado de la herida utilizando una escala de calificación numérica de 1 a 3, donde: 1 = sin infección (exudado seco y cierre adecuado de la herida), 2 = inflamación (exudado seroso ligeramente húmedo y cierre levemente inadecuado de la herida), y 3 = infección (exudado purulento húmedo y cierre inadecuado de la herida).

En la semana 16, se recogieron muestras de secreciones nasales de 46 terneros (n = 23 por tratamiento) utilizando esponjas estériles insertadas en la cavidad nasal durante 5 min. A continuación, se obtuvieron las secreciones y se congelaron a −80°C hasta el análisis de IgA totales y específicas al BRV. El análisis del IgA se realizó mediante un kit ELISA (Bethyl Laboratories Inc., Montgomery, TX, EEUU).

En la semana 17, se tomaron además muestras de sangre para realizar en condiciones *ex vivo* un reto con lipopolisacáridos (LPS) de *E. coli* (O111: B4, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EEUU) y *Salmonella* (*Salmonella typhimurium* SL1181; Sigma-Aldrich). El nivel de interleukina-1 β (IL-1 β) en sangre se midió mediante ELISA, para evaluar la respuesta inflamatoria a ambos LPS a dosis baja (0,01 $\mu\text{g/mL}$) y alta (5 $\mu\text{g/mL}$).

Los datos de ingestión y peso vivo se analizaron mediante el PROC MIXED (SAS 9.4) con medidas repetidas. Los niveles de IgA en las secreciones nasales e IL-1 β (reto de LPS) se analizaron mediante el PROC GLM. Para los datos de descornado, se utilizó el PROC FREQ para la determinación del porcentaje de terneros en cada categoría. Dado que los datos de descornado son de tipo discreto (1, 2 o 3), en su análisis, se aplicó un modelo logístico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias ($P = 0,96$) entre los 2 tratamientos para el peso vivo (32,0 a 137,8 kg; peso medio = $71,8 \pm 0,9$ kg) ni para el ritmo de crecimiento medio (785 ± 11 g/d) de la semana 1 a la 18. Además, ambos grupos consumieron una cantidad similar de concentrado de la semana 3 a la 5 (226 ± 67 g/d). Sin embargo, entre las semanas 6 y 10, las terneras PRO consumieron menos ($P < 0,05$) cantidades de concentrado (CON = 926 ± 51 g/d y PRO = 804 ± 50 g/d). Este menor consumo para los animales PRO podría indicar una mejor eficiencia, ya que consumieron menos cantidades de concentrado pero crecieron al mismo nivel que las terneras CON.

Las secreciones nasales de las terneras PRO contuvieron niveles más altos ($P < 0,05$) de IgA total ($12,5 \pm 0,80$ vs. $9,3 \pm 0,71$ mg/mL) y específica al BRSV ($5,63 \pm 0,50$ vs. $4,60 \pm 0,31$ mg/mL) que las terneras CON, tal como se muestra en la Figura 1. Estos anticuerpos están presentes en las membranas mucosas que recubren las vías respiratorias y el tracto digestivo, indicando que las terneras PRO serían más resistentes a una eventual infección.

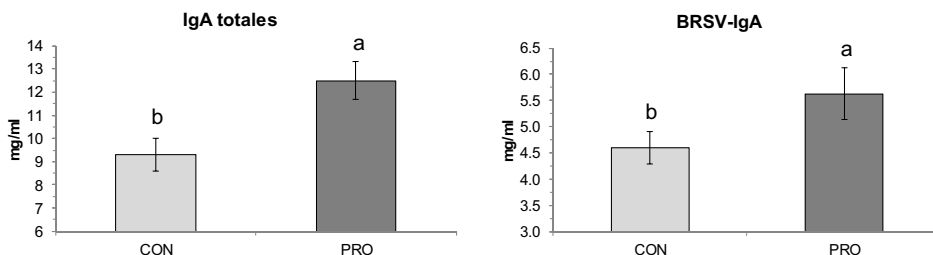


Figura 1. Concentraciones de anticuerpos IgA totales y específicos a la vacuna contra virus BRSV en las secreciones nasales de las terneras sin suplementación (CON) o suplementadas con Probisan® (PRO). ^{a, b} indican una diferencia significativa a $P < 0,05$.

En el proceso de respuesta inflamatoria, la IL-1 β es un mediador clave para la respuesta del huésped a los patógenos (López-Castejon y Brough, 2011). En nuestro estudio, la concentración de IL-1 β se usó como un indicador de la respuesta inflamatoria de las células sanguíneas al tratamiento con LPS de *E. coli* y *Salmonella*. Como se muestra en la Figura 2, las terneras PRO tuvieron una menor respuesta inflamatoria ($P < 0,05$) a los LPS de *E. coli* (1413 ± 200 vs. 2793 ± 405 pg IL-1 β /mL) y *Salmonella* (1533 ± 265 vs. 2797 ± 540 pg IL-1 β /mL). Las terneras PRO, en comparación con el grupo CON, tuvieron valores de IL-1 β más bajos en ambas dosis de LPS de *Salmonella*, pero esta diferencia desapareció con la dosis alta de LPS de *E. coli* (Figura 2). La dosis alta se usó para analizar el máximo potencial de la respuesta inmune, mientras que la dosis baja representa un desafío más fisiológico.

El grado de inflamación e infección por el descornado fue mayor ($P < 0,05$) en CON que en PRO en los días 10 y 20 después de su realización. Además, 10 d después del descornado, el 50% de las terneras CON presentaron inflamación o infección (20% puntuación 2 y 28,6% puntuación 3). Por otro lado, el 73% de las terneras PRO fueron normales (puntuación 1 o no infectadas), mientras que solo el 27% presentó heridas (14,7% puntuación 2 y 11,8% puntuación 3).

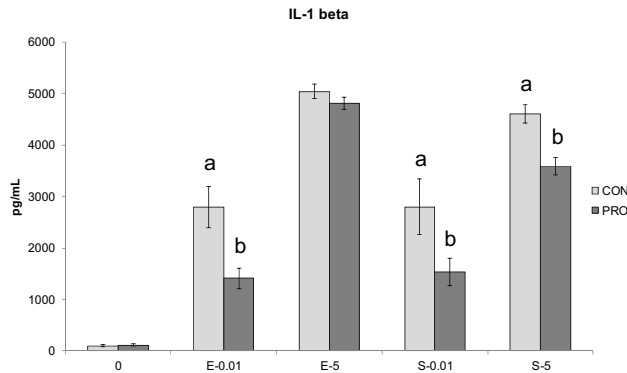


Figura 2. Concentraciones de interleucina-1 β (IL-1 β) en respuesta al tratamiento de las células sanguíneas con LPS de *E. coli* (E) y *Salmonella* (S) en terneras sin suplementación (CON) o suplementadas con Probisan[®] (PRO). El LPS se aplicó en dosis baja (0,01 μ /mL) y alta (5 μ /mL). ^{a, b} indican una diferencia significativa a $P < 0,05$ dentro de cada dosis de LPS.

En conclusión, la mayor concentración de IgA en las secreciones nasales, junto con la menor respuesta inflamatoria de las células sanguíneas al tratamiento con LPS, así como la menor inflamación e infección debidas al descornado, indicaron una mejoría en el estado inmunológico de las terneras suplementadas con el postbiótico Probisan[®].

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Toalá et al. 2018. Trends in Food Science & Technology 75:105-114.
- Chase, C.C., Hurley, D.J., & Reber, A.J. 2008. Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract. 24:87-104.
- Lopez-Castejon, G. & Brough, D. 2011. Cytokine Growth Factor Rev. 22:189-195.
- Fijan, S. 2014. Int. J. Environ. Res. Public Health. 11:4745-4767.

Agradecimientos: Los autores agradecen a Leyby S. Guifarro por la ayuda incondicional en realizar el trabajo, a Hammink Dairy LLC (Bruce, SD) por el excelente cuidado de los animales y a PENTABIOL, S. L. Navarra, España por el soporte del estudio.

EFFECT OF LACTIC ACID BACTERIA AND YEAST-BASED POSTBIOTIC ON THE IMMUNE SYSTEM OF DAIRY HEIFER CALVES

ABSTRACT: To evaluate the effect of a lactic acid bacteria and non-bitter fermented yeast on the immune system, 70 heifer-calves were randomly assigned to: 1) Control with no supplement (**CON**; n = 35) or 2) Supplemented with Probisan[®], (**PRO**; n = 35). From birth to weaning (wk 8), PRO calves received Probisan in milk (3 g/d). From wk 9 to 18, Probisan was added to the concentrate mixture (1.5 g/kg). Body weight was recorded weekly. Calves were vaccinated intranasally at wk 9 with bovine respiratory syncytial virus (BRSV), infectious rhinotracheitis virus, and parainfluenza-3 virus. Nasal secretions were collected for the analysis of IgA and BRSV-IgA. Blood was also sampled for the ex vivo *E. coli* and *Salmonella* lipopolysaccharide (LPS) challenges. Body weight and blood IgG were similar ($P > 0.10$). Nasal secretions of PRO contained greater ($P < 0.05$) IgA (12.5 ± 0.80 vs. 9.3 ± 0.71 mg/mL) and log₂ antibody titre of BRSV-IgA (5.63 ± 0.50 vs. 4.60 ± 0.31). Additionally, PRO had lower ($P < 0.05$) inflammatory response to *E. coli* ($1,413 \pm 200$ vs. $2,793 \pm 405$ pg IL-1 β /mL) and *Salmonella* ($1,533 \pm 265$ vs. $2,797 \pm 540$ pg IL-1 β /mL) LPS. Overall, the greater total and specific IgA in nasal secretions together with the lower inflammatory response to LPS indicates an improvement in the immune status of heifer calves supplemented with Probisan[®].

Keywords: postbiotic, immune function, heifer calves.

RESPUESTAS A UN RETO CON LPS DE *E. COLI* DE OVEJAS LECHERAS SUPLEMENTADAS CON DISTINTOS NIVELES DE BETA-GLUCANOS DE CEBADA

Elhadi, A., Guamán, S., Caja, G., y Albanell, E.

Grupo de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España; E-mail: elena.albanell@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Los β -glucanos (BG), componentes de la pared celular especialmente abundantes en cereales, levaduras y hongos (Rieder y Samuelsen, 2012), han despertado reciente interés para su utilización como ingredientes alimenticios funcionales y bioactivos, dados sus múltiples efectos en la salud (Lazaridou y Biliaderis, 2007). El grano de avena y cebada contiene normalmente entre 2-11% BG (Rieder y Samuelsen, 2012), pero existen variedades especialmente ricas en BG. Además, los BG de cebada, dado su bajo peso molecular y alta solubilidad, pueden proporcionar sustratos fácilmente asimilables y ser incluidos en raciones para animales de producción (Reilly et al., 2010).

Estudios en peces (Hofer y Pospíšil, 2011; Meena et al., 2013) y ratones (Samuelsen et al., 2014) han indicado efectos inmuno-estimuladores y profilácticos de los BG contra infecciones bacterianas. En rumiantes, los BG son rápidamente solubilizados en el rumen (Degradabilidad Efectiva_{16h} = 95,6%; Degradabilidad Teórica = 100%), pero, pese a ello, son rápidamente absorbidos y capaces de ser detectados en sangre, tal como indicaron Torrent (2017) y Torrent et al. (2017) en ovejas lecheras suplementadas con BG de cebada. Igualmente, Contreras-Jodar et al. (2017) detectaron diferencias en el metaboloma de la leche y orina de las mismas ovejas, poniendo en evidencia sus efectos metabólicos en rumiantes.

El lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli*, es una endotoxina capaz de producir citoquinas pro-inflamatorias al estimular el sistema inmune, lo que permite evaluar de forma no infecciosa la capacidad de respuesta del sistema inmune de organismos vivos (Jones et al., 2004) mediante el llamado "LPS challenge" (reto de LPS).

El objetivo de este trabajo consistió en estudiar la respuesta inmune a corto plazo de ovejas lecheras suplementadas con BG de cebada, por diferentes vías, al someterlas a un reto de LPS.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: Se utilizaron 36 ovejas lecheras (18 Manchegas y 18 Lacaunes), al final de lactación, del Servei de Granges i Camps Experimentals (SGCE) de la UAB (Bellaterra). Tras un periodo de adaptación (7 d), en el que recibieron en la sala de ordeño un suplemento de 350 g/d de cebada cv. Hispanic (Semillas Batlle, Lleida) con 3,8% de BG, las ovejas se dividieron en 3 lotes equilibrados (según raza, peso, condición corporal, producción de leche, número de lactación, días en lactación y células somáticas), a los que se aplicaron aleatoriamente los tratamientos alimentarios experimentales durante 14 d.

Tratamientos experimentales:

- Control (CO): manteniendo la misma suplementación que en la adaptación (13,3 g/d BG);
- Suplementación oral (SO): suplementadas con cebada cv. Annapurna (Semillas Batlle) con 10% de BG (35 g/d BG);
- Aplicación intraperitoneal (IP): mismo tratamiento que CO pero recibió una única inyección intraperitoneal de 140 mL de una solución de BG de cebada al 1,4% (2 g BG).

A los 9 d de iniciar los tratamientos experimentales (d 0), todas las ovejas se sometieron a un reto de LPS, inyectando 1 mL de una solución de endotoxina de *E. coli* (5 μ g/mL; Sigma-Aldrich, St Louis, MI) en una mitad de la ubre y 1 mL de suero fisiológico (0,9% NaCl; B Braun, Barcelona) en la otra, de forma aleatoria. El ordeño por ubre entera se realizó 2 veces al día (7:00 y 17:00 h) en una sala 2x12 con línea alta (Amarre Azul-1, DeLaval, Alcobendas, España) a 40 kPa, 120 p/min y 50% RP.

Medidas, muestras y análisis: Durante los d 0-5 se tomaron datos de temperatura rectal (AccuVet, Tecnovet, Barcelona) y producción de leche, así como muestras de leche y sangre a nivel individual. Las muestras de leche se conservaron a 4°C, previa adición de Bronopol (Broad Spectrum Micro-TabsII, D&F Control Systems, San Ramon, CA) y se determinó su composición (Milkosan, Foss Electric, DK) y recuento de células somáticas (RCS) (Fossomatic 5000, Foss Electric). Las muestras de sangre se tomaron en ayunas,

antes del ordeño de la mañana, utilizando viales con heparina de Li (DD Vacutainer, Belliver Ind. Estate, Plymouth, UK), de los que se obtuvo plasma. Las muestras se conservaron a -20°C para análisis de interleucinas (IL1 α y β) por ELISA (Assam, Canadá).

Análisis estadístico: Los datos se analizaron mediante el procedimiento MIXED para medidas repetidas de SAS (v.9.4). El modelo incluyó como efectos fijos el tratamiento y el tiempo, además de su interacción, y como efectos aleatorios la ubre (oveja) y el error residual. Los resultados se presentan como medias mínimo cuadráticas (lsm) y las diferencias se separaron con PDIFF a $P < 0,05$. Se consideraron tendencias a $P < 0,10$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias en el peso vivo ni condición corporal de las ovejas ($P > 0,05$), así como tampoco en el valor de las variables estudiadas, a lo largo del experimento (Tabla 1). Sin embargo, se observó una tendencia ($P = 0,06$) a la disminución del contenido de lactosa de la leche por efecto del reto con LPS. Esta disminución indicó la severa afectación de la glándula mamaria por el LPS, que fue menor en el tratamiento IP. Igualmente, el RCS aumentó por efecto del LPS, pero sin que se apreciaran diferencias entre tratamientos.

Tabla 1. Respuesta al reto con LPS de ovejas lecheras sometidas a distintos tratamientos con β -glucanos de cebada (CO, Control; SO, Suplementación oral; IP, Intraperitoneal).

Item	Valor inicial ¹ (d 0)	Reto (d 1-5)			Efecto medio del reto ¹	P-valor Reto	
		CO	SO	IP		T	d
T. rectal, $^{\circ}\text{C}$	$38,52 \pm 0,05^b$	38,80	38,90	38,80	$38,83 \pm 0,05^a$	0,13	0,001
Leche, kg/d	$0,75 \pm 0,05^a$	0,68	0,53	0,52	$0,58 \pm 0,08^b$	0,29	0,001
Composición, %							
Proteína	$6,54 \pm 0,14^b$	6,86	7,14	6,80	$6,93 \pm 0,21^a$	0,47	0,001
Lactosa	$4,37 \pm 0,08^b$	$3,64^x$	$3,50^x$	$3,80^y$	$3,64 \pm 0,09^a$	0,06	0,001
Grasa	$7,71 \pm 0,23^b$	8,44	9,13	8,72	$8,76 \pm 0,33^a$	0,35	0,001
Solidos totales	$11,8 \pm 0,9$	11,4	11,6	12,8	$11,9 \pm 0,8$	0,37	0,083
Urea, g/L	86 ± 2	84	87	81	84 ± 2	0,15	0,001
RCS, \log_{10}	$4,94 \pm 0,12^b$	5,73	5,70	5,87	$5,77 \pm 0,12^a$	0,59	0,001
Interleucinas, pg/mL							
IL α	318 ± 47	346	358	299	334 ± 76	0,84	0,27
IL β	141 ± 27	170	133	79	127 ± 42	0,31	0,19
IL $\alpha+\beta$	337 ± 43	308	416	326	350 ± 69	0,52	0,27

T, Tratamiento; d, Día; RCS, Recuento células somáticas $\times 10^3$. ^{a,b}Letras diferentes indican $P < 0,05$ entre inicial y media del reto; ^{x,y}Letras diferentes indican tendencia a $P < 0,1$ entre tratamientos; Interacción T \times d $P > 0,05$.

¹Medias \pm error estándar.

Todas las ovejas aumentaron su temperatura rectal respecto al d 0, durante el reto LPS, pero no se observaron diferencias entre tratamiento de BG. Tampoco se detectaron diferencias en los valores de IL1 α y β , o la suma de ellas, por los tratamientos de BG ni por efecto del tiempo (Figura 1). Pese a ello, sus valores numéricos aumentaron en el transcurso del experimento, coincidiendo con el aumento del RCS y en respuesta a la inflamación. Hay que señalar que las IL poseen un vida media muy corta y actúan a muy bajas concentraciones (Briard et al., 2014; Rainard et al., 2016).

Es importante señalar que, tal como se observa en la Fig. 1A, los valores de IL del d 0 de las ovejas del grupo IP de tratamiento con BG fueron más bajos que los de las ovejas CO y SO ($P < 0,01$), así como también sus valores de RCS, aunque no significativamente. Esto indicó que fueron capaces de reconocer y responder rápidamente al LPS de *E. coli*, mediante el reclutamiento significativo de leucocitos a la glándula mamaria sin que se produjera un proceso de fuerte inflamación, lo que se tradujo en una captura y eliminación más efectiva de la endotoxina presente en la ubre.

En conclusión, el reto LPS estimuló una marcada respuesta inmune a corto plazo en ovejas suplementadas con BG, que resultó más efectiva al ser aplicados por vía intraperitoneal. Este estímulo de la respuesta inmune de las ovejas lecheras, podría proporcionar protección

contra infecciones intramamarias (mastitis). Es necesario completar los estudios a medio y largo plazo para validar los efectos de los BG de cebada y recomendar estrategias de utilización en la práctica.

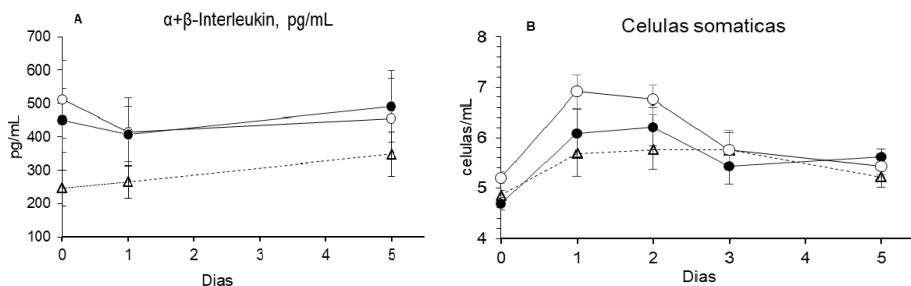


Figura 1. Interleucinas $\alpha+\beta$ (A) y Células somáticas (B) en ovejas suplementadas con β -glucanos de cebada (○, control; ●, suplementación oral; Δ, intraperitoneal).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Briard, N., Dadoun, F., Pommier, G., Sauze, N. & Lebouc, Y. 2014. *J. Endocrinol.* 164:361-369 • Contreras-Jodar, A.C., Mehaba, N., Albanell, E. & Caja, G. 2017. XVII Jornadas AIDA, Zaragoza, pp. 219-221. • Hofer, M. & Pospíšil, M. 2011. *Molecules.* 16:7969-7979 • Jones, K.L., de Kretser, D., Clarke, I.J., Scheerlinck, J.P.Y. & Phillips, D.J. 2004. *J. Endocrinol.* 182:69-80 • Lazaridou, A. & Biliaderis, C.G. 2007. *J. Cereal. Sci.* 46:101-118 • Meena, D.K., Das, P., Kumar, S., Mandal, S.C., Prusty, A.K., Singh, S.K. & Mukherjee, S.C. 2013. *Fish. Physiol. Biochem.* 3:43-457 • Rainard, P., Cunha, P. & Gilbert, F.B. 2016. *PLoS One* 8:e0154172 • Reilly, P., Sweeney, T., O'Shea, C., Pierce, K.M., Gigat, S., Smith, A.G. & O'Doherty, J.V. 2010. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 158:165-176 • Rieder, A. & Samuelson, A.B. 2012. *Mol. Nutr. Food Res.* 56:536-547 • Samuelson, A.B.C., Schrezenmeier, J. & Knutsen, S.H. 2014. *Mol. Nutr. Food Res.* 58:183-193 • Torrent, N. Tesis de Msci, IAMZ-CIHEAM, Zaragoza • Torrent, N., Mehaba, N., Love, S., Salama, A.A.K., Albanell, E. & Caja, G. 2017. XVII Jornadas AIDA, Zaragoza, pp. 216-218.

Agradecimientos: Paco Batlle (Semillas Batlle) e Ignacio Romagosa (UdL) por el soporte y suministro del material vegetal. Trabajo financiado por MINECO/FEDER (AGL2015-69435-C3-3-R) y Beca de formación del Gobierno de Ecuador (SENESCYT) a S. Guamán.

RESPONSE OF DAIRY SHEEP SUPPLEMENTED WITH DIFFERENT LEVELS OF BETA-GLUCANS OF BARLEY TO A LPS CHALLENGE FROM *E. COLI*

ABSTRACT: The response to an *E. coli* LPS challenge was studied in dairy ewes (n = 36) at late lactation supplemented with different levels of barley β -glucans (BG). After an adaptation of 7 d, in which ewes were fed with 350 g/d of conventional barley, they were randomly assigned to 3 dietary treatments during 14 d: CO (conventional barley, 3.8% BG), SO (high BG-barley, 10% BG) and IP (conventional barley and intraperitoneal injection of 2 g BG). The LPS challenge was done by half-udder (0 or 5 μ g/half-udder) after 9 d of receiving the BG supplements. No differences between BG treatments were observed in the response to LPS on body weight, condition score, rectal temperature, interleukin α and β , but milk yield and composition varied by the LPS. Response to LPS vary by BG in the case of lactose milk content that was lower for the IP treatment. Moreover, the basal interleukin values were greater in the IP treatment, indicating that an effective BG supplementation may increase the immunity status of the animals and the protection of dairy ewes to mastitis.

Keywords: barley, betaglucans, dairy sheep, inflammation

ESTRETAGIAS DE MITIGACIÓN DE ESTRÉS POR CALOR EN CABRAS LECHERAS: SUPLEMENTACIÓN CON METIONINA PROTEGIDA

Mehaba, N., Coloma, W., Such, X., Salama, A.A.K., y Caja, G.

Grupo de Investigación en Rumiantes (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra;
xavier.such@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Está demostrado que los efectos negativos del estrés por calor (EC) en cabras lecheras incluyen una disminución en la ingestión, acompañada por un aumento en el consumo de agua, ritmo respiratorio y temperatura rectal (Salama et al., 2014). Todo ello repercute en una disminución de la producción de leche, así como en una modificación de su calidad (i.e., grasa, proteína y caseína).

Se ha documentado efectos positivos de la suplementación con metionina protegida ante la degradación ruminal en vacuno lechero. Al inicio de la lactación las vacas suplementadas con metionina aumentaron la ingestión, la producción de leche, grasa, proteína, y leche estandarizada al 3,5% de grasa (Batistel et al., 2017).

Durante las dos primeras semanas de lactación, en cabras suplementadas con metionina, se observó un aumento en la producción de leche y contenido en lactosa, además de una disminución en el recuento de células somáticas de la leche (Piccioli-Cappelli et al., 2016).

Las cabras suplementadas con metionina mostraron también cambios positivos en el peso vivo durante la lactación, que aumentó a medida que se incrementaba la dosis (Alonso-Méendez et al., 2016). Las respuestas positivas *in vitro* a la suplementación con metionina, permiten suponer que dicha suplementación durante el EC puede tener un efecto positivo en el metabolismo de la glándula mamaria (Salama et al., 2019), y en consecuencia, puede ser una buena estrategia para mejorar la producción lechera en condiciones de EC.

Los objetivos del presente estudio fueron evaluar los efectos de la suplementación con metionina protegida sobre los parámetros fisiológicos y productivos de cabras lecheras expuestas al estrés por calor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y diseño experimental: Se utilizaron 8 cabras lecheras multíparas de raza Murciano-Granadina a mitad de lactación ($89,6 \pm 0,3$ d en ordeño, $2,40 \pm 0,06$ L/d leche y $43,3 \pm 1,5$ kg PV), previamente adaptadas a los corrales individuales en el SGCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la UAB durante 17 días. Los corrales se situaron en el interior de una nave aislada y en una cámara climática ($4 \times 6,2 \times 3,6$ m; ETS Lindgren-Euroshield Oy, Eura, Finlandia), equipada con un sistema calentador y humidificador (Carel Control Ibérica, Barcelona) y renovación continua de aire ($90 \text{ m}^3/\text{h}$).

El diseño experimental consistió en un cuadrado latino repetido 4×4 (Tratamiento \times Periodo), con 4 periodos de 21 días cada uno y un periodo de transición de 7 días. Las cabras fueron asignadas secuencialmente a cada uno de los 4 tratamientos, según un diseño factorial 2×2 (Ración \times Ambiente), correspondientes a:

- Ración: control (**Con**) sin suplementación, o suplementación con 2.6 g/d de metionina (**Met**; Smartamine M, Adisseo NA, Alpharetta, GA),
- Ambiente: termo-neutralidad (**TN**, $19,4 \pm 0,02^\circ\text{C}$; humedad $58 \pm 0,22\%$; THI = 65) o estrés por calor (**EC**, de 9-21 h a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ y de 21-9 h a $27,9 \pm 0,07^\circ\text{C}$ con $45 \pm 5\%$ de humedad relativa; THI = 83 y 76, respectivamente).

Las cabras recibieron una ración total mezclada (70 % forraje y 30 % concentrado) y agua a voluntad, y se ordeñaron 2 veces al día (8 y 17 h) con un equipo portátil de ordeño (GEA, Granollers, Barcelona).

Medidas, toma de muestras y análisis: El ritmo respiratorio y la temperatura rectal se midieron 3 veces al día (0800h, 1200h y 1700h). Se pesó diariamente la ingestión individual de alimento y agua, así como la producción de leche (MobbaXie, Mobba, Barcelona). Se tomaron dos muestras semanales de leche para el análisis de composición. Las muestras de leche se analizaron mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (Foss NIRSystem 5000, Foss, Hillerød, Dinamarca).

Análisis estadísticos: Los datos fueron analizados por el PROC MIXED de SAS v. 9.4 para medidas repetidas (SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU). El modelo utilizado fue: $Y_{ijklm} = \mu +$

$temp_i + Met_j + periodo_k + día_l + (temp \times Met)_{ij} + (temp \times periodo)_{ik} + (temp \times día)_{il} + (Met \times periodo)_{jk} + (periodo \times día)_{kl} + \varepsilon_{ijklm}$, donde Y es la variable dependiente, los efectos fijos de la μ las medias generales, temp, el efecto de temperatura ($i = TN$ o EC), Met, el efecto de la suplementación con metionina ($j =$ suplementación o control), periodo, el efecto del periodo ($k = 1 - 4$), las interacciones dobles entre los efectos fijos y ε_{ijklm} el error residual. Los resultados se expresan como medias de mínimos cuadrados con el error estándar de la media (ESM). Se consideró la significancia estadística a $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la respuesta fisiológica se presentan en la Tabla 1. Como era de esperar, las cabras EC demostraron una temperatura rectal y ritmo respiratorio más altos que las cabras TN ($P < 0,001$). La suplementación con metionina parece reducir el efecto del EC en las cabras ($P < 0,01$), ya que la temperatura rectal fue inferior ($39,67 \pm 0,03$ vs. $39,60 \pm 0,03$ °C), por el control y la suplementación respectivamente. Este hecho se confirma ($P < 0,03$) en los valores del ritmo respiratorio en cabras bajo EC, que también fue menor. Sin embargo, Kassube (2016) observó un aumento de la temperatura rectal debido a la infusión intravenosa en vaca lecheras con metionina bajo estrés por calor.

Tabla 1. Temperatura rectal y ritmo respiratorio de cabras lecheras Murciano-Granadina en condiciones de termo-neutras (TN) y estrés por calor (EC). En cada ambiente, hubo cabras control (Con) o suplementadas con 2,6 g/d de metionina protegida (Met).

Ítem	TN		EC		ESM	Efecto ($P <$)		
	Con	Met	Con	Met		EC	Met	EC \times Met
Temperatura rectal, °C						0,001	0,01	0,01
0800h	38,44	38,43	39,27	39,21	0,04			
1200h	38,59	38,60	39,72	39,63	0,04			
1700h	38,78	38,78	40,01	39,90	0,04			
Ritmo respiratorio, r/min						0,001	0,03	0,03
0800h	28	28	98	92	2			
1200h	32	32	140	135	2			
1700h	35	36	162	161	2			

La ingestión de materia seca disminuyó un 10% en cabras expuestas a EC (TN vs. EC, $2,35 \pm 0,08$ vs. $2,12 \pm 0,08$ kg/d; $P < 0,001$) (Tabla 2). La suplementación con metionina no afectó ni la ingestión ni el consumo de agua en ambas condiciones ambientales, lo que está de acuerdo con lo observado por Alonso-Mélendez et al. (2016). Las cabras de EC aumentaron un 44% el consumo de agua en comparación con las de TN (TN vs. EC, $4,55 \pm 0,51$ vs. $6,53 \pm 0,51$ kg/d; $P < 0,001$), lo que concuerda con los resultados descritos por Hamzaoui et al. (2013). Sin tener en cuenta la suplementación, las cabras bajo condiciones de EC perdieron más peso que las TN (TN vs. EC, $0,20 \pm 0,12$ vs. $-0,17 \pm 0,12$ kg/d; $P < 0,04$). Sin embargo, la suplementación con metionina tuvo tendencia ($P < 0,09$) a aumentar la ganancia en PV de las cabras TN y a reducir las pérdidas de PV en las cabras EC. A pesar de la disminución en la ingestión, la producción de leche no se vió afectada por el EC. Sin embargo, la leche corregida por grasa disminuyó un 8% ($P < 0,01$) en las cabras de EC, comparadas con las TN. Al mismo tiempo, la composición de la leche se modificó a causa de la alta temperatura ambiental (Tabla 2), ya que las cabras de EC produjeron leche con menor porcentaje de grasa, proteína, caseína y lactosa. La suplementación con metionina tendió a mejorar ($P < 0,08$) el contenido en grasa en ambas condiciones ambientales. Por contra, Poljicak-Milas y Marenjak (2007) no detectaron efectos de la suplementación con 5g de metionina sobre el contenido en grasa y proteína de la leche.

En conclusión, la metionina protegida puede ser una estrategia para aliviar los efectos del estrés por calor en cabras lecheras a mitad de lactación y mejorar la calidad de la leche producida en estas condiciones.

Tabla 2. Ingestión, producción de leche, LCG y composición de la leche de cabras lecheras Murciano-Granadina en condiciones de termo-neutras (TN) y estrés por calor (EC). En cada ambiente, hubo cabras control (Con) o suplementadas con 2,6 g/d de metionina protegida (Met).

Ítem	TN		EC		ESM	Efecto ($P <$)		
	Con	Met	Con	Met		EC	Met	EC × Met
Parámetros productivos								
Ingestión, kg/d	2,40	2,31	2,08	2,17	0,09	0,001	0,96	0,11
Consumo de agua, kg/d	4,68	4,42	6,33	6,73	0,53	0,001	0,77	0,16
Variación del PV, kg/21d	0,10	0,29	-0,37	0,04	0,17	0,04	0,09	0,51
Producción de leche, kg/d	2,04	1,98	2,03	2,18	0,15	0,14	0,52	0,12
LCG1 3.5%, L/d	2,43	2,45	2,09	2,40	0,17	0,01	0,03	0,05
Composición de leche								
Grasa, %	4,89	4,97	4,16	4,35	0,11	0,001	0,08	0,50
Proteína, %	3,59	3,60	3,24	3,25	0,10	0,001	0,84	0,97
Caseína, %	3,27	3,34	2,98	3,00	0,10	0,001	0,20	0,41
Urea, mg/L	110	112	118	120	7	0,33	0,83	0,92
Lactosa, %	4,47	4,43	4,33	4,35	0,05	0,001	0,54	0,21
SCC, log10	5,54	5,70	5,73	5,82	0,20	0,21	0,31	0,77

¹Leche corregida por la grasa al 3,5%; LCG = L × [0,432 + 0,162 × (% de grasa)], siendo L litros de producción de leche.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso-Mélendez, E., G.D. Mendoza, F.A. Castrejón, & A.E. Ducoing. 2016. J. Dairy Res. 83:148–150.
- Batistel, F., J.M. Arroyo, A. Bellingeri, L. Wang, B. Saremi, C. Parys, E. Trevisi, F.C. Cardoso, & J.J. Loor. 2017. J. Dairy Sci. 100:7455–7467.
- Emmanuel, B., & J.J. Kennelly. 1984. J. Dairy Sci. 67:1912–1918.
- Hamzaoui, S., A.A.K. Salama, E. Albanell, X. Such, & G. Caja. 2013. J. Anim. Sci. 96: 6355–6365.
- Kassube, K.R. 2016. The Effect of Heat Stress and Essential Amino Acids on Production and Metabolism of Lactating Dairy Cattle. University of Tennessee.
- Piccioli-Cappelli, F., A. Minuti, M. Maiocchi, M. Mezzetti, & E. Trevisi. 2016. J. Anim. Sci. 94:836.
- Poljicak-Milas, N., & T.S. Marek. 2007. Arch. Anim. Breed. 50:273-278.
- Salama, A.A.K., G. Caja, S. Hamzaoui, B. Badaoui, A. Castro-Costa, D.A.E. Façanha, M.M. Guilhermino, & R. Bozzi. 2014. Small Rumin. Res. 121:73–79.
- Salama, A.A.K., M. Duque, L. Wang, K. Shahzad, M. Olivera, & J.J. Loor. 2019. J. Dairy Sci. 102.

Agradecimientos: Proyecto AGL2013-44061-R (Ministerio de Economía y Competitividad); 2017 FI_B_00303 beca del Gobierno de Cataluña (AGAUR) a Nabil Mehaba.

MITIGATION STRATEGIES OF HEAT STRESS IN LACTATING DAIRY GOATS: SUPPLEMENTATION WITH RUMEN-PROTECTED METHIONINE

ABSTRACT: Eight multiparous Murciano-Granadina dairy goats (89.6 ± 0.3 DIM, 2.40 ± 0.06 L/d and 43.3 ± 1.5 kg BW) maintained in individual pens were used in 4×4 Latin square (4 periods; 21 d each). Factors were: 1) TN (15 to 20°C), 2) HS (12 h/d at 35 ± 0.5 °C and 12 h/d at 27.9 ± 0.07 °C), 3) control diet (Con), and 4) diet supplemented with 2.6 g/d rumen-protected methionine. Methionine supplementation decreased significantly overall body temperature and respiration rate under heat stress conditions. Methionine supplementation had no effect on DM intake, water consumption or milk yield in both TN and HS conditions. However, methionine supplementation tended to increase milk fat content under both TN and HS conditions. Methionine supplementation mitigated the effects of HS on FCM in HS compared to TN goats. In conclusion, rumen-protected methionine improved milk fat content and reduced body temperature in lactating goats under heat stress conditions.

Keywords: heat stress, rumen-protected methionine, dairy goats.

EL PERFIL METABOLÓMICO DE SANGRE EN CABRAS LECHERAS SUPLEMENTADAS CON METIONINA BAJO ESTRÉS POR CALOR

Mehaba, N., Coloma García, W., Such, X., Salama, A.A.K. y Caja, G.

Grupo de Investigación en Rumiantes (G2R), Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Barcelona, España; ahmed.salama@uab.es

INTRODUCCIÓN

Los mecanismos metabólicos del estrés por calor (EC) en cabras lecheras todavía no están bien definidos. La respuesta metabólica de las cabras lecheras al estrés por calor incluye modificaciones en el metabolismo lipídico, proteico y de hidratos de carbono, lo que permite al animal hacer frente al EC. Por ejemplo, Hamzaoui et al. (2013) observaron que, a pesar de la reducción de la ingestión, las cabras bajo EC fueron capaces de mantener niveles de glucosa en sangre similares a los de los animales en termo neutralidad (TN). Esto es posible en parte mediante el uso de algunos aminoácidos en la gluconeogénesis y la reducción de la descarga de insulina en las condiciones de EC (Salama et al., 2014).

Junto con los cambios metabólicos, el EC causa pérdidas de producción de leche y de sus componentes en caprino (Hamzaoui et al., 2013). En este sentido, la suplementación con metionina puede ser una buena estrategia para mejorar la calidad de leche en cabras bajo EC. Salama et al. (2019) aportaron evidencias *in vitro* de los efectos positivos de la suplementación con metionina sobre el metabolismo de la glándula mamaria.

La metabolómica permite el estudio masivo de los cambios en la concentración de diferentes metabolitos en una determinada muestra biológica. En el presente estudio, se ha usado la técnica de resonancia magnética nuclear de protones ($^1\text{H-NMR}$) para estudiar a fondo el perfil metabolómico de cabras lecheras expuestas al EC y suplementadas con metionina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales, manejo y tratamientos: Se utilizaron 8 cabras lecheras multíparas de raza Murciano-Granadina ($43,3 \pm 1,5$ kg PV) a mitad de lactación ($89,6 \pm 0,3$ d en ordeño, $2,40 \pm 0,06$ L/d), previamente adaptadas a los corrales individuales durante 17 días. Los corrales se situaron en el interior de una nave aislada o en una cámara climática ($4 \times 6,2 \times 3,6$ m; ETS Lindgren-Euroshield Oy, Eura, Finlandia), equipada con un sistema calentador y humidificador (Carel Control Ibérica, Barcelona) y con renovación continua de aire ($90 \text{ m}^3/\text{h}$). El diseño experimental consistió en un cuadrado latino repetido 4×4 (Tratamiento \times Periodo) de 4 periodos de 21 días cada uno y un periodo de transición de 7 días. Las cabras fueron asignadas secuencialmente a uno de los 4 tratamientos, según un diseño factorial 2×2 (Ración \times Ambiente) correspondientes a:

- Ambiente: termo-neutralidad (TN, $19,4 \pm 0,02^\circ\text{C}$; humedad $58 \pm 0,22\%$; THI = 65) o estrés por calor (EC, de 9-21 h a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ y de 21-9 h a $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$ con $45 \pm 5\%$ de humedad relativa; THI = 83 y 76, respectivamente).
- Ración: control (Con) sin suplementación o suplementación con 2,6 g/d de metionina (Met; Smartamine M, Adisseo NA, Alpharetta, GA),

Esto resultó en 4 grupos experimentales: TN-Con, TN-Met, EC-Con y EC-Met.

Muestreo y análisis: Se obtuvieron muestras de sangre una vez por semana durante cada periodo en la vena yugular, en ayunas y antes del ordeño de la mañana, mediante un tubo de 10 mL con heparina sódica (BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ). El plasma se obtuvo por centrifugación a $1500 \times g$ durante 15 min a 4°C , y se almacenó a -20°C hasta el análisis por $^1\text{H-NMR}$. Para realizar el análisis de metabolitos, el plasma se transfirió a tubos de NMR 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 δ 5,0 a 4,6 ppm correspondiente al agua y se alinearon los picos. A continuación, se usó el programa MetaboAnalyst (v.4; <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 experimentales. Los metabolitos se identificaron según la posición en el espectro, de acuerdo con la bibliografía disponible (Nicholson et al., 1995; Gowda et al., 2015), la base de datos del metaboloma animal (<http://lmdb.ca>), y el banco de datos de resonancia magnética biológica (<http://www.bmrw.wisc.edu>). Además, identificamos la función de cada metabolito utilizando los mapas de vías metabólicas de la Enciclopedia de genes y genomas (KEGG) de Kyoto (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cabras bajo condiciones de EC aumentaron la temperatura rectal ($1,02 \pm 0,02$ °C; $P < 0,001$), consumieron más cantidad de agua ($1,98 \pm 0,24$ L/d; $P < 0,001$), y tuvieron una menor ingestión ($-0,22 \pm 0,06$ kg/d), pero produjeron la misma cantidad de leche en comparación con las condiciones TN.

En la Figura 1 se observa la discriminación explicada por las variables seleccionadas por el AD-MCP, entre la combinación de los tratamientos de temperatura ambiente y la suplementación o no con metionina.

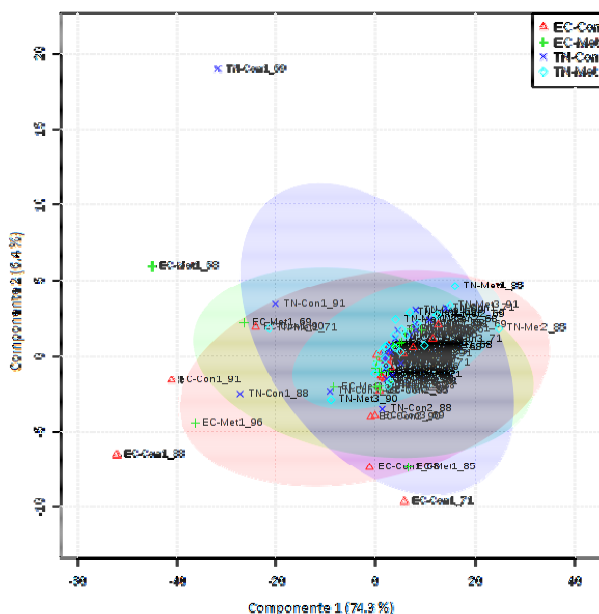


Figura 1. Componentes principales del perfil de metabolitos en sangre de las cabras en condiciones termo-neutras (TN) o estrés por calor (EC), y suplementadas con metionina (Met) o no (Con) durante 3 semanas consecutivas. Valores obtenidos por PLS-DA.

En la Tabla 1 se muestran los 9 metabolitos más importantes que marcan la diferencia entre los 4 grupos experimentales. La mayoría de los metabolitos detectados han sido aminoácidos relacionados con el metabolismo de la metionina. El acetil-L-lisina, un indicador de degradación de lisina, aumenta en EC comparado con el TN, aumentando más aún con la suplementación con metionina. Estos resultados están de acuerdo con lo observado por Gao et al. (2017) en vacas bajo EC, que tuvieron niveles más bajos de lisina. La suplementación con metionina aumentó los niveles de O-Acetil-serina independientemente de la condición ambiental, indicando un aumento en la degradación de metionina. Los niveles de seleno-metionina se incrementaron con el EC, y la suplementación con metionina en dichas condiciones los disminuyó, implicando un aumento en la disponibilidad metabólica de la metionina. El EC aumentó los niveles de homocisteína comparado con la TN. No obstante, la suplementación con metionina la disminuyó en ambas condiciones ambientales.

Tabla 1. Metabolitos que discriminan entre cabras en condiciones termo-neutras (TN) y estrés por calor (EC) durante 3 semanas. En ambas condiciones, las cabras fueron sin suplementar (Con) o suplementadas con metionina (Met). El color negro indica la intensidad más alta del metabolito mientras que el color blanco indica la intensidad más baja.

Metabolito	Cambio químico (ppm)	Tratamiento			
		TN		EC	
		Con	Met	Con	Met
N6-Acetil lisina	1,543	□	□	■	■
O-Acetil serina	4,489	■	■	□	□
L-Ornitina	1,796	□	□	■	■
Selenometionina	5,757 y 5,803	□	□	■	■
NADP ⁺	4,467	■	■	□	□
Aspartato	2,817	■	□	■	■
Homocisteína	2,652	■	□	■	■
Acetoacetato	2,203	■	□	■	■
Triptófano	7,783	■	■	□	□

El aumento en los niveles de homocisteína en condiciones EC indica un aumento en la degradación de la metionina. El EC aumentó los niveles de ornitina, un aminoácido que interviene en la síntesis de arginina y el ciclo de formación de urea, mientras que la suplementación los disminuyó. Los niveles del acetoacetato, entre varias funciones, interviene en la degradación de la lisina, lo que concuerda con los niveles de acetyl lisina. En conclusión, ¹H-NMR detectó que los cambios metabólicos debidos al EC están principalmente relacionados con el metabolismo de los aminoácidos. Además, ha confirmado que la metionina es un aminoácido limitante en el metabolismo basal de las cabras lecheras bajo EC.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beckonert, O., H.C. Keun, T.M.D. Ebbels, J. Bundy, E. Holmes, J.C. Lindon, & J.K. Nicholson. 2007. Nat. Protoc. 2:2692–2703.
- Gao, S.T., J. Guo, S.Y. Quan, X.M. Nan, M.V.S. Fernandez, L.H. Baumgard, & D.P. Bu. 2017. J. Dairy Sci. 100:5040–5049.
- Gowda, G.A., Y.N. Gowda, & D. Raftery. 2015. Anal. Chem. 87:706–715.
- Hamzaoui, S., A.A.K. Salama, E. Albanell, X. Such, and G. Caja. 2013. J. Dairy Sci. 96:6355–6365.
- Nicholson, J.K., P.J. Foxall, M. Spraul, R.D. Farrant, and J.C. Lindon. 1995. Anal. Chem. 67:793–811.
- Salama, A.A.K., G. Caja, S. Hamzaoui, B. Badaoui, A. Castro-Costa, D.A.E. Façanha, M.M. Guilhermino, and R. Bozzi. 2014. Small Rumin. Res. 121:73–79.
- Salama, A.A.K., M. Duque, L. Wang, K. Shahzad, M. Olivera, and J.J. Loo. 2019. J. Dairy Sci. 102:1–12.

Agradecimientos: Proyecto AGL2013-44061-R (Ministerio de Economía y Competitividad); 2017 FI_B_00303 beca del Gobierno de Cataluña (AGAUR) a Nabil Mehaba.

BLOOD METABOLOMIC PROFILE OF DAIRY GOATS SUPPLEMENTED WITH METHIONINE UNDER HEAT STRESS CONDITIONS

ABSTRACT:

To gain insight on the impact of methionine supplementation to mid-lactating dairy goats under heat stress conditions on blood metabolites, we employed a comparative metabolomic approach to investigate the blood metabolome response. Eight multiparous Murciano-Granadina dairy goats (89.6 ± 0.3 DIM, 2.40 ± 0.06 L/d and 43.3 ± 1.5 kg BW) maintained in individual pens were used in 4×4 Latin square (4 periods; 21 d each). Factors were: 1) TN (15 to 20°C), 2) HS (12 h/d at 33.2 ± 0.12 °C and 12 h/d at 27.9 ± 0.07 °C), 3) control diet (Con), and 4) diet supplemented with 2.6 g/d rumen-protected methionine. Blood samples were collected weekly during the experiment. HS increased lysine degradation. Furthermore, methionine supplementation accentuated lysine degradation under HS conditions. In conclusion, the metabolic changes due to HS were mainly related to the metabolism of amino acids.

Keywords: Dairy goats, heat stress, ¹H-NMR, metabolomics, methionine.

EFFECTO DE MEZCLAS MICROENCAPSULADAS DE ÁCIDOS ORGÁNICOS Y ACEITES ESENCIALES SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y LA SALUD INTESTINAL DE POLLOS BROILER DESAFIADOS CON ENTERITIS NECRÓTICA

Abdelli¹, N., Vilarrasa², E., Pérez¹, J.F. y Solà-Oriol¹, D.

¹Animal Nutrition and Welfare Service (SNIIBA). Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España.

²FARMFAES-TECNOVIT, 43365 Alforja, Tarragona, España.

E-mail: nedra.abdelli@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La enteritis necrótica (NE) es causa actual de preocupación para la producción avícola mundial, con un coste estimado de unos cinco mil millones de euros anuales en pérdidas derivadas de la producción, mortalidad y estrategias de control. La NE es causada por la proliferación de cepas toxigénicas de *Clostridium perfringens*, una bacteria anaeróbica formadora de esporas. Ante la tendencia mundial de restringir el uso de antibióticos, ha cobrado interés utilizar productos alternativos naturales, que aseguren inocuidad alimentaria. Entre los productos propuestos, los ácidos orgánicos y los compuestos botánicos están ganando un interés creciente como herramientas para el control de la NE. En el presente estudio nos propusimos evaluar diferentes combinaciones microencapsuladas diseñadas para garantizar su liberación progresiva a lo largo del tracto digestivo y evitar una absorción rápida en los tramos proximales (Sugiharto, 2014).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un experimento durante 41 días con el fin de estudiar el efecto de 4 productos microencapsulados constituidos por ácidos orgánicos y aceites esenciales (FARMFAES-TECNOVIT) sobre los rendimientos productivos y la salud intestinal de pollos broiler desafiados desde el día 0 con una cama reutilizada previamente caracterizada por una carga alta de *Clostridium perfringens* ($>10^5$ UFC/g). La dieta fue una formulación isonenergética e isoproteica para pollos de engorde (FEDNA, 2008), y consistió en una dieta inicial de 10 d, una de crecimiento hasta 28 d y una de acabado hasta 41 d. Se incorporó un 15, 20 y 25% de trigo en las dietas de inicio, crecimiento y acabado, respectivamente; sin suplementación enzimática con el fin de aumentar la viscosidad de la digesta e intensificar el desafío. Un total de 600 pollitos machos ROSS 308 fueron distribuidos completamente al azar, según el peso corporal al día 0 de edad, en cinco grupos experimentales, donde cada grupo contó con 10 réplicas y 12 pollitos por réplica. Los tratamientos experimentales fueron: (**CM**) Control negativo sin ningún tipo de aditivos; (**A1AE**) Gama ACITEC; (**A2AE**) BUTYTEC PLUS; (**A3AE**) GAMA ACITEC; (**A4AE**) Gama ACITEC. Las aves fueron alojadas en corrales en suelo donde se introdujo 90% de cama reutilizada mezclada con un 10% de viruta. A los días 0, 10, 28 y 41 de edad se pesaron los pollos y los residuos de alimento en los comederos para determinar, por diferencia, el consumo de alimento de cada corral y se calculó la conversión alimenticia corregida por la mortalidad. A día 42 se sacrificó el pollo con el peso más cercano a la media del corral y se tomaron muestras de tejido ileal para histología. Los rendimientos productivos y los resultados de histología fueron analizados usando el test ANOVA mediante el GLM del paquete estadístico SAS[®]. La significancia se estableció a $\alpha \leq 0.05$ y la tendencia a $\alpha \leq 0.10$. En caso de efecto significativo ($P \leq 0.05$), se realizaron comparaciones múltiples de las medias utilizando la corrección de Tukey del mismo paquete estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra el efecto de los diferentes tratamientos testados sobre los rendimientos productivos de los pollos. El desafío fue inducido satisfactoriamente ya que se observó una disminución importante de los rendimientos productivos en comparación con los objetivos de Ross 308. Tres de los tratamientos experimentales (A1AE; A2AE; A4AE) mejoraron de manera significativa el peso vivo a día 41 ($p < 0.0005$) en comparación con el control negativo como resultado directo de una mayor ganancia media diaria 0-41 días (GMD 0-41 d = 52,2;

54,0; 54,0 g/d, respectivamente frente a 44,8 g/d en el control; $p < 0,0001$). Por otra parte se observó un patrón de respuesta al nivel de la eficiencia alimenticia ya que todos los productos testados fueron capaces de mejorar la eficiencia alimenticia (IC 0-41 d) de los pollos ($p < 0,0001$) en comparación a los que fueron alimentados con el control negativo.

Tabla 1. Efecto de las dietas experimentales sobre los rendimientos productivos de pollos.

Parámetros	Tratamientos experimentales					EEM	P-valor
	CN	A1AE	A2AE	A3AE	A4AE		
0-10 días							
PV0, g	42,81	42,75	42,76	42,69	42,88	0,050	0,4008
PV10, g	228,4 ^c	240,5 ^{ab}	229,3 ^{bc}	242,6 ^a	237,9 ^{abc}	2,84	0,0026
GMD, g/d	18,6 ^c	19,8 ^{ab}	18,6 ^{bc}	20,0 ^a	19,5 ^{abc}	0,28	0,0022
CMD, g/d	32,0	31,1	31,1	30,5	32,0	0,41	0,0721
IC, g/g	1,71 ^a	1,59 ^{ab}	1,63 ^{ab}	1,53 ^b	1,65 ^{ab}	0,032	0,0051
10-28 días							
PV28, g	1020	1093	1101	1100	1141	28,9	0,0803
GMD, g/d	43,2	47,3	48,2	47,7	49,5	1,70	0,1116
CMD, g/d	77,5	82,8	84,0	80,5	82,9	1,78	0,1248
IC, g/g	1,82	1,77	1,76	1,69	1,70	0,03	0,1203
28-41 días							
PV, g	1942 ^b	2188 ^a	2285 ^a	2085 ^{ab}	2203 ^a	51,3	0,0005
GMD, g/d	67,2 ^c	85,7 ^{ab}	90,7 ^a	77,7 ^{bc}	82,7 ^{ab}	2,74	<0,0001
CMD, g/d	147,0 ^c	167,2 ^{ab}	173,9 ^a	158,4 ^{bc}	170,1 ^{ab}	3,39	<0,0001
IC, g/g	2,18 ^a	1,96 ^b	1,92 ^b	2,06 ^{ab}	2,04 ^{ab}	0,040	0,007
0-41 días							
GMD, g/d	44,8 ^b	52,2 ^a	54,0 ^a	49,6 ^{ab}	54,0 ^a	1,27	<0,0001
CMD, g/d	90,3 ^b	96,3 ^{ab}	98,8 ^a	92,3 ^{ab}	96,8 ^{ab}	1,93	0,0248
IC, g/g	2,07 ^a	1,85 ^b	1,83 ^b	1,86 ^b	1,84 ^b	0,034	<0,0001

PV: Peso Vivo; GMD: Ganancia Media Daria; CN: Consumo Medio Diario; IC: Índice de conversión; EEM: error estándar de la media CN: Control negativo; A1AE: Gama ACITEC; A2AE: BUTYTEC PLUS; A3AE: GAMA ACITEC; A4AE: Gama ACITEC.

Los resultados productivos fueron coherentes con los resultados obtenidos a nivel de la histología del íleon (Tabla 2). Los productos evaluados redujeron de manera significativa la profundidad de las criptas y aumentaron la longitud de vellosidades en comparación con el control negativo ($p < 0,0001$). La inclusión de BUTYTEC PLUS se asoció con una mayor longitud de las vellosidades intestinales (1088,4 vs 828,5 μm ; $p < 0,0001$), favoreciendo una mayor absorción de nutrientes que mejoró el crecimiento (2285 vs 1942 g; $p = 0,0005$) y la eficiencia (IC 0-41 d = 1,83 vs 2,07; $p < 0,0001$) en comparación con el control negativo.

Tabla 2. Efecto de las dietas experimentales sobre la histología de íleon de pollos a día 42 de edad.

Parámetros	Tratamientos experimentales					EEM	P-valor
	CN	A1AE	A2AE	A3AE	A4AE		
Altura vellosidades (μm)	828,5 ^c	1044,0 ^{ab}	1088,4 ^a	925,1 ^{bc}	1054,6 ^{ab}	35,90	<0,0001
Profundidad criptas (μm)	219,6 ^a	174,5 ^b	179,2 ^b	191,5 ^b	182,5 ^b	4,90	<0,0001
AV:PC	3,77 ^c	5,98 ^a	6,07 ^a	4,83 ^b	5,78 ^a	0,222	<0,0001
Células caliciformes	130,9	136,7	123,6	125,1	146,2	10,73	0,6134
Linfocitos	65,7	69,1	65,3	65,5	72,2	3,77	0,6424

AV: PC ratio entre Altura de vellosidades y Profundidad de criptas
CN: Control negativo; A1AE: Gama ACITEC; A2AE: BUTYTEC PLUS; A3AE: GAMA ACITEC; A4AE: Gama ACITEC.

Estos resultados muestran un efecto positivo de la suplementación con las mezclas encapsuladas de ácidos orgánicos y aceites esenciales sobre los rendimientos productivos y la histología intestinal de pollos desafiados con enteritis necrótica, en coincidencia con otros autores (Timbermont *et al.*, 2010). Además, los resultados obtenidos a nivel productivo e histológico nos llevan a deducir un posible efecto sinérgico entre los ácidos orgánicos y los aceites esenciales dentro de la mezclas en estudio. Sin embargo, sería necesario realizar más estudios para confirmar este efecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FEDNA. 2008. Necesidades Nutricionales para Avicultura: Pollos de Carne y Aves de Puesta. En R. Lázaro y G.G. Mateos, ed. Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal, Madrid, Spain.
- Sugiharto, S. 2014. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 15 (2), 99–111
- Timbermont, L., Lanckriet, A., Dewulf, J., Nollet, N., Schwarzer, K., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., Van Immerseel, F. 2010. Control of *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis in broilers by target-released butyric acid, fatty acids and essential oils, Avian Pathol, 39:2, 117-121.

EFFECT OF TARGETED-RELEASED BLENDS OF ORGANIC ACIDS AND ESSENTIAL OILS ON PERFORMANCE AND GUT HEALTH OF BROILERS CHALLENGED WITH A NECROTIC ENTERITIS REUSED LITTER

ABSTRACT: A 41-d pen trial was conducted to evaluate the efficacy of different targeted-released blends of organic acids and essential oils (FARMFAES-TECNOVIT) on the performance and gut health of broilers challenged with a necrotic enteritis (NE) reused litter containing high counts of *Clostridium perfringens* ($>10^5$ UFC/g) and given a corn-wheat diet without exogenous enzyme supplementations to accentuate the challenge. Five different blends were tested. Body weight gain and feed intake were measured at d 0, 10, 28 and 41d, and feed efficiency was calculated considering the effect of mortality. On day 42, one bird per replicate was euthanized and ileal samples were taken for histomorphological analysis. Data was analyzed as a one-way ANOVA by the GLM procedure of SAS followed by Tukey test ($P \leq 0.05$). Results showed that NE challenge was successfully induced resulting in chicken performance depression. The tested microencapsulated products have shown to increase villus height and reduce crypt depth, suggesting better efficiency. In fact, increased crypt depth indicates greater need of cell proliferation to maintain gut integrity. It is concluded that supplementing targeted-released blends of organic acids and essential oils induces some benefits on intestine histology and performance of broilers challenged with necrotic enteritis.

Key words: organic acids, essential oils, necrotic enteritis, gut health, broilers

EVALUACIÓN DE UNA FUENTE DE COLINA NATURAL COMO SUSTITUTIVO DEL CLORURO DE COLINA 60% EN POLLOS DE ENGORDE

de Vega A., Yuste S. y Amanzougarene Z.

Departamento de Producción Animal-Universidad de Zaragoza. Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. Email: avega@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La fuente más común de colina en alimentación animal es el cloruro de colina, disponible a concentraciones del 70-75% en forma líquida, y del 50-70% en polvo. El cloruro de colina, una vez en el intestino, es mayoritariamente metabolizado por la microflora, de forma que sólo un tercio de la colina es absorbido, siendo el resto convertido en trimetilamina (Mountzouris *et al.*, 2011). Esta trimetilamina es absorbida y transportada hasta los tejidos por la circulación sanguínea, y puede afectar al metabolismo hepático de las aves (Wang *et al.*, 2011). Además, el cloruro de colina líquido es muy corrosivo, mientras que el cloruro de colina en polvo es altamente higroscópico y debe protegerse de la exposición de la humedad (FEDNA, 2010). Todo ello hace que el producto sea de difícil manejo en fábrica. Debido a todos estos inconvenientes, en la actualidad se está extendiendo el uso de colina de origen natural, procedente de extractos de diferentes plantas. Esta colina se presenta en forma esterificada como fosfatidilcolina y otros fosfolípidos ricos en ácidos grasos poliinsaturados, teniendo gran afinidad por los receptores intestinales, lo que prácticamente evita su transformación microbiana en trimetilamina (Ida & Olivera, 2018). Por otra parte, se trata de un producto no higroscópico, suponiendo una ventaja adicional el hecho de que, debido al mecanismo de acción de la fosfatidilcolina, la inclusión recomendada por los diferentes proveedores sea de entre 1/3 a 1/5 de la dosis habitual de cloruro de colina. En el presente trabajo se planteó el objetivo de evaluar las posibilidades de uso de AdiCholine, fuente vegetal de colina comercializada por la empresa ADINATURE, como sustitutivo del cloruro de colina en la dieta de pollos de engorde.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 564 pollos macho Ross 308 de 1 día de edad, que se asignaron a dos tratamientos: 1.- pienso con cloruro de colina al 0,25% (C) o 2.- pienso con AdiCholine al 0,08% (A), con nueve réplicas de 31-32 pollos por tratamiento. Los animales se sometieron a un ciclo de cebo habitual (42 días), administrándose durante los primeros 28 días un pienso de crecimiento, en forma de harina (con los ingredientes molidos a través de una criba de 8 mm), y a partir de esa fecha y hasta el final del experimento un pienso de cebo en forma de gránulo (con los ingredientes molidos a través de una criba de 3 mm, y un diámetro del gránulo de 3,5 mm, y con un 0,19% de óxido crómico como marcador de digestibilidad). Los animales se pesaron al inicio del ensayo (peso de la réplica) y después, con una frecuencia semanal, para determinar la ganancia media diaria por regresión entre el peso y los días transcurridos desde la pesada inicial. La composición en ingredientes de los piensos se ofrece en la Tabla 1. Los sacos de pienso se pesaron al abrirse, previa obtención de una muestra para determinar la composición química. Igualmente se pesaron cuando la cantidad remanente era muy pequeña, tras lo cual se tomó una muestra del residuo para determinar su contenido en materia seca (MS). La ingestión de MS se determinó por diferencia entre la ofrecida y la residual. Sobre las muestras de los sacos recién abiertos se llevó a cabo el análisis de MS, cenizas, proteína bruta (PB; nitrógeno x 6,25), extracto etéreo (EE) y fibra bruta (FB; descontando las cenizas), asumiéndose que la composición de los residuos, expresada sobre MS, no varió con respecto a la inicial. Los valores medios de cada tratamiento se ofrecen en la Tabla 2. La concentración de cromo, tanto en el pienso como en el contenido ileal agrupado de seis pollos por réplica elegidos al azar, se analizó por espectrometría de plasma de acoplamiento inductivo. En el contenido ileal también se analizó materia orgánica, PB y FB para estimar su digestibilidad. No se consideró necesario estimar la digestibilidad del EE. Los efectos de los tratamientos sobre la ingestión de MS, digestibilidad, ganancia media diaria de los animales e índice de conversión fueron analizados mediante un análisis de varianza de una vía, utilizando el paquete estadístico SAS (versión 9.4). Las diferencias entre tratamientos fueron analizadas empleando la mínima

diferencia significativa. Se consideró que existieron diferencias estadísticamente significativas cuando $P < 0,05$. Tanto el peso vivo final como la ganancia media diaria durante toda la crianza se corrigieron por covarianza, utilizando el peso vivo inicial como covariable. Los resultados de ingestión se estudiaron tanto por semana como para el total de la crianza. En el primer caso se llevó a cabo un análisis de medidas repetidas, utilizando la semana como unidad de repetición.

Tabla 1. Composición (% sobre materia fresca) de los piensos utilizados en el ensayo.

Ingrediente	Crecimiento-1	Crecimiento-2	Cebo-1	Cebo-2
Maíz	60,01	60,11	72,81	72,94
Harina de soja 47	36,00	36,07	23,50	23,54
Aceite de soja	0,70	0,70	0,50	0,50
Sal	0,28	0,28	0,30	0,30
Calcita mineral	1,13	1,13	1,05	1,05
Fosfato monocálcico	0,73	0,73	0,52	0,52
L-Triptófano	0,02	0,02	-	-
Lisina HCl	0,15	0,15	0,21	0,21
DL-Metionina	0,28	0,28	0,21	0,21
Treonina	0,05	0,05	0,06	0,06
Corrector para broilers	0,40	0,40	0,40	0,40
Cloruro de colina 60%	0,25*	-	0,25*	-
Colina natural	-	0,08 ¹	-	0,08 ¹
Óxido crómico (Cr ₂ O ₃)	-	-	0,19	0,19

* Aporta 111,875 mg de colina. ¹ AdiNature indica que la inclusión recomendada es de 1/3 de la dosis de cloruro de colina.

Tabla 2. Composición química media (\pm error estándar) de los piensos utilizados en el ensayo.

	Crecimiento-1 (n = 7)	Crecimiento-2 (n = 7)	Cebo-1 (n = 5)	Cebo-2 (n = 5)
Materia seca (MS; g/kg)	880 \pm 0,6	887 \pm 2,0	875 \pm 0,6	875 \pm 1,5
Materia orgánica (g/kg MS)	946 \pm 0,6	940 \pm 0,4	951 \pm 0,3	953 \pm 0,1
Proteína bruta (g/kg MS)	239 \pm 0,8	234 \pm 0,9	188 \pm 0,9	190 \pm 0,7
Extracto etéreo (g/kg MS)	32,0 \pm 0,14	32,4 \pm 0,25	34,9 \pm 0,21	34,6 \pm 0,49
Fibra bruta (g/kg MS)	27,3 \pm 0,29	29,7 \pm 0,34	24,5 \pm 0,28	22,3 \pm 0,15

Starter/Crecimiento-1: Incluye cloruro de colina 60% al 0,25%; Starter/Crecimiento-2: Incluye N-Choline al 0,08%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ingestión individual de MS (estimada dividiendo la ingestión por corral por el número de pollos presentes en cada uno de ellos) se vio afectada por la interacción entre la semana de crianza y el tipo de colina empleado ($P=0,02$), siendo superior con el tratamiento A en las semanas 3 (43,0 vs. 36,8 g/día) y 6 (166 vs. 159 g/día), aunque sin diferencias en el resto (valores medios de 24,9, 39,9, 85,7 y 140 g/día para las semanas 1, 2, 4 y 5, respectivamente; $P > 0,10$). Cuando se consideró la ingestión media durante toda la crianza, no se observaron diferencias significativas entre dietas (87,2 vs. 84,5 g/día para las dietas A y C, respectivamente; $P=0,10$). La digestibilidad aparente de la MS, MO y PB se ofrece en la Tabla 3. Los resultados de digestibilidad de la FB no fueron aceptables, con la aparición de valores negativos en algunos casos, por lo que no se incluyen. Este hecho fue probablemente debido a que su análisis en el contenido ileal es poco fiable, ya que la estructura de la fibra se ve alterada por el paso a través del tracto digestivo (Van Soest, 1994). En todos los casos, la dieta A provocó mayores valores de digestibilidad (8,5%, 7,9% y 12% superiores para la MS, MO y PB, respectivamente). Estos mayores valores de digestibilidad fueron, con seguridad, los responsables de que el peso vivo final de los pollos alimentados con la dieta A fuera

significativamente mayor ($P=0,036$) que el de los animales que recibieron la dieta C. También hubo una tendencia ($P<0,10$) a que los animales del grupo A presentaran mayores ganancias medias diarias (Tabla 4). Sin embargo, el índice de conversión no fue afectado por el tipo de colina incluido en el pienso ($P=0,062$). Numéricamente, el número de bajas durante la crianza supuso el 3,2% con la dieta C, y el 1,8% con la dieta A.

Tabla 3. Digestibilidad aparente de la materia seca (DMS), materia orgánica (DMO) y proteína bruta (DPB) (%) de pollos alimentados con un mismo pienso con un 0,25% de cloruro de colina al 60% (C) o un 0,08% de colina natural (A).

	C	A	e.e.m.	P
DMS	69,2	75,1	1,85	0,0054
DMO	71,1	76,7	1,78	0,0056
DPB	59,6	67,3	2,11	0,0021

e.e.m.: error estándar de la media del análisis de varianza. P: probabilidad de las diferencias.

Tabla 4. Peso vivo (g) inicial (PVI) y final (PVF), ganancia media diaria (GMD; g/día), e índice de conversión (IC; g/g) de pollos alimentados con un mismo pienso con un 0,25% de cloruro de colina al 60% (C) o un 0,08% de colina natural (A).

	C	A	e.e.m.	P
PVI	45,8	45,3	0,28	0,089
PVF	2430	2538	46,9	0,036
GMD	56,8	58,9	1,07	0,070
IC	1,48	1,49	0,022	0,616

e.e.m.: error estándar de la media del análisis de varianza. P: probabilidad de las diferencias.

En conclusión, la sustitución de cloruro de colina 60% por colina natural (AdiCholine) aumenta la digestibilidad de los piensos, por lo que se consiguen mayores pesos vivos finales, con una tendencia a aumentar las ganancias medias diarias, aunque sin alterar los índices de conversión. Por tanto, la colina natural AdiCholine supone una alternativa ventajosa para el reemplazo del cloruro de colina 60%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FEDNA, 2010. *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*. Ed. FEDNA. 502 pp.▪ Ida, H. & Olivera, S., 2018. NutriNews, https://nutricionanimal.info/download/0518_nutriNews-ColinaVegetal_NatuB4Nuproxia.pdf.
- Mountzouris, K.C. *et al.*, 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 168: 223-231.▪ Van Soest, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press, 476 pp.▪ Wang, Z. *et al.*, 2011. Nature 472: 57-63.

EVALUATION OF A NATURAL SOURCE OF CHOLINE AS SUBSTITUTIVE OF CHOLINE CHLORIDE 60% FOR BROILERS

ABSTRACT: The effect of substituting choline chloride 60% with a natural source of choline (AdiCholine) on performance of Ross 308 male broilers was assessed. One day old chickens (n = 564) were assigned to two diets including 0.25% choline chloride or 0.08% AdiCholine. Nine replicates of 31-32 chickens were used per treatment. Growing (till d28; meal) and fattening (from d29 till d42; pellet) formulae were used. The fattening formula included 0.19% Cr₂O₃ for ileal digestibility estimation. AdiCholine increased digestibility by 8.5% (dry matter), 7.9% (organic matter) and 12% (crude protein) compared to choline chloride 60%, leading to higher final weights with no increase in feed conversion ratio.

Keywords: broilers, choline, digestibility, feed conversion.

EFFECTO DE LA SATURACIÓN Y EL NIVEL DE ACIDEZ DE LA DIETA EN EL POLLO DE CARNE

Jiménez-Moya¹, B., Barroeta¹, A.C., Tres², A. y Sala¹, R.

¹Servicio de Nutrición y Bienestar Animal (SNI^{BA}). Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. ²Departamento de Producción y Caracterización de Nuevos Alimentos, Departamento de Nutrición, Ciencias de la Alimentación y Gastronomía–XaRTA-INSA, Universidad de Barcelona, España.

Email: Beatriz.Jimenez@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Las grasas son ingredientes habituales en la formulación de piensos para avicultura dado su alto valor energético y su aporte en ácidos grasos esenciales. Como resultado del proceso de refinación físico o químico de los aceites destinados a consumo humano, se generan diferentes subproductos. Uno de los mayoritarios son los aceites ácidos, caracterizados por un elevado porcentaje en ácidos grasos libres (AGL: 40-99 %; Nuchi *et al.*, 2009). La utilización de dichos subproductos en avicultura resulta interesante no sólo a nivel económico sino también a nivel nutricional, pues presentan un perfil de ácidos grasos (AG) similar a la grasa o aceite convencional de las que derivan. Si bien, estudios realizados en pollos de carne apuntan a que el nivel de AGL puede afectar a la utilización de estas grasas (Wiseman & Salvador, 1991, Vilarrasa *et al.*, 2015; Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2018), otros estudios avalan que es posible mejorar la utilización de los AGL presentes en los aceites ácidos mediante mezclas o combinaciones con aceites convencionales con un adecuado grado de insaturación (Roll *et al.*, 2018). Por todo ello, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto que se obtiene al combinar una grasa ácida rica en AG saturados, con una grasa rica en AG insaturados, a diferentes porcentajes de inclusión y viceversa, sobre los rendimientos productivos, la digestibilidad de los AG y el depósito de grasa abdominal en pollos de carne.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la granja experimental del Servei de Granges i Camps Experimentals de la Universitat Autònoma de Barcelona y fue aprobado por el Comité de Ética de la misma institución. Un total de 768 pollos hembra de la estirpe Ross 308 (Pondex, S.A.U. Juneda, España) post-eclosión, se identificaron y pesaron individualmente y se distribuyeron al azar en 8 tratamientos experimentales, a razón de 16 aves/jaula y 6 réplicas/tratamiento. Se administró un pienso de iniciación (0 a 22 días de edad) y otro de crecimiento-acabado (22 a 35 días), ambos en forma de harina. Los piensos experimentales fueron formulados para satisfacer o exceder las necesidades señaladas en FEDNA (2008). Se obtuvieron 8 dietas experimentales a partir de una dieta base suplementada con un 6 % de grasa o mezclas de grasas objeto de estudio (grasas saturadas: palma cruda (P) y destilados de AG de palma (PFAD); grasas insaturadas: soja cruda (S) y aceite ácido de soja (SA) y mezclas de P-SA y S-PFAD) para obtener 4 niveles crecientes de saturación (15, 22, 30, 38 %) y cuatro niveles de acidez (11, 29, 46, 67 %). A lo largo de todo el periodo experimental, se realizaron controles de ingestión de pienso y peso de los animales para determinar el consumo medio diario (CMD), la ganancia media diaria (GMD) y el índice de conversión alimenticia (IC). El análisis proximal del pienso se realizó siguiendo los procedimientos propuestos por la AOAC (2005). Se llevó a cabo un balance de digestibilidad, utilizando dióxido de titanio (TiO₂) como marcador inerte al 0,5 %. Para ello se recogieron excretas del día 34 y 35 de estudio y se conservaron a -20 °C hasta su liofilización. Posteriormente, fueron molturadas y almacenadas a 5 °C hasta su posterior análisis. Tanto en el pienso como en excretas se determinó la energía bruta mediante calorímetro adiabático (IKA C-4000, Janke-Kunkel). Asimismo se cuantificaron los AG aplicando la técnica de transesterificación directa (Sukhija & Palmquist, 1988) así como el contenido de TiO₂ mediante espectrometría ICP-OES (Optima 3200 RL, Perkin Elmer) en el Servei d'Anàlisi Química de la UAB. El coeficiente de digestibilidad de los AG (CDA) se determinó a partir de la ratio de TiO₂ en la dieta y en la excreta según la fórmula: $CDA = 1 - \{(Ti/AG)_{dieta} / (Ti/AG)_{excreta}\}$. En el caso de la energía metabolizable aparente (EMA), el porcentaje de metabolabilidad de la energía se multiplicó por la energía bruta del pienso correspondiente. Al final del periodo experimental (día 35), 2 animales de cada jaula (12

animales/tratamiento) fueron sacrificados, y se procedió a la extracción y pesaje del paquete de grasa abdominal (grasa que rodea el proventrículo hasta la cloaca). La jaula se consideró como unidad experimental para los rendimientos productivos y para los coeficientes de utilización de los AG y la EMA de las dietas. En el caso de la grasa abdominal, la unidad experimental fue el individuo. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía mediante el programa estadístico R Versión 3.5.2. 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.

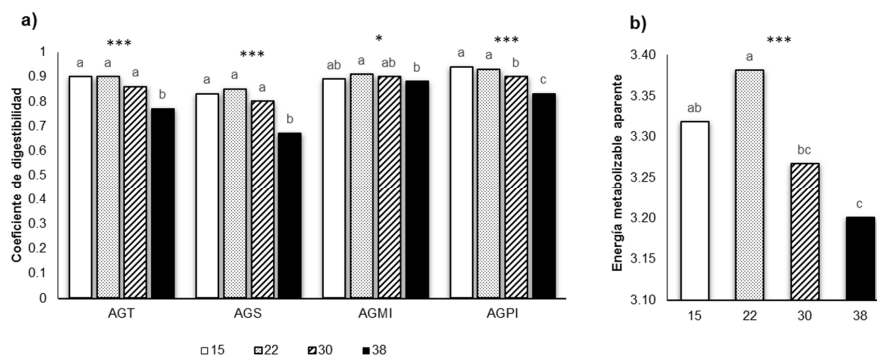
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran el porcentaje real de AG saturados y AGL obtenido para cada grado de saturación y nivel de acidez. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grados de saturación y entre los niveles de acidez en cuanto a los parámetros productivos estudiados (CMD, GMD, IC y PV) y el contenido (g) y porcentaje de grasa abdominal a 35 días de edad. Por el contrario, tanto el grado de saturación (Figura 1) como el nivel de acidez (Figura 2) afectaron a la digestibilidad de los AG y a los valores de EMA obtenidos. El aumento del grado de saturación dio lugar a una disminución del CDA de los AG totales, a partir del 30 % de AG saturados, siendo ésta determinada principalmente por la disminución de la digestibilidad de los AG saturados (Figura 1.a). De forma similar, al aumentar el nivel de acidez, se observó una disminución del CDA de los AG totales, AG saturados y AG monoinsaturados (Figura 2.a) a partir del 46 % de AGL. Estos resultados son similares a los descritos por (Vilarrasa *et al.*, 2015) y (Roll *et al.*, 2018). Resultados similares se obtuvieron en relación a la EMA de la dieta (Figura 1.b y 2.b, respectivamente), coincidiendo con Artman *et al.* (1964).

En base a los resultados obtenidos, se puede concluir que es posible suplementar la dieta con la combinación de una grasa convencional y un aceite ácido sin obtener un efecto negativo sobre los rendimientos productivos y el depósito de grasa abdominal en pollos de carne. Por el contrario, la digestibilidad de los AG está condicionada por el grado de saturación y nivel de acidez, una combinación de grasas con un nivel moderado de AGL no tendría repercusiones negativas sobre la utilización de la grasa por parte del animal.

Tabla 1. Porcentaje de ácidos grasos saturados (AGS) y ácidos grasos libres (AGL) de los diferentes grados de saturación y niveles de acidez.

	Grado de saturación				Nivel de acidez			
	15	22	30	38	11	29	46	67
AGS (%)	15,69	22,85	29,93	37,68	25,62	26,96	25,82	27,74
AGL (%)	33,19	35,12	38,90	43,58	9,66	27,39	46,63	67,11



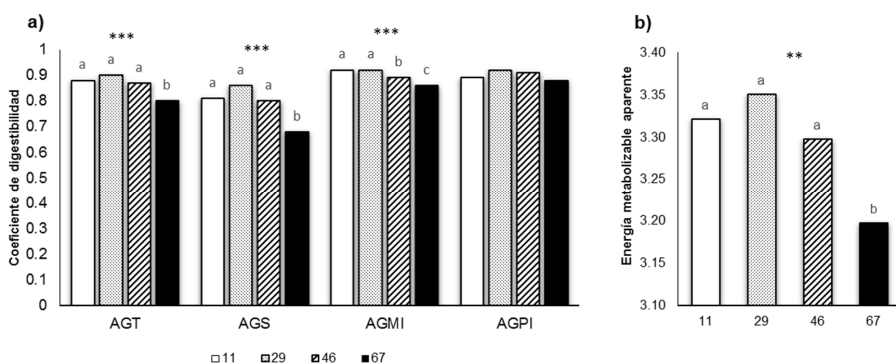


Figura 2. Efecto del nivel de acidez de la dieta (11, 29, 46, 67) sobre a) Coeficiente de digestibilidad de ácidos grasos y b) Energía metabolizable aparente (kcal/kg) en pollos de carne de 35 días de edad. AGT = ácidos grasos totales; AGS = ácidos grasos saturados; AGMI = ácidos grasos monoinsaturados; AGPI = ácidos grasos poliinsaturados. ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC International. 2005. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Artman, N. R., 1964. Poultry Science 43: 994-1004.
- FEDNA 2008. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, España.
- Nuchi, C.D. *et al.* 2009. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57:1952-1959.
- Rodríguez-Sánchez, R. *et al.* 2018. Poultry Science 98:1341–1353.
- Roll, A.P. *et al.* 2018. Animal 12:2040-2048
- Surkhija P.S. & Palmquist D.L. 1988. Journal of Agricultural and Food Chemistry 36: 1202-1206.
- Vilarrasa, E. *et al.* 2015. Poultry Science 94:1527-1538.
- Wiseman, J. & Salvador, F. 1991. Poultry Science 70: 573-582.

Agradecimientos: El presente estudio ha sido financiado, en parte, por una beca FPI y por el proyecto (CICYT AGL2015-64431-C2-1-R).

EFFECT OF SATURATION AND ACIDITY LEVEL OF THE DIET IN BROILER CHICKENS

ABSTRACT: The experiment was conducted to study the effect of dietary saturation degree and free fatty acid (FFA) level in broiler chickens. A total of 768 broilers were randomly allocated in 8 dietary treatments (6 cages/ treatment) from 0 to 35d. A basal diet was supplemented at 6 % with different fats [palm (P) and palm fatty acid distillate (PFAD); soybean (S) and soybean acid oil (SA) and blends of P-SA and S-PFAD] to obtain four levels of saturation (15, 22, 30, 38 %) and FFA levels (11, 29, 46, 67 %). At 35d samples of excreta and abdominal adipose tissue were collected. TiO_2 (5 g/kg) was added as an inner marker to calculate the apparent digestibility coefficients (ADC) of fatty acids (FA) and AME. Different dietary saturation degree and level of FFA did not modify performance results and abdominal fat-pad. In general, increasing dietary saturation degree and levels of FFA decreased the ADC of TFA, SFA, MUFA and EMA ($P \leq 0.05$). In conclusion, the combination of crude oil with acid oil with moderate levels of FFA and saturation could be use in 35 d-old-broiler chickens without having negative repercussions on growth performance, fat utilization and abdominal fat deposition.

Keywords: free fatty acid, acid oil, fatty acid digestibility

EFFECTOS DEL TIPO DE MOLIENTA, TAMAÑO DE PARTICULA Y LA ADICION DE XILANASA EN DIETAS PELETIZADAS DE BASE MAÍZ-SOJA EN EL RENDIMIENTO Y MORFOLOGÍA INTESTINAL EN POLLOS DE ENGORDE

Melo-Durán¹, D., González-Ortiz², Pérez¹, J.F., G., Villagómez-Estrada¹, S., Graham², H., Sala², R., Bedford², M.R. y Solà-Oriol¹, D.

¹Servei de Nutricio i Benestar Animal (SNiBA), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), 08193 Bellaterra, España.

²AB Vista, Marlborough, Wiltshire, SN8 4AN, Reino Unido.

Email: Diego.Melo@e-campus.uab.cat

INTRODUCCIÓN

La molienda de cereales tiene por objetivo reducir el tamaño de las partículas con el que se pretende incrementar la digestibilidad de los nutrientes. En este sentido, tanto el tipo de materias primas como el tamaño final de las partículas de la dieta tienen un papel importante en el desarrollo intestinal, la peristalsis digestiva y el uso de nutrientes en avicultura (Amerah *et al.*, 2007; Svihus, 2014). Sin embargo, la distribución y tamaño de las partículas puede depender del tipo de molino que se use y de las propiedades físicas de los ingredientes (Amerah *et al.*, 2007). Las partículas gruesas estimulan el tamaño de la molleja, y con ello incrementan la función digestiva (Nir *et al.*, 1995; Bjerrum *et al.*, 2005). Adicionalmente, el proceso de granulación posterior modifica la distribución final de las partículas en la dieta, causando un efecto de molienda adicional (Abdollahi *et al.*, 2013; Muramatsu *et al.*, 2015). Estudios recientes también demuestran que la suplementación con xilanasa en dietas basadas en maíz pueden mejorar la productividad de las aves (Latham *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2017). El presente estudio investigó las posibles interacciones entre los efectos derivados del tipo de molienda, tamaño de partícula y la suplementación con xilanasa sobre el rendimiento y la morfología intestinal en pollos de engorde alimentados con dietas granuladas en base a maíz-soja.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 768 pollos macho, de engorde Ross 308, de 1 día de edad fueron distribuidos, considerando su peso vivo (PV) inicial, en 96 jaulas tipo batería en una sala con control ambiental, con 8 aves por jaula. El diseño experimental fue una disposición factorial 2 × 3 × 2 de los tratamientos, que evaluaron dos tipos de molienda (rodillo vs martillo) aplicados al maíz, tres niveles de tamaño de partícula medio; 0,5 mm, 1 mm y 1,5 mm (fina vs media vs grosera) y la adición de xilanasa (0 vs 16,000 BXU/kg, Econase XT, AB Vista). El período experimental comprendió una fase de alimentación entre el d 0 y el d 21. Las dietas fueron granuladas a 2,2 mm posteriormente. Se midió el consumo de alimento y los pesos individuales de los animales, con lo que se determinó la ganancia media diaria (GMD), consumo medio diario (CMD), el índice de conversión (IC) y el coeficiente de variación del peso vivo (CV). En el día 21, tres aves de cada jaula fueron seleccionadas al azar y sacrificadas por dislocación cervical, con el objetivo de medir el peso de los órganos digestivos. Los datos se sometieron a un análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS Institute Inc. (2004), las diferencias entre las medias de los tratamientos se determinaron mediante la prueba de Tukey. La jaula fue la unidad experimental para todas las medidas. Las declaraciones de significación se basaron en un valor de P igual o inferior a 0,05, y un valor de P entre 0,05 y 0,10 se consideró una tendencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los factores principales (tipo de molienda, tamaño de partícula y adición de xilanasa) no afectaron los parámetros productivos, con excepción de la uniformidad del PV. Las dietas sin enzima mostraron un CV del peso de las aves mayor (P<0,05) que las dietas con xilanasa (9,66 vs 8,11%, respectivamente). Los tamaños de partícula groseros también disminuyeron (P<0,05) el CV de las aves, con respecto a las dietas con tamaño de partícula medio y fina (7,76, 9,26 y 9,63%, respectivamente). Se observó una interacción entre el tipo de molienda y la inclusión de xilanasa en la GMD y en el IC (Tabla 1). Las aves alimentadas con las dietas de rodillo que contenían xilanasa presentaron una mejor GMD e IC que las aves alimentadas con las dietas de rodillo control. Esto podría ser debido a que las partículas producidas por el rodillo poseen características físicas diferentes a las producidas

por el molino de martillos, lo que podría provocar diferencias en la granulación, como la disminución de la gelatinización del almidón, la biodisponibilidad de los nutrientes y la calidad del gránulo. Nir *et al.* (1995) describieron una interacción entre el tipo de molienda y la presentación del alimento, observando una mejora en los parámetros productivos en las dietas granuladas, mejora que fue más alta en las dietas de martillo que en las dietas rodillo.

Tabla 1. Efecto del tipo de molienda, tamaño de partícula y adición de xilanasa en el peso vivo (PV, g), la ganancia media diaria (GMD, g/d/ave), consumo medio diario (CMD, g/d/ave), índice de conversión (IC, g/g) y coeficiente de variación (CV, %)¹.

Interacciones		PV	d 0 a 21			
			GMD	CMD	IC	CV
Martillo	Fino	1040	47,43 ^{bc}	55,75	1,17	9,92
	Medio	1064	48,87 ^a	57,87	1,18	8,33
	Grosero	1063	48,62 ^{ab}	57,31	1,17	7,81
Rodillo	Fino	1055	48,37 ^{abc}	56,75	1,17	9,34
	Medio	1032	47,12 ^c	55,93	1,18	10,23
	Grosero	1045	47,5 ^{abc}	57,06	1,19	7,70
SEM ²		10.2	0,481	0,598	0,007	0,633
Martillo	Con enzimas	1056	48,13 ^{ab}	57,12	1,18 ^{ab}	7,93
	Sin enzimas	1056	48,50 ^a	56,83	1,17 ^a	9,50
Rodillo	Con enzimas	1058	48,41 ^a	56,91	1,17 ^a	8,29
	Sin enzimas	1029	46,91 ^b	56,25	1,20 ^b	9,89
SEM		8.3	0,399	0,488	0,006	0,514
P-valor						
Molienda		0,154	0,111	0,419	0,453	0,460
Tamaño de partícula		0,777	0,950	0,279	0,445	0,011
Xilanasa		0,083	0,164	0,329	0,373	0,004
Molienda*Tamaño de partícula		0,064	0,020	0,053	0,266	0,135
Molienda*Xilanasa		0,079	0,021	0,701	0,015	0,967
Xilanasa*Tamaño de partícula		0,754	0,730	0,895	0,803	0,072
Xilanasa*Molienda*Tamaño partícula		0,245	0,481	0,553	0,551	0,118

¹Los datos son la media de 8 corrales/tratamiento, con 8 aves/corral en el período (d 0-21).

²Error estándar de la media.

En la Tabla 2 se muestran los resultados del peso relativo de los órganos del aparato digestivo. No se observaron interacciones significativas. Las dietas de rodillo, los tamaños de partícula grosero y medio y las dietas sin xilanasa incrementaron el peso relativo de la molleja ($P < 0,05$), en comparación a las dietas de martillo, tamaño de partícula fina y las dietas con la enzima, respectivamente. El tamaño de partícula fino incrementó el peso del yeyuno ($P < 0,05$) y el ciego ($P < 0,10$), frente a los tamaños medio y grueso. Ha sido ampliamente demostrado que la presencia de partículas groseras en la dieta aumentan el tamaño de la molleja (Amerah *et al.*, 2007). Además, es conocido que la molienda de rodillo produce partículas más uniformes y con menos cantidad de finos que en la molienda de martillo, aumentando el estímulo de la molleja. El incremento del peso del yeyuno y ciegos por la presencia de partículas finas ha sido descrito previamente (Singh *et al.*, 2011), y podría considerarse como un aumento general de la capacidad digestiva del intestino, debido al flujo de la dieta en el tracto gastrointestinal dependiente del tamaño de partícula. Produciendo un tránsito acelerado hacia el intestino por la ausencia de partículas groseras, sin embargo, en este caso no va acompañado con una mejora marcada de los parámetros productivos.

En conclusión, la suplementación con xilanasa mejoró la homogeneidad del peso vivo en todas las dietas y la ganancia diaria de peso e índice de conversión en las dietas de rodillo, lo que podría estar relacionado con la liberación de nutrientes encapsulados, pudiendo las dietas de rodillo mantener en mayor cantidad el efecto de encapsulación por la forma de molienda.

Tabla 2. Efecto del tipo de molienda, tamaño de partícula y adición de xilanasa en el peso relativo de los órganos del tracto gastrointestinal.

Efectos principales		Molleja	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciegos	Intestino delgado
		g/100 g de peso vivo					
Molienda	Martillo	1,74 ^b	1,12	1,35	1,26	3,96	3,77
	Rodillo	1,86 ^a	1,12	1,36	1,27	3,88	3,76
SEM		0,027	0,017	0,021	0,018	0,006	0,047
Tamaño de partícula	Fino	1,60 ^b	1,12	1,39 ^a	1,29	4,07	3,83
	Medio	1,86 ^a	1,13	1,35 ^{ab}	1,24	3,83	3,76
	Grosero	1,94 ^a	1,12	1,29 ^b	1,29	3,86	3,69
SEM		0,033	0,021	0,026	0,023	0,008	0,054
Xilanasa	Con enzimas	1,74 ^b	1,104 ^b	1,35	1,24	3,92	3,73
	Sin enzimas	1,85 ^a	1,153 ^a	1,34	1,23	3,92	3,79
SEM		0,027	0,017	0,021	0,019	0,007	0,044
P-valor							
Molienda		0,003	0,971	0,917	0,507	0,365	0,889
Tamaño de partícula		<0,0001	0,854	0,018	0,288	0,087	0,206
Xilanasa		0,006	0,047	0,729	0,367	0,991	0,336

¹Los datos son medias de 8 corrales/tratamiento, con 3 aves/corral a día 21.

²Error estándar de la media

³Intestino delgado = duodeno + yeyuno + íleon.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdollahi, M.R., Ravindran, V. & Svihus, B. 2013. Anim. Feed Sci. Technol. 186:193–203. • Amerah, A.M., Ravindran, V., Lentle, R.G. & Thomas, D.G. 2007. Poult. Sci. 86: 2615–2623. • Bjerrum, L., Pedersen, K. & Engberg, R. 2005. Avian Dis. 49: 9-15. • Latham, R.E., Williams, M.P., Flores, C., Masey O'Neill, H.V., York, T.W. & Lee, J.T. 2016. J. Appl. Poult. Res. 25:338–351. • Muramatsu, K., Massuquetto, A. & Dahlke, F. 2015. J. Agr. Sci. Tech. 5: 717-722. • Nir, I., Hillel, R., Ptichi, I. & Shefet, G. 1995. Poult. Sci. 74: 771–783. • Singh, Y., Ravindran, V., Wester, T.J., Molan, A.L. & Ravindran, G. 2011. Poult. Sci. 93: 607–616. • Svihus, B. 2014. J. Appl. Poult. Res. 23: 306–314. • Tang, D.F., Liu, X.X., Shi, X. G. & Aftab, U. 2017. J. Appl. Poult. Res. 26: 529–535.

EFFECT OF GRINDING TYPE, PARTICLE SIZE AND XYLANASE INCLUSION IN CORN BASED PELLETTED DIETS ON PERFORMANCE AND DIGESTIVE TRACT MEASUREMENTS IN BROILER CHICKENS

ABSTRACT: A total of 760 day-old broiler chicks (Ross 308) were distributed in 12 dietary treatments arranged as a 2 × 3 × 2 factorial. With grinding type (hammer; H vs roller; R), particle size (fine; F vs medium; M vs coarse; C) and xylanase inclusion (without; NX vs with; X, 16,000 BXU/kg), as main factors. Diets were corn-soybean meal based, animals were fed from 1 to 21 d. Feed was offered ad libitum in pellet form. Average daily feed intake (ADFI), average daily gain (ADG), feed to gain ratio (FCR) and coefficient of variation of body weight (CV) were calculated. Xylanase inclusion (8.11X < 9.66NX, %) and particle size (9.63F > 9.26M > 7.76C, %) influenced ADG CV. Interactions between grinding and xylanase inclusion were observed in ADG (48.4RX, 48.1HX and 48.5HNX > 46.9RNX, g/d/bird) and FCR (1.20RNX > 1.17RX, 1.18HX and 1.17HNX, g/g). Relative gizzard weight increased in coarse and medium particle size, roller grinding and no inclusion xylanase diets. Duodenum relative weight was less in xylanase diets, and jejunum (P<0.05) and cecum (P<0.10) relative weights, were bigger in fine particle size diet. This trial suggests that xylanase inclusion in corn-based pelleted diets improved body weight uniformity, weight gain and FCR in roller milled diets. This could be related to the rate of passage and/or the release of encapsulated nutrients from the corn with the roller milled diets being more responsive in this regards.

Keywords: Corn, grinding, particle size, xylanase.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE HARINA DE LARVA DE *CALLIPHORA SP.* EN LA DIETA DE POLLLOS DE CRECIMIENTO LENTO DURANTE EL PRIMER MES DE VIDA EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICA

Sarmiento¹, A., Palacios¹, C. y Revilla², I.

¹Producción Animal, Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales, Filiberto Villalobos119, 37007 Salamanca. ²Tecnología de Alimentos, Universidad de Salamanca, E.P.S. de Zamora, Avda Requejo 33, 49022 Zamora.
Email: carlospalacios@usal.es

INTRODUCCIÓN

La falta de disponibilidad en materias primas proteicas para la alimentación de animales ecológicos, sobre todo en porcino y avicultura, es una de las principales limitaciones que encuentra este sector. Su producción, estado sanitario y bienestar, depende de forma directa del adecuado suministro de proteínas en la dieta (Van Krimpen *et al.*, 2013). Por lo tanto, la búsqueda de alternativas proteicas, en calidad como en cantidad, es una prioridad para estos productores. Los insectos contribuyen a la dieta natural de peces y animales monogástricos “free-range” en todo el mundo, ofreciendo el potencial de ser utilizados en la alimentación animal eficazmente como alternativas a otras proteínas de origen animal o a la soja (Teguia *et al.*, 2002). En estos momentos se está procediendo a la legislación del uso de harina de insectos para el uso animal o alimentación humana en Europa. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto, sobre el peso y la velocidad de crecimiento, de la inclusión de harina de larvas de *Calliphora sp.* en la dieta de pollos de crecimiento lento criados en sistemas de producción ecológica durante el primer mes de vida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio, se utilizaron un total de 60 pollitos machos de un día de edad del híbrido de crecimiento lento RedBro, que llegaron sexados de la granja de origen, con pesos y tamaños similares. Los pollitos fueron divididos de forma homogénea en cuatro grupos (15 pollos/grupo); siendo tres grupos experimentales y un grupo control. Los pollitos de cada grupo fueron identificados y alojados en cuatro gallineros independientes dentro de la misma instalación, compartiendo las condiciones climáticas, utilizándose paja de cebada como cama. Cada gallinero contaba con un sistema de suministro de agua y alimento para permitir una ingesta *ad libitum*. La temperatura se mantuvo a 35°C durante las primeras dos semanas y se fue reduciendo hasta 25 °C al final del experimento. La iluminación fue de 11 horas de luz con una intensidad de 250 lux.

La base de la alimentación, para todos los grupos, fue un pienso compuesto (PC) certificado ecológico, confeccionado por una fábrica de piensos y elaborado a base de cereales (maíz, cebada, trigo), soja, guisantes y corrector autorizado. El grupo Control (C) solo tuvo el pienso (PC) como fuente de alimentación. Se fue incorporando Harina de larva *Calliphora sp.* (CLM) a la ración total de los animales en diferentes proporciones. El grupo 5% (95% PC+ 5% CLM), el del 10% (90% PC+ 10% CLM), el grupo 15% (85% PC+15% CLM). Se analizó la composición química de los piensos (Tabla 1) utilizando procedimientos estándar (AOAC, 1995): contenido de agua – por secado a 105 ° C durante 4 h; contenido de proteína - por el método Kjeldahl; contenido de grasa - por extracción Soxhlet; contenido de cenizas - por combustión y contenido en almidón - por el método polarimétrico (EWERS).

Tabla 1. Composición química (en %) de los distintos piensos usados en el experimento.

	Humedad	Proteína Bruta	Fibra Bruta	Grasa Bruta	Cenizas	Almidón
Control	9,24	21,45	3,68	5,69	7,09	38,48
5%	9,35	24,09	4,15	7,10	6,81	35,87
10%	9,19	25,49	3,21	8,25	6,76	33,70
15%	8,92	25,98	3,51	8,40	6,66	32,28

Cada semana, los pollos fueron pesados de forma individual, además de controlar el consumo de pienso en cada corral, muertes de los animales y estado general de los mismos, registrándose los pesos al día 2, 9, 16, 23 y 30 (P2, P9, P16, P23, P30, respectivamente). Se calcularon las ganancias medias diarias (GMD) entre los diferentes pesos registrados, de tal manera que GMD7 corresponde a la GMD del intervalo entre el P1 y P2, GMD14 del intervalo P2 y P3, GMD21 de los pesos P3 y P4, GMD30 de los pesos P5 y P4; finalmente GMDt es la ganancia media diaria entre el P1 y el P5 correspondiente al periodo total del experimento. Para estudiar el efecto del factor considerado se empleó el análisis de varianza de una vía (ANOVA). Para la identificación de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los grupos para las variables estudiadas se aplicaron la prueba post-hoc HSD Tuckey. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete de software SPSS (IBM SPSS Statistics 23).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron muertes durante el ensayo en ninguno de los grupos. La tabla 2 recoge los pesos de los animales obtenidos en los distintos puntos de muestreo del periodo experimental; durante el periodo inicial de crecimiento, los animales que habían recibido el tratamiento del 10% y del 15% tenían un peso significativamente mayor ($P < 0,01$) frente al control y el 5%. Los resultados de este estudio sugieren que mejorar el aumento de peso en pollos a través de la suplementación con harina de larvas debería aumentar el peso final de los pollitos de crecimiento lento. Resultados similares fueron obtenidos por Hwangbo *et al.* (2009), Biasato *et al.* (2017) y Dabbou *et al.* (2018). Esto puede deberse a que la harina de larva tiene una composición mejorada de nutrientes cuando se le compara con la soja, especialmente en calidad de aminoácidos; así como una mayor digestibilidad de proteínas y mejor perfil lipídico. Tegua *et al.* (2002) encontraron que, desde el primer día hasta las cuatro semanas de edad, el peso más bajo se registró con el grupo de control de los pollos, mientras que las aves alimentadas con la dieta con harina de larva (15%) obtuvieron el peso más alto. En casi todas las pesadas se presentaron dos grupos diferentes entre ambos y similares dentro de cada grupo. El grupo control y el grupo 5% presentaron pesos similares y el grupo 10% con el 15% presentaron pesos mayores y significativos.

Tabla 2. Peso \pm DS (g) de los pollos alimentados con distintos niveles de harina de larva *Calliphora sp.*

	% de harina de larva				p
	Control (0%)	5%	10%	15%	
P2	49,5 \pm 1,27	47,3 \pm 0,96	50,4 \pm 1,17	49,2 \pm 1,11	ns
P9	130,7 ^b \pm 3,23	126,9 ^b \pm 4,10	147,4 ^a \pm 6,00	145,2 ^a \pm 3,09	**
P16	281,5 ^b \pm 6,46	308,4 ^a \pm 12,20	263,4 ^b \pm 10,69	315,7 ^a \pm 12,46	**
P23	525,3 ^b \pm 15,42	523,0 ^b \pm 16,94	585,3 ^a \pm 19,02	589,4 ^a \pm 15,91	**
P30	787,7 ^b \pm 21,58	751,3 ^b \pm 20,74	868,7 ^a \pm 23,88	874,7 ^a \pm 26,25	**

ns= No significativo; ** $p < 0,01$; Superíndices a,b distintos, de la misma fila, reflejan diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto a la GMD (tabla 3), se observa que existen diferencias estadísticamente significativas en la inclusión de harina de CLM para todos los intervalos considerados, los grupos que habían recibido el 10 y el 15 % de harina de larvas tuvieron una GMD superior respecto a los otros dos grupos (Control y 5%). Este resultado coincide con los señalados por Hwangbo *et al.* (2009) y Dabbou *et al.* (2018) quienes encontraron una mejora significativa de la GMD en los pollos que habían recibido harina de insectos frente al control durante el primer periodo de vida (hasta los 35 d). Cuando se considera el nivel de inclusión de harina, no se encontraron diferencias significativas entre la GMDt de los grupos T3 y T4. Estos hallazgos plantean que no existe proporcionalidad entre el grado de inclusión de CLM y el peso final o la GMD durante el primer mes de vida. Se aprecian diferentes ritmos de

crecimiento a lo largo del tiempo de los diferentes grupos durante la segunda semana el grupo que más creció fue el T2.

Tabla 3. Ganancia media diaria (GMD) \pm DS (g/d) de los pollos alimentados con distintos niveles de harina de larva *Calliphora* sp.

	% de harina de larva				p
	Control (0%)	5%	10%	15%	
GMD7 (d2-9)	11,6 ^b \pm 0,48	11,4 ^b \pm 0,51	13,9 ^a \pm 0,76	13,7 ^a \pm 0,42	**
GMD14(d9-14)	21,5 ^{ab} \pm 0,80	25,9 ^a \pm 1,57	16,6 ^b \pm 1,33	24,4 ^a \pm 1,56	***
GMD21(d14-21)	34,8 ^b \pm 1,42	30,7 ^b \pm 2,47	46,0 ^a \pm 2,46	39,1 ^{ab} \pm 1,23	***
GMD30(d21-30)	37,5 ^{ab} \pm 2,32	32,6 ^b \pm 1,74	40,5 ^a \pm 1,37	40,8 ^a \pm 2,28	*
GMDt (d1-30)	26,4 ^{ab} \pm 0,78	25,1 ^b \pm 0,73	29,2 ^a \pm 0,82	29,5 ^a \pm 0,93	**

ns= No significativo; * $p > 0.05$, ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ Superíndices a,b distintos, en cada fila, reflejan diferencias estadísticamente significativas.

El período inicial (30 días) se considera el más importante en la producción de pollos de engorde, ya que el crecimiento y el desarrollo se producen a un ritmo muy fuerte en esta fase. De hecho, el peso de los pollitos se cuadruplica, lo que influye en la tasa de crecimiento posterior (Dabbou *et al.*, 2018). La inclusión de entre el 10 o 15% de CLM, en sustitución parcial del pienso compuesto formulado con soja, es adecuada, como ingrediente de alimentación, para las dietas de pollos durante el período inicial, ha influido favorablemente en el crecimiento de los pollos. En términos de peso y GMD no se observaron diferencias significativas entre los grupos que habían recibido CLM en un 15% y en un 10%, lo que indica que no se han apreciado proporcionalidades en los resultados de crecimiento, por lo que la recomendación de inclusión en el pienso de CLM sería no mayor al 10% del total de la ración. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para confirmar los resultados obtenidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Biasato, I. Gasco, L. De Marco, M. Renna, M. Rotolo, L. Dabbou, S. *et al.* 2018. *Poult Sci.* (2): 540-8.
- Dabbou, S. Gai, F. Biasato, I. Capucchio, MT. Biasibetti, E. Dezzutto, D. *et al.* 2018. *J Anim Sci Biotechnol.* 9(49): 1-10.
- Hwangbo, J. Hong, EC. Jang, A. Kang, HK. Oh, JS. Kim, BW. *et al.* 2009. *J Environ Biol.* 30(4): 609-14.
- Tégua, A. Mpoame, M. Okourou Mba, JA. 2002. *Tropicicultura.* 20: 187-92.
- Van Krimpen, MM. Bikker, P. Van Der Meer, IM. Van Der Peet-Schwering, CMC. Vereijken, JM. 2013. *J Insects as Food Feed.* 1(1): 7-16.

EFFECT OF THE INCLUSION DURING STARTER PERIOD OF *CALLIPHORA* SP. MAGGOT MEAL FOR SLOW-GROWING-CHICKEN FEED REARED UNDER ORGANIC SYSTEM

This study evaluated the effects of *Calliphora* sp. larvae meal (CLM) inclusion in diets of organic broilers during the first month of life. A total of 60 male broiler chicks (RedBro) at one-day of age were randomly allotted to four dietary treatments: a control (C) group and three treatment groups, in which CLM was included at 5 (T1), 10 (T2), and 15 (T3) %, respectively. Body weight was significantly higher ($p < 0.05$) at the end of the experiment in T2 and T3, and the average diary weight gain too. It was concluded that increasing levels (10-15%) of CLM inclusion in male broiler feed may improve body weight and average diary weight gain over first starter period life (1-30 d).

Keywords: maggot meal, organic poultry, performance.

DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA Y AMINOÁCIDOS DE LOS SUBPRODUCTOS DE CAMELINA SATIVA EN GALLINAS PONEDORAS: RESULTADOS PRELIMINARES

Peñagaritano¹, E., Piquer², O., Ferrer³, P., Gómez³, E.A., Cano⁴, J.L. y Cerisuelo³, A.

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, Valencia.

²Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad CEU-Cardenal Herrera, Valencia. ³Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias,

Castellón. ⁴Innovater, Teruel. Email: cerisuelo_alb@gva.es

INTRODUCCIÓN

Camelina Sativa es una crucífera cuyo cultivo ha aumentado en los últimos años en España y Europa. El principal destino del cultivo de camelina es la extracción de aceite para usos industriales. La harina y torta de camelina son los subproductos que se obtienen de la extracción de aceite y su composición está ligada al método de extracción, por solventes en el caso de la harina y por prensado en el caso de la torta. Ambas contienen un elevado nivel de proteína bruta (PB; 37 y 34%, respectivamente) y fibra (32,2 y 25,1% fibra neutro detergente-FND, respectivamente) y difieren en su contenido en grasa, siendo superior en el caso de la torta (13,6 vs 3,0% de extracto etéreo-EE) (FEDNA, 2018a). Su elevado contenido en PB convierte a estos subproductos en potenciales fuentes proteicas alternativas a la soja en animales altamente dependientes de este ingrediente como son las aves. Sin embargo, su valor nutricional para gallinas no ha sido determinado hasta el momento. El objetivo de este estudio es determinar el contenido en PB y aminoácidos (AA) digestibles de la harina y torta de camelina en gallinas ponedoras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 160 gallinas Lohmann Brown-classic de 38 semanas de vida se organizaron en 40 jaulas que se repartieron, de manera homogénea, en un total de 5 tratamientos (8 jaulas por tratamiento). Los tratamientos consistieron en un pienso control (C), que contenía 200 g/kg de almidón de maíz, dos tratamientos con inclusión de 100 y 200 g/kg de harina de camelina (H10 y H20, respectivamente) y dos tratamientos con 100 y 200 g/kg de torta de camelina (T10 y T20, respectivamente). En los piensos con camelina, ésta se añadió en sustitución 1:1 del almidón de maíz de pienso C por lo que las diferencias en concentración de AA de los piensos resultaron únicamente de la inclusión de harina o torta de camelina. El periodo experimental tuvo una duración de 8 días; tras 7 días de adaptación, todos los animales se sacrificaron para obtener el contenido del íleon terminal y se realizó un pool de contenido ileal por jaula. Los animales se pesaron al comienzo de la prueba y el día del sacrificio. Además, durante el periodo experimental se controló el consumo medio diario de pienso (CMD) y la producción diaria de huevos y se calculó el peso promedio del huevo, el porcentaje de puesta, la masa del huevo y el índice de transformación del alimento en masa de huevo (IT). Se determinó la composición química de la harina y torta de camelina utilizadas en el estudio, su contenido en factores antinutricionales (FAN) y el perfil de polisacáridos no amiláceos (PNA). Además, se determinó el contenido en materia seca (MS), PB, AA y dióxido de titanio (TiO₂) en los piensos experimentales y en el contenido ileal para el cálculo de los coeficientes de digestibilidad de la PB y AA. Tras el cálculo del coeficiente de digestibilidad ileal aparente (CDIa) de la PB y AA de las dietas, se determinó el coeficiente de digestibilidad ileal estandarizado (CDIs) para la PB y los diferentes AA de la harina y la torta de camelina mediante regresión lineal utilizando el procedimiento proc REG de SAS® de acuerdo con Rodehutschord *et al.* (2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La harina y torta de camelina utilizadas en este estudio presentaron un contenido en PB de 43,4 y 38,5% y en EE de 3,36 y 11,06% en base seca, respectivamente. Ambas presentaron una elevada proporción de fibra (>30%FND) y PNA (23-25%) en comparación con otras materias primas. En cuanto al perfil de PNA, el contenido en PNA solubles e insolubles fue de un 6-7% y un 16-18%, respectivamente. Con respecto a los FAN analizados, el contenido en glucosinolatos y ácido erúrico de la harina y torta de camelina fue bajo (0,113 y 11,38 μ moles/g para los glucosinolatos y 3,70 y 4,32% para el ácido erúrico, respectivamente). En los piensos, el reemplazo de almidón de maíz por harina o torta de camelina provocó un

aumento de los niveles de PB, AA, fibra y grasa (en el caso de la torta de camelina) y una reducción del contenido de EMAn. El CMD de pienso durante el periodo experimental fue menor en los tratamientos con un nivel superior de harina (H20) y torta (T20) de camelina en comparación con el grupo control (C; -17g/d y -15g/d, respectivamente, $p < 0,001$), aunque se recuperó en gran medida al final del periodo (24 h antes del sacrificio). No se observaron diferencias significativas en producción (porcentaje de puesta y masa) de huevos entre tratamientos, lo que se tradujo en un IT inferior en los grupos con inclusión de camelina. El CDi de la PB y AA en las dietas experimentales se redujo ($p < 0,05$) con la inclusión de harina y torta de camelina, lo que indica que la PB y AA de la torta y harina de camelina son menos digestibles que la ración base, probablemente debido a su elevado contenido en FND y PNA. Los valores de CDi para la PB de los piensos se situaron en torno a 79 y 88%. Para los AA, los valores de CDi se situaron en torno a 54,5 y 83%. El CDi de la PB de la harina y torta de camelina calculada por regresión lineal entre la ingestión diaria de PB y la cantidad de PB digerida en íleon terminal (Rodehutsord *et al.*, 2004) presentó valores medios de 65 y 59%, respectivamente ($R^2 > 0,83$), no existiendo diferencias significativas entre ambas materias primas. La figura 1 muestra los valores de CDi para los AA esenciales en la harina y torta de camelina.

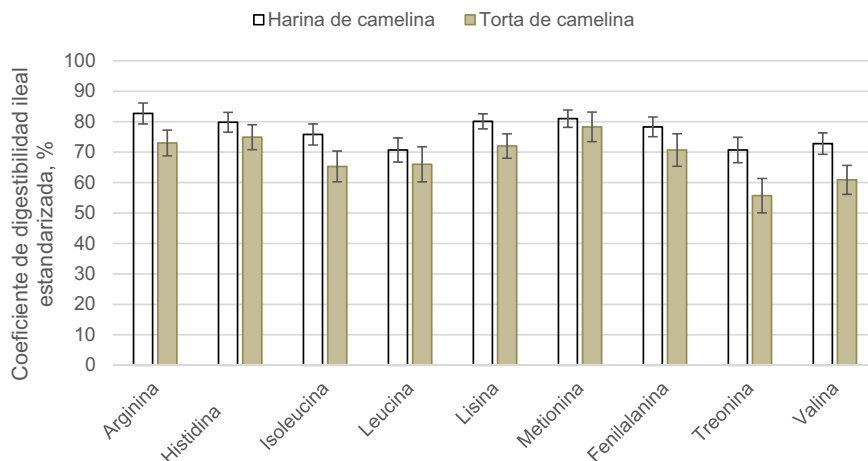


Figura 1. Digestibilidad ileal estandarizada (%) de los aminoácidos de la harina y la torta de camelina utilizando el método de regresión.

Todas las ecuaciones obtenidas mostraron ajustes (R^2) aceptables con valores de 0,93 a 0,98 para el caso de la harina y de 0,82 a 0,94 para el caso de la torta. Los valores de CDi para los diferentes AA fueron, en general, similares entre ambas materias primas ($p > 0,05$). En conjunto, el AA que presentó un mayor valor de CDi fue la metionina (81% en el caso de la harina, y 78% en el caso de la torta), lo cual es relevante ya que se trata del AA limitante en las gallinas ponedoras, y está relacionado con el tamaño del huevo (FEDNA, 2018b). La lisina, otro AA esencial relevante en gallinas, presentó valores de CDi ligeramente inferiores a los de la metionina (80% para la harina y 72% para la torta).

Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio que muestra datos de digestibilidad de PB y AA de los subproductos de camelina en gallinas. La información disponible en pollos es también escasa y dispar. Acamovic *et al.* (1999) publicaron valores de digestibilidad para la PB de la torta de camelina del 31%, siendo estos considerablemente más bajos que los del presente trabajo. Por otro lado, en un trabajo más reciente, Woyengo *et al.* (2016) reportan valores superiores de CDi para los AA de la torta de camelina en pollos que los encontrados en este estudio, situándose entre 71 y 90%. Los valores de CDi

determinados para la metionina y la lisina en el estudio de Woyengo *et al.* (2016) fueron ligeramente superiores a los estimados en el presente estudio (85,5 y 76,5%, respectivamente). Si se comparan los coeficientes de digestibilidad de la PB y de los AA de la torta y harina de camelina con la de otros subproductos proteicos utilizados en piensos de gallinas como la soja o la colza, observamos que según las tablas FEDNA (2018a), la harina de soja 44 presenta un valor de proteína digestible para aves de un 38,3%, claramente superior al presentado por la harina y torta de camelina (25,7 % y 23,2 %, respectivamente). Sin embargo, la harina y torta de colza presentan valores de proteína digestible similares a la harina y torta de camelina, entre un 25-27% para la harina y un 24-25% para la torta de colza. En el caso de los AA limitantes en las gallinas, fundamentalmente metionina y lisina, tanto la harina de soja 44 como la harina y la torta de colza presentan valores de metionina digestibles para aves similares a la harina y torta de camelina (entre 0,46 y 0,62%). En lo que respecta a la lisina, el contenido de lisina digestible en la harina y torta de camelina (1,36% vs 1,17%, respectivamente) es inferior al de la harina de soja 44 (2,35%) y similar a la de la harina y torta de colza (1,51 y 1,14 para la harina y torta, respectivamente; FEDNA, 2018a).

En conclusión, es posible considerar la harina y torta de camelina como fuente de PB y AA en piensos de gallinas ponedoras, principalmente por su elevado contenido en PB y contenido en metionina digestible. Sin embargo, es necesario determinar el límite máximo de su inclusión en piensos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acamovic, T., Gilbert, C., Lamb, K. & Walker, K.C. 1999. Nutritive value of Camelina sativa meal for poultry. Br. Poult. Sci.40 (Suppl. 1): 27-41.
- Tablas FEDNA. 2018a. Ed.: C. de Blas et al. Madrid.
- Normas FEDNA: Necesidades nutricionales para avicultura (2ª Edición). 2018b. Ed. G. Santomá & G.G. Mateos.
- Rodehutschord, M., Kapocius, M., Timmler, R. & Dieckmann, A. 2004. Linear regression approach to study amino acid digestibility in broiler chickens. Brit. Poult. Sci. 45(1): 85-92.
- Woyengo, T.A., Patterson, R., Slominski, B.A., Beltranena, E. & Zijlstra, R.T. 2016. Nutritive value of cold-pressed camelina cake with or without supplementation of multi-enzyme in broiler chickens. Poult. Sci. 95: 2314-2321.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado gracias al Proyecto “Estudio agronómico, tipificación nutricional y valorización de los productos y subproductos de camelina sativa para su utilización en nutrición animal (RTC-2015-3265-5)” financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad en el marco del Programa Retos-Colaboración.

PROTEIN AND AMINO ACID DIGESTIBILITY OF *CAMELINA SATIVA* BY-PRODUCTS IN LAYING HENS: PRELIMINARY RESULTS

ABSTRACT: *Camelina sativa* by-products are becoming increasingly more available for animal feeding as alternative protein sources. In the present study, the standardized ileal digestibility (CDIs) of crude protein (CP) and amino acids (AA) of camelina meal (CM) and camelina expellers (CE) were evaluated in laying hens. One hundred and sixty 38-weeks old Lohmann brown layers were fed with 5 experimental diets (8 cages/diet; 4 animals/cage): a basal diet and four diets in which maize starch contained in the basal diet was replaced with CM and CE at 100 and 200 g/kg, so that changes in dietary concentration of CP and AA resulted from the camelina by-products only. A linear regression approach was used to calculate AA digestibility in these by-products. The CDIs of CP and most of AA (except cysteine, glycine, serine and tyrosine) were similar between CM and CE. The CDIs of CP was 65 and 59% for CM and CE, respectively. Methionine showed the highest CDIs from all the essential AA both in CM (81%) and CE (78%) and the CDIs of lysine was slightly lower (80% for CM and 72% for CE). Thus, CM and CE are potential alternative protein and AA sources in laying hens.

Keywords: laying hens, *Camelina sativa*, digestibility, amino acids.

Reproducción

EVOLUCIÓN PRODUCTIVA DE EXPLOTACIONES LECHERAS A PARTIR DE LA INTRODUCCIÓN DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN PRIMERA INSEMINACIÓN Y DEL SISTEMA DE CAMA VOLTEADA

Feyjoo¹, P., Pesántez^{2,3}, J., Vázquez^{1,4}, J., Heras-Molina², A., Patrón⁵, R., Pérez⁶, N., González-Martín¹, JV., Fargas⁷, O y Astiz², S.

¹Veterinaria, UCM, Madrid; ²Reproducción Animal (INIA), Madrid; ³Ciencias Agropecuarias, Universidad Cuenca, Ecuador; ⁴Granja Mudéjar Wagyu, Teruel; ⁵TRIALVET, Madrid, ⁶European University Madrid; ⁷VAPL SL, Barcelona.
pfeyjoo@ucm.es susana.astiz.inia@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La productividad en vacuno lechero está condicionada por diferentes factores como la estructura de la granja, instalaciones y manejo general y por el ritmo reproductivo. En concreto, y ante granjas de tamaño cada vez mayor, la protocolización del manejo reproductivo es una opción con resultados muy positivos destacando la sistematización de la sincronización de la ovulación lo que posibilita la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) (Carvalho et al., 2018). La IATF a primera inseminación postparto hace que las granjas comiencen la vida reproductiva postparto tempranamente, reduciendo la media de días en leche (DEL), las vacas problemáticas y los días improductivos (Crowe et al., 2018) Los protocolos hormonales son varios (Astiz y Fargas, 2013). Además, el confort y el bienestar de nuestros animales es esencial, no sólo por constituir una demanda cada vez más clara de la sociedad, sino porque sabemos que el bienestar se relaciona con mejoras sanitarias y productivas (Bertocchi et al., 2018). Dentro de este ámbito, el tipo de cama es esencial en la salud de las vacas (Fournel et al., 2018). Un ejemplo de cama con una relación directa, positiva, con la producción y sanidad demostrada previamente, tanto en vacas en producción (Fournel et al. 2018), como en vacas en secado (Astiz et al., 2014) es la cama compostada o también denominada volteada (en inglés *composting bedding* o CB). La CB se basa en el efecto de compostaje bacteriano de la materia fecal más materia orgánica añadida semanalmente (paja, serrín, etc.) y en un ambiente aerobio y de igual humedad (lo que se consigue volteando la cama diariamente). Este compostado convierte la cama en cálida en invierno y seca y fresca en verano, mejorando el bienestar y diferentes aspectos higiénico-sanitarios del animal y de la ubre (Astiz et al., 2014). El consultor veterinario debe decidir mejoras que eleven la eficiencia productiva global de los sistemas productivos. Por ello, en el presente trabajo describimos la evolución durante 10 años consecutivos, de las características productivas y estructurales de granjas lecheras, asesoradas por un mismo grupo consultor, localizadas en el litoral mediterráneo y norte español, a raíz de la introducción de dos cambios de manejo sistematizados en dos momentos diferenciados en el tiempo. El grupo planteó la introducción de la IATF a primera IA a partir de enero de 2011. Por otro lado, se planteó la implantación del sistema de cama compostada, considerándose que desde enero 2014 el total de las granjas tenían este sistema de encamado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Incluimos datos entre 2008-2017, de 70 explotaciones lecheras de alta producción, asesoradas por el mismo grupo veterinario, que aportaron datos durante, al menos, tres años consecutivos. Los datos estructurales de explotación fueron: total de vacas (TC), vacas en lactación (%; LCP), vacas primíparas (%; PC-P), vacas gestantes (%; PregC-P), edad al primer parto (AFC en m) y novillas gestantes (%; PregC-P). Los parámetros productivos fueron: días en leche (DIM en d), producción a 305 días (PMY-305 en l), grasa (%; MF-P), proteína (%; MP-P), leche/vaca presente (dMY-PC), vacas menos productivas (%; LPC-P), células somáticas (SCC-AA, en cél/ml) y días en leche al secado (DIMD, en d). Los datos se recogieron de programas informatizados de granja y del grupo veterinario. Se estructuraron, depuraron y analizaron con el paquete estadístico IBM-SPSS®-Statistics-25.0. Las medias de las variables se dividieron en los periodos: inicial "PI", de 2008 a 2010 (sin sistematización

reproductiva ni de camas CB), periodo "IA", de 2011 a 2013 (IATF sin cama compostada) y periodo "IA-CB", de 2014 a 2017 (con AITF y CB), analizándose las diferencias entre periodos consecutivos (periodo PI vs. IA; periodo IA vs. IA-CB) con ANOVA para muestras repetidas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de las 70 granjas incluidas en el estudio, anualmente contamos con los valores de una media de 42 granjas. En el periodo PI aportaron valores una media de 43 granjas, 55 en el periodo IA, y 511 en el IA-TF. Los resultados de la evolución de los parámetros estructurales y productivos de granja a lo largo de los años se recogen en las figuras 1 y 2 y en la tabla 1.

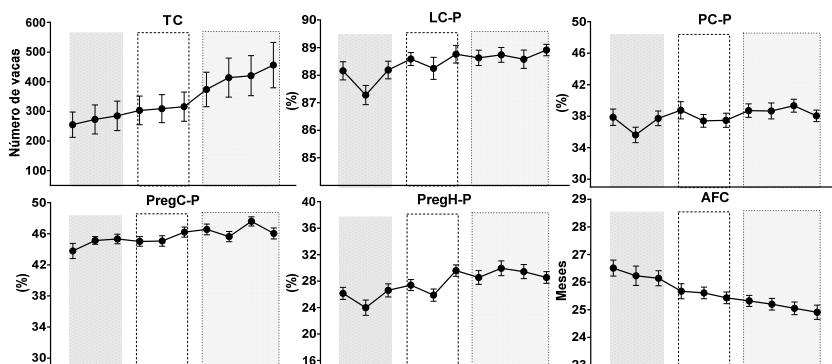


Figura 1: Evolución de las características estructurales de granjas lecheras de alta producción durante los años 2008 a 2017. Las líneas verticales delimitan los periodos Inicial (PI) de 2008 a 2010 sin IATF ni CB; Periodo "IA", de 2011 a 2013, con IATF sistemática a primera-IA.; y periodo "IA-CB", de 2014 a 2017, con IATF y cama compostada. TC= total de vacas; LCP= vacas en lactación (%); PC-P=vacas primíparas (%); PregC-P= vacas gestantes (%); PregC-P= novillas gestantes (%); AFC=edad al primer parto (en m).

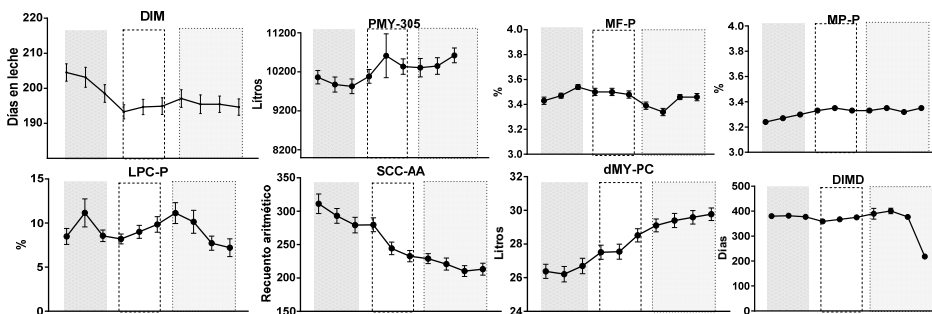


Figura 2: Evolución de las características productivas de granjas lecheras de alta producción durante los años 2008 a 2017. Las líneas verticales delimitan los periodos Inicial (PI), 2008-2010 sin IATF ni CB; Periodo "IA", 2011-2013, con IATF sistemática a primera-IA.; y periodo "IA-CB", 2014-2017, con IATF y cama compostada. DIM=Días en leche; PMY-305=producción 305 días; MF-P=Grasa láctea (%); MP-P=Proteína láctea (%); LPC-P= vacas menos productivas (%); SCC-AA= Recuento de células somáticas; dMy-PC=Producción láctea/vaca presente (l); DIMD=Días en leche al secado.

Tabla 1. Evolución de las características productivas de granjas lecheras de alta producción durante los años 2008 a 2017 clasificadas en periodos según tenían implementadas determinadas medidas de manejo.

	Periodo PI	Periodo IA	Periodo IA-CB	P-1	P-2
TC	255,7±273,06	291,5±299,86	436,1±472,51	0,001	0,0001
LC-P	87,8±1,79	88,6±2,24	88,8±1,56	0,009	NS
PC-P	37,0±4,85	38,0±4,86	38,8±4,41	NS	NS
PregCP (%)	44,7±3,33	45,5±3,71	46,3±3,87	NS	NS
DIM	201,6±13,55	194,1±15,42	195,1±14,96	0,002	NS
PMY-305	9876±920,97	10396±1704,74	9852±2767,70	0,005	NS
MF-P	3,5±0,13	3,5±0,19	3,3±0,06	NS	0,0001
MP-P	3,3±0,07	3,3±0,08	3,3±0,07	NS	NS
dMY-PC	26,3±2,73	27,7±3,03	29,4±2,37	0,0001	0,0001
LPC-P	9,0±4,17	9,4±3,87	8,5±4,90	NS	NS
SCC-AA	293,7±74,90	252,1±58,28	217,1±48,83	0,0001	0,008
DIMD	380,2±13,47	363,8±25,44	313,5±167,41		

PI= periodo Inicial (2008-2010, sin IATF ni CB), Periodo IA= 2011-2013, con IATF sistemática a primera-IA; periodo IA-CB= 2014-2017, con IATF y cama compostada. Valores expresados como media±SD. Valores P-1 (entre periodos PI e IA) y P-2 (entre periodos IA e IA-CB), se refieren a la significancia entre valores de una misma línea.

Por lo tanto, se observa una mejoría en prácticamente todos los parámetros productivos analizados, coincidiendo con la implantación de las nuevas decisiones de manejo, que reflejan por un lado, la conexión entre reproducción y producción (Calsamiglia et al., 2018); por otro, la mejora productiva consecuentes a la introducción del sistema CB sea probablemente consecuencia indirecta de una mejora en el nivel de bienestar, también previamente reportado en otros trabajos (Asti et al., 2014). En conclusión, la sistematización del manejo reproductivo a primera inseminación y el sistema de camas compostadas coincide con una mejora continua de los parámetros productivos de las explotaciones estudiadas a lo largo del tiempo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Astiz, S., Sebastian, F., Fargas, O., Fernández, M., Calvet, E. 2014. Liv Sci. 159: 161-164.
- Astiz, S., Fargas, O. 2013. Therio 79 (7):1065-1070.
- Bertocchi, L., Fusi, F., Angelucci, A., Bolzoni, L., Pongolini, S., Strano, R.M., Ginestreti, J., Riuizi, G., Moroni, P., Lorenzi, V. 2018. Prev Vet Med. 1(150):8-18.
- Carvalho, P.D., Santos, V.G., Giordano, J.O., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M. 2018. Theriogenology. 114:165-172.
- Calsamiglia, S., Astiz, S., Baucells, J., Castillejos, L. 2018. J Dairy Sci. 101(8):7517-7530.
- Crowe, M.A., Hostens, M., Opsomer, G. 2018. Ir Vet J. 8:71-1.
- Fournel, S., Godbout, S., Ruel, P., Fortin, A., Duquette Lozeau, K., Létourneau, V., Génereux, M., Lemieux, J., Potvin, D., Côté, C., Duchaine, C., Pellerin, D. 2019. J Dairy Sci. 102(2):1847-1865.

PRODUCTIVE EVOLUTION OF DAIRY CATTLE HERDS SINCE THE IMPLEMENTATION OF FTAI FOR FIRST INSEMINATIONS AND COMPOSTING BEDDING SYSTEMS.

ABSTRACT: Data from 70 dairy Holstein herds were analyzed during ten subsequent years (2008 to 2017), to describe the evolution of the productive parameters during this time period, and the inflexions in their evolution, concurrently with the implementation of two major management systems. 2011 a program of a systematic FTAI for first Insemination was implemented, and since 2014, all farms counted with compost-bedding systems. These management decisions resulted in a general trend to improve herd and individual milk yield, to reduce Somatic Cells Count and to increase slightly the percentage of pregnant animals. Consequently, we can say that such consulting decisions helped to enhance the productive efficiency of these high yielding dairy farms.

Keywords: FTAI, first insemination, composting bedding, milk yield

EFFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO EN VACAS SECAS Y SU REPERCUSIÓN EN LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS

Hidalgo-Chiquero, A.¹, Andreu-Vázquez, C.² y López-Helguera, I.¹

¹Universitat de Lleida (UdL). Fundació Agrotecnio. Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España. ²Universidad Europea de Madrid. Calle Tajo, s/n, 28670 Villaviciosa de Odón, Madrid, España.; irenelh@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El estrés por calor es uno de los mayores desafíos a los que se enfrentan los productores de vacuno lechero en nuestro país (Ramos *et al.*, 2016). Durante muchos años el foco de estudio ha sido la vaca en lactación, ya que debido a su elevado metabolismo asociado a la producción lechera, su producción de calor metabólico es mayor en comparación con vacas no lactantes (Wolfenson, *et al.*, 1988). Sin embargo, en los últimos años la vaca seca ha generado gran interés, estudiándose la gestación tardía y los beneficios potenciales del uso de sistemas de refrigeración durante el período seco (Tao and Dahl, 2013). La exposición de las vacas al estrés por calor durante el período seco se asocia con una disminución del rendimiento lechero (do Amaral *et al.*, 2009, 2011; Tao *et al.*, 2011) y una menor eficiencia reproductiva en la lactación posterior (Avendaño-Reyes *et al.*, 2006). Las vacas secas estresadas térmicamente tienen un desarrollo deficiente de las glándulas mamarias y menos células funcionales al inicio de la lactancia, lo que compromete su rendimiento productivo (Tao *et al.*, 2011). Así mismo, se ha demostrado que los cambios en el estado endocrino durante la gestación tardía pueden llevar a alteraciones en los parámetros reproductivos de la vaca lechera posparto (Kadzere *et al.*, 2002). Por todo ello, los objetivos de este trabajo fueron valorar el estrés térmico de las vacas secas en dos instalaciones de ganado vacuno lechero y su efecto sobre su fertilidad y producción lechera en la subsiguiente lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo entre julio y septiembre 2017 en una explotación de bovino lechero Holstein-Friesian de alta producción, situada en Huesca. El clima en esta región de estudio se categoriza como clima mediterráneo continental seco, con un régimen térmico caluroso en verano y frío en invierno. Los valores máximos y mínimos de temperatura para los meses de julio agosto y septiembre fueron de 35,8 - 11,9 °C; 36,6 -10,6 °C; 31,1- 8,5 °C respectivamente. El estudio comprendió un total de 179 vacas, cuyo periodo de secado de 2 meses se realizó entre los meses de julio y septiembre. Las vacas desde el secado hasta los 265 días de gestación fueron distribuidas en dos patios (P1, n=139 y P2, n=40) con diferentes características. El P1 tenía unas dimensiones superiores en comparación al P2, zona de descanso de cubículos de arena, orientación de su eje longitudinal dirección E-O, y una ventilación forzada localizada en dos líneas (zona de alimentación y de descanso). El P2 era de cama caliente (estiércol seco), orientación N-S y una ventilación localizada únicamente en la zona de alimentación. El sistema de refrigeración en ambos patios se basó en el enfriamiento directo del animal mediante la combinación de sistemas de humectación y ventilación forzada, activado automáticamente cuando las condiciones ambientales superaban un THI superior a 68 en el caso de la ventilación y 70,5 para la humectación. Los animales en el estudio tras cumplir los 265 días de gestación, se trasladaron a un patio de parto con las mismas condiciones de alojamiento. Allí permanecieron durante aproximadamente 2 semanas hasta el momento del parto. Solo se incluyeron en el estudio los animales que habían pasado al menos un mes de secado en el patio de estudio. Tras el periodo de espera voluntario posparto, los animales se sincronizaron (protocolo G6G) e inseminaron. El diagnóstico de preñez se realizó a 33-40 días post inseminación por ecografía transrectal.

Durante el secado, se registraron las temperaturas corporales mediante la inserción en la vagina de un termómetro digital, datalogger *Thermocron® iButton Maxim* unido a un dispositivo intravaginal inactivo (*CIDR*) en 75 de las 179 vacas (41.9%); 39 y 36 animales del P1 y P2 respectivamente.). Se registró la temperatura corporal cada 15 minutos durante dos

días consecutivos (7051 registros totales). El registro de una temperatura corporal superior a 39°C se consideró indicativo de estrés térmico. Los parámetros analizados de cada animal fueron: rebaño, número de lactación, días en lactación, temperatura corporal, producción de leche a 150 días, número de inseminaciones, días a primer servicio y días abiertos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según el número de partos, en P1 se alojaron 14 primíparas y 26 múltiparas y en el P2 52 primíparas y 87 múltiparas. Según el registro de la temperatura corporal, un 28,1% de los registros obtuvieron un valor superior a los 39 °C. Las vacas alojadas en el P2 tuvieron un mayor número de registros con valores superiores a los 39°C en comparación con el P1 (35,2% vs 21,4%, $p < 0,001$). Estos resultados demuestran que los animales alojados en el P2 estuvieron sometidos a un mayor estrés térmico en comparación con las del P1. El P2 disponía únicamente de una fila de ventiladores, la zona de descanso era cama caliente y la orientación N-S, factores que pudieron generar esas diferencias térmicas en los animales alojados con respecto al P1.

De las 178 vacas, solo 158 fueron inseminadas y la fertilidad a primera inseminación fue del 29,7%. La Tabla 1 muestra la fertilidad a primera inseminación y acumulada a 150 días de las vacas según su paridad y el patio donde estuvieron alojadas durante el secado. Aunque no se observaron diferencias significativas entre patio de secado y la fertilidad a primera inseminación ($p=0,063$), al estudiar la fertilidad acumulada a 150 días, las vacas alojadas en el P2 tuvieron una tasa de concepción acumulada más baja en comparación con las alojadas en el P1 ($p < 0,001$). Los resultados muestran un efecto del patio de secado en la reproducción posterior, siendo el estrés térmico un posible factor asociado al descenso de la fertilidad. Se ha visto que el estrés por calor durante la última etapa de la gestación y el estado energético de la vaca posparto influye en la actividad ovárica durante el puerperio (Jordan, 2003), así como a la detección de celos (Gangwar *et al.*, 1965), lo que podría alterar la tasa de concepción durante la lactación posterior.

Tabla 1. Fertilidad de las vacas en estudio según la distribución por patios de secado y el número de partos.

Factor	Categoría	N	N vacas gestantes a 1ª IA	% Fertilidad 1ª IA	p-valor*	N	N vacas gestantes a 150d	% fertilidad 150d	p-valor*
Patio	1	119	40	33,6	0,063	119	101	86,3	<0,001
	2	39	7	17,9		37	21	56,8	
Paridad	Primípara	63	19	30,2	0,927	63	54	85,7	0,098
	Múltipara	95	28	19,5		91	68	74,7	
Total		158	47	29,7		154	122	79,2	

*p-valor de la prueba Chi cuadrado para detectar diferencias en la fertilidad a 1ª IA y a 150 días

Para el estudio de la producción de leche se tuvieron en cuenta 168 vacas (aquellas que produjeron leche al menos hasta el día 150 posparto). Su producción media fue de 7.807 litros. La Tabla 2 muestra la producción de leche a 150 días según la distribución por patios de secado y por número de parto de las vacas. No se observó un efecto significativo del patio de secado sobre la producción de leche de la lactación posterior ($p = 0,434$), aunque si se observó un efecto de la paridad ($p = 0,006$). La bibliografía describe un efecto del estrés térmico sobre la producción posterior (do Amaral *et al.*, 2009, 2011; Tao *et al.*, 2011). Sin embargo nuestros resultados no muestran dicho efecto, lo cual puede deberse al hecho los animales de ambos patios de secado se alojen en un patio con dos líneas de ventiladores y aspersores durante las dos semanas previas al parto.

Tabla 2. Producción de leche a 150 días según la distribución por patios de secado y número de partos.

Factor	Categoría	N	Producción media (litros)	D.S	IC 95%	p-valor*
Patio	1	128	7763,77	114,19	7537,8 - 7989,74	0,434
	2	40	7945,64	197,01	7547,14 - 8344,15	
Paridad	Primípara	65	7465,45	150,87	7164,04 - 7766,87	0,006
	Múltipara	103	8022,66	125,87	7772,98 - 8272,33	
Total		168	7807,07	98,74	7612,13 - 8002,01	

*p-valor del análisis de la varianza (ANOVA) para detectar diferencias en la producción de leche

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avendaño-Reyes, L., Alvarez-Valenzuela, F. D., Correa-Calderón, A., Saucedo-Quintero, J. S., Robinson, P. H. and Fadel, J. G. 2006. *Livestock Sci.* 105(1–3):198–206.
- Do Amaral, B. C., Connor, E. E., Tao, S., Hayen, J., Bubolz, J. and Dahl, G. E. 2009. *J Dairy Sci.* 92(12) 5988–5999.
- Gangwar, P. C., Branton, C. and Evans, D. L. 1965. *J Dairy Sci.* 48(2). 222–227.
- Jordan, E. R. 2003. *J Dairy Sci.* 86. 104–114.
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N. and Maltz, E. 2002. *Livestock Production Sci.* 77(1). 59–91.
- Ramos, R., Lammoglia, M., Daniel, L., Rojas, M., Tabbarez, A. 2016. *Engormix*, 24, 12-36.
- Tao, S. and Dahl, G. E. 2013. *J Dairy Sci.* 96(7), 4079–4093.
- Tao, S., Bubolz, J. W., do Amaral, B. C., Thompson, I. M., Hayen, M. J., Johnson, S. E. and Dahl, G. E. 2011. *J Dairy Sci.* 94(12), 5976–5986.
- Wolfenson, D., Flamenbaum, I. and Berman, A. 1988. *J Dairy Sci.* 71(3) 809–818.

Agradecimientos: Los autores agradecen al personal de la Granja San José su disposición y ayuda en la realización del estudio, a Elanco Spain el suministro de los dataloggers y al Dr. Flamenbaum el apoyo técnico prestado en el uso de los dataloggers e interpretación de los registros de temperatura obtenidos.

HEAT STRESS IN DRY COWS AND ITS IMPACT ON REPRODCUTIVE PARAMETERS

ABSTRACT: The main objectives of the current study were to quantify heat stress in dry cows and its impact on subsequent fertility and milk production in high-producing dairy cows from a commercial farm located in northeast Spain. Dry cows were either in a pen of sand cubicles, with E-W orientation and two lines of fans (P1, n=139) or in a of dried manure pen, with N-S orientation and one line of fans (P2, n=40). Digital thermometers (datalogger *Thermocron® iButton Maxim*) were inserted into the vagina of 75 cows to record body temperature every 15 min during two days. Body temperature above 39°C was indicative of heat stress. Stall, lactation number, days in milk, milk production, artificial insemination number, days to first service and open days were recorded. The results of this study indicated that heat stress was more likely to occur in P2 than in P1 (percentage of temperature records >39°C: 35.2% vs 21.4%, p <0.001). Dry cows in P2 showed a significantly lower cumulative conception rate at 150DIM than cows in P1 (56.8% vs 86.3%, <0.001). However, milk production was not significantly different between pens. Our results suggest an association between heat stress in dry period and subsequent decreased fertility.

Keywords: dry cow, heat stress, conception rate.

EFFECTO DE LA SUBNUTRICIÓN DURANTE EL PERIODO PERI-IMPLANTACIONAL SOBRE DE LA EXPRESIÓN DE GENES ESTIMULADOS POR INTERFERON (ISGs) EN VACAS NODRIZAS. EL USO DEL ÁRBOL DE DECISIÓN COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA.

López-Helguera, I., Serrano-Pérez B., Molina, E., Noya, A., Sanz, A., Casasús I., Villalba, D.

¹Universitat de Lleida (UdL). Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España. ²Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España; irenelh@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

La productividad en los sistemas de ganado vacuno depende no solo de la selección genética sino también de factores como la nutrición o el ambiente (revisado por Chavatte-Palmer et al. 2018). A una correcta productividad hay que sumarle una adecuada gestión económica de los recursos, lo que implica una optimización de los costes de la ración. La restricción en la dieta o el uso de elementos de baja calidad nutricional puede suponer un ahorro económico considerable, pero puede repercutir en la reproducción, afectando negativamente a los periodos tempranos de gestación y el desarrollo placentario (Long et al. 2009; McLean et al. 2018). Una manera de valorar la viabilidad del conceptus durante el periodo preimplantacional en rumiantes es la caracterización de los genes estimulados por interferón (ISGs) en sangre materna, inducidos por el interferón tau (Han et al., 2006; Matsuyama et al., 2102). Algunos de estos ISGs, como el ISG15, o las proteínas Mx1 y Mx2 (*myxovirus resistance 1 y 2*) poseen un importante papel en la inmunomodulación materna durante la implantación (Hansen y Pru, 2014). Un incremento en los niveles de expresión de estos ISGs el día 19 post inseminación artificial (IA) se asocia con un posterior diagnóstico de gestación positivo (Green et al., 2010). Sin embargo, apenas existe información sobre el uso de métodos de aprendizaje automático, como los árboles de decisión, para predecir la preñez y su viabilidad a partir de la expresión de ISGs. El objetivo de este estudio fue evaluar la expresión de ISGs a días 18 y 21 post-IA en células mononucleares sanguíneas periféricas (CMSP) en vacas nodrizas subnutridas durante los días 1-82 post-IA mediante árboles de decisión.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó entre Septiembre 2014 y Marzo 2015 en la granja experimental La Garcipollera (945 msnm, Jaca, Huesca). Se incluyeron 53 vacas nodrizas multíparas de raza Parda de Montaña (n=34, PA) y Pirenaica (n=19, PI). Las vacas se sincronizaron y se inseminaron 65± 14 días después del parto. El día de la IA los animales se distribuyeron de manera aleatoria en dos grupos. Un grupo CONTROL (n=23) con una alimentación con el 100% de los requerimientos energéticos de mantenimiento, lactación y gestación (10,9 y 10,0 kg MS/vaca/día para la PA y PI respectivamente) y otro de alimentación restringida (SUBNUT; n=30) con el 65% de los requerimientos energéticos (7,0 y 6,4 kg MS/vaca/día) hasta el día 82 de gestación, donde se les administró el 100% de los requerimientos a ambos grupos. El diagnóstico de gestación se realizó el día 37 post-IA mediante ecografía transrectal (transductor de 7,5MHz) y se confirmó a día 90 post-IA.

De cada animal, se tomaron muestras de sangre de la vena coccígea en 2 tubos con EDTA (BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company, Plymouth, RU) el día 18 y 21 post-IA para el aislamiento de CMSP. El aislamiento de CMSP se realizó mediante un gradiente de densidad con Histopaque-1077 (SIGMA-ALDRICH, Madrid, España), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. El ARN de las células mononucleares se extrajo mediante el protocolo Trizol (Invitrogen Carlsbad, California, EEUU), se trató con DNAsas y se obtuvo ADN copia (cDNA) mediante transcripción reversa en presencia de iniciadores *random* con la enzima RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Scientific, Alcobendas-Madrid, España). La expresión de ARN mensajero para los genes *OAS1*, *ISG15*, *MX1*, *MX2* y el gen de referencia β -actina (*ACTB*) se determinó mediante PCR a tiempo real empleando el sistema SYBR Green (Thermo Scientific, Alcobendas-Madrid, España) en un aparato de detección ABI PRISM™ 7500 (Applied Biosystem, Foster City, CA, EEUU). Los resultados se expresaron en

expresión relativa (RQ). De cada animal se tomaron datos de la raza, fertilidad, y de la expresión génica de *ISG15*, *MX1*, *MX2* y *ACTB* el día 18 y 21.

Los niveles de expresión transformados de forma logarítmica fueron analizados mediante un modelo lineal (JMPPro, SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU) que incluía el día de muestreo, el nivel de alimentación, la raza y el diagnóstico de gestación. Se usó el procedimiento de árboles de decisión del mismo paquete estadístico para evaluar la bondad de los cuatro genes ISGs para predecir el estatus de gestación. Los cuatro ISGs eran potenciales predictores y el algoritmo del árbol de decisión seleccionó cuál de ellos (y a partir de qué umbral) era estadísticamente mejor (a partir de los parámetros G2 y $-\log$ (probabilidad)) para estimar el estatus de gestación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de preñez registrada en el estudio fue del 66% (n=14 en vacas CONTROL; n=21 en vacas SUBNUT, $p=0,36$). No se observó un efecto de la subnutrición materna o de la raza en la expresión de ISGs, sin embargo, el día de muestreo (18 vs. 21) y el estado de preñez afectaron significativamente la expresión. Los niveles de expresión de *OAS1*, *MX1*, *MX2* y *ISG15* fueron superiores a día 21 en comparación con el día 18 ($p<0,001$). Las hembras gestantes presentaron mayor nivel de expresión de *OAS1*, *MX2*, *ISG15* en contraste con las hembras no preñadas. La detección de ISGs en sangre materna ha demostrado ser una herramienta excelente para la detección de la viabilidad embrionaria en rumiantes (Green et al., 2010).

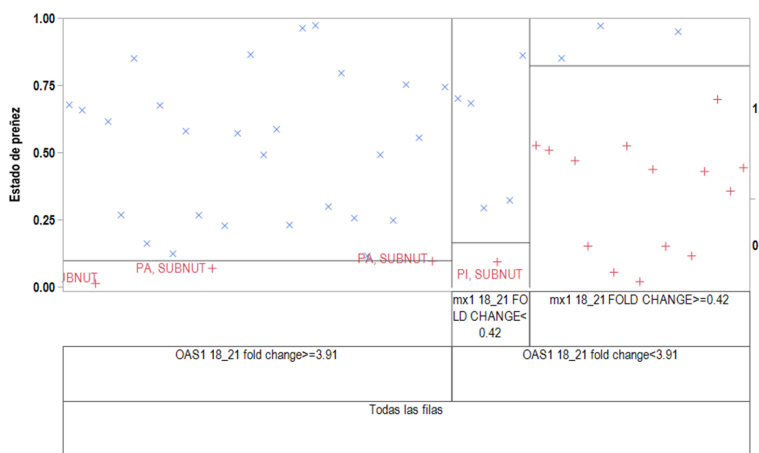


Figura 1. Árbol de partición. Estado de preñez a 90 días post-IA, representado en el eje de abscisas (X gestante, + no gestante), de acuerdo con los niveles umbrales establecidos de las variaciones de *OAS1* y *MX1* del día 18 al 21, representado en el eje de ordenadas. PA, parda de montaña, PI pirenaica.

El análisis estadístico mediante árbol de decisión determinó la mejor combinación de parámetros relacionados con la expresión de ISGs (aumento en la expresión de *MX1*, *MX2*, *OAS1* y *ISG15* del día 18 al 21 post-IA) en relación a su carácter predictivo sobre el estado de preñez a día 37. El aumento de *OAS1* fue la primera variable detectada para discriminar los animales gestantes. Un aumento de *OAS1* de 3,91 y de *MX1* por debajo de 0,42 fueron los niveles de referencia para definir el estado de preñez (32 de 35 animales preñados cumplieron estos valores) (Figura 1). Cuatro vacas del grupo SUBNUT cumplieron estos parámetros pero fueron diagnosticadas como no preñadas a día 37 o 90 y por lo tanto clasificadas como pérdidas de gestación tempranas. El resto de las 14 vacas no gestantes se clasificaron como no preñadas de acuerdo a la clasificación estadística realizada. Los

resultados muestran que la combinación de los cambios en *OAS1* y *MX1* en los días 18-21 post-IA podrían ser los mejores indicadores para discriminar el estado de preñez en el ganado de carne. A pesar del marcado efecto de la subnutrición en el crecimiento embrionario en los estadios tempranos de preñez descrito en otros trabajos (Long et al. 2009; McLean et al. 2018), nuestros resultados sugieren que la mayoría de las hembras fueron capaces de desarrollar respuestas adaptativas para garantizar la formación del blastocisto (Velazquez et al. 2015). Sin embargo, el efecto de la subnutrición en el ambiente uterino pudo condicionar la supervivencia embrionaria aumentando el riesgo de pérdida durante las primeras semanas de gestación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chavatte-Palmer, P., Velazquez, M.A., Jammes, H & Duranthon, V. 2018. *Animal*. 24:1-9.
- Han, H., Austin, K.J., Rempel, L.A. & Hansen, T.R. 2006. *J Endocrinol*. 191:505-12.
- Hansen, T.R. & Pru, J.K. 2014. *Adv. Exp. Med. Biol*. 759: 13-31.
- Green, J.C., Okamura, C.S., Pooock, S.E., Lucy, M.C. 2010. *Anim Reprod Sci*. 121(1-2):24-33.
- Long, N.M., Vonnahme, K.A., Hess, B.W., Nathanielsz, P.W. & Ford, S.P. 2009. *J Anim Sci*. 87, 1950–1959.
- Matsuyama, S., Kojima, T., Kato, S. & Kimura, K. 2012. *Reprod Biol Endocrinol*. 10:21.
- McLean, K.J., Crouse, M.S., Crosswhite, M.R., Negrin Pereira, N., Dahlen, C.R., Borowicz, P.P., Reynolds, L.P., Ward, A.K., Neville, B.W. & Caton, J.S. 2018. *J Anim Sci*. 96:950-963.
- Velazquez, M.A. 2015. *Domest Anim Endocrinol*. 51:27-45.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA RTA13-059-C02.

EFFECT OF PERI-IMPLANTACIONAL MATERNAL NUTRIENT RESTRICTION ON INTERFERON STIMULATED GENES (ISGs) IN SUCKLER BEEF DAMS. DECISION TREE ANALYSES AS A DIAGNOSTIC TOOL

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate ISG expression on Days 18 and 21 post-AI in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in suckler beef cows suffering nutrient restriction from days 1-82 post-AI, by using decision tree analyses. Suckler beef dams were submitted to fixed-time insemination and were assigned to a CONTROL (n = 23) or SUBNUT (n = 30) group, receiving 100% or 65%, respectively, of their estimated nutritional requirements from Day 1 to 82 post-AI. Expression patterns of ISGs were measured in PBMCs on days 18 and 21 post-AI. Decision tree analysis determined the best predictive combination of parameters (Fold changes in expression of *MX1*, *MX2*, *OAS1* and *ISG15* from day 18 to 21 post-AI) for predict pregnancy status on day 37. The combination of *OAS1* and *MX1* fold change where the thresholds that define pregnancy status (32 out the 35 pregnant cows accomplished the threshold). Treatment did not affect ISG expression nor fertility. These results indicate that maternal nutrient restriction during the first third of pregnancy did not impair embryo signalling although may increase the risk of pregnancy failure.

Keywords: Suckler cow, subnutrition, ISGs.

LA SUBNUTRICIÓN DURANTE EL PRIMER TERCIO DE GESTACIÓN DE LAS VACAS DISMINUYE LOS RENDIMIENTOS DE LA DESCENDENCIA EN LA LACTACIÓN

Noya, A., Casasús, I., Ferrer, J. y Sanz, A.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón - Instituto Agroalimentario de Aragón (CITA-IA2). Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. asanz@aragon.es

INTRODUCCIÓN

En la producción de vacuno de carne son frecuentes los períodos de subnutrición, debido a su extensificación y a la reducción en los costes de alimentación. Este balance energético negativo puede coincidir con las primeras etapas de la gestación, pudiendo desencadenar en la vaca y sobre todo en el ternero que se está gestando repercusiones a largo plazo, todavía poco estudiadas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la subnutrición durante el primer tercio de gestación sobre los rendimientos de la madre y de su futuro ternero durante la siguiente lactación en las razas Parda de Montaña (PA) y Pirenaica (PI).

MATERIAL Y MÉTODOS

Cincuenta y tres vacas PA y 32 PI multíparas criando a sus terneros fueron sincronizadas e inseminadas. A continuación, 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), y 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). Durante el resto del ensayo todos los animales se alimentaron con una dieta que cubría el 100% de sus necesidades. En la siguiente lactación (120 días) se registró la condición corporal de las vacas en el momento del parto (CCp), y quincenalmente el peso vivo (PV) de vacas y terneros, para estimar su ganancia media diaria (GMD). A día 23 posparto se estimó la producción lechera de las vacas mediante ordeño mecánico, estimulando la eyección de leche con oxitocina (Le Du et al., 1979) y se determinó el porcentaje de grasa y proteína mediante espectroscopía (Milkoscan 4000TM; Fosselectric Ltd., Hillerod, Dinamarca). A día 25 se estimó la cantidad de leche ingerida por los terneros mediante la técnica de la doble pesada (Doney et al., 1979). Durante la lactación se tomaron muestras de sangre de las vacas de forma bisemanal para determinar la duración del anestro posparto a partir de las concentraciones de progesterona (ELISA específico para bovino, Ridgeway Science, Lydney, Reino Unido). Se consideró el momento de inicio de actividad luteal cuando la progesterona fue ≥ 1.0 ng/mL (Álvarez-Rodríguez et al., 2010). Se tomaron muestras mensuales de sangre de los terneros para determinar la concentración plasmática del factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1), utilizando un ELISA con detección quimioluminiscente (Immulite, Siemens Medical Solutions Diagnostics Ltd., Llanberis, Reino Unido). Al finalizar la lactación se midió la alzada a la cruz y el perímetro torácico de los terneros para evaluar su crecimiento corporal. Los resultados se analizaron con el programa SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.) mediante un análisis de varianza con un modelo lineal generalizado con el tipo de alimentación materna (CONTROL vs. SUBNUT), la raza (PA vs. PI) y su interacción como efectos fijos, y la CCp como covariable. 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

El efecto de la subnutrición durante el primer tercio de gestación no se manifestó en el PV de las vacas en el parto, pero sí en la CCp, ya que las vacas del grupo CONTROL presentaron valores más altos que las del grupo SUBNUT (Tabla 1). En cuanto a la raza, las PI presentaron mayor CCp que las PA. Se observó una interacción significativa entre la alimentación y la raza en la GMD de vacas y terneros en lactación. Todos los grupos de vacas experimentaron pérdidas de PV, excepto el grupo SUBNUT-PI. La producción de leche no se vio afectada por el tipo de alimentación durante la gestación, pero sí por la raza, ya que las PA presentaron

valores más altos, en concordancia con estudios previos (Casasús et al., 2004). El contenido en grasa de la leche fue mayor en el grupo SUBNUT y en las vacas PI que en el grupo CONTROL y en las PA, respectivamente. La mayor movilización de ácidos grasos en el grupo SUBNUT favoreció su captación en la glándula mamaria, incrementando el porcentaje de grasa de la leche (Pulina et al., 2006). El retorno a la actividad luteal después del parto no se vio afectado por el tipo de alimentación, pero sí por la raza, ya que las PI iniciaron antes su actividad ovárica, debido probablemente a su mayor CCp (Sanz et al., 2003).

La alimentación materna durante la gestación no afectó al PV de los terneros al nacimiento. Si lo hizo la raza, siendo los terneros PA más pesados que los PI, acorde con estudios previos (Rodríguez-Sánchez et al., 2018). Al igual que en las madres, la GMD de los terneros se vio afectada por la interacción alimentación x raza, siendo los terneros SUBNUT-PI los que tuvieron menores crecimientos. La ingesta de leche al inicio de lactación fue mayor en el grupo CONTROL y en los terneros PA que en sus homólogos SUBNUT y PI. El método de la doble pesada del ternero mostró una correlación positiva moderada con la estimación de la producción de leche por ordeño mecánico ($r = 0,46$, $P = 0,001$). Al final de la lactación, los terneros CONTROL y los PA mostraron también un mayor desarrollo corporal, con valores más altos de alzada a la cruz y perímetro torácico que sus homólogos.

La CCp afectó a todos los parámetros analizados en el estudio, a excepción de la GMD en vacas y la alzada a la cruz en terneros. A su vez, la CCp estuvo condicionada por la alimentación a inicio de la gestación, hecho que destaca el papel a largo plazo de la alimentación materna en el periodo peri-implantacional tanto en las madres como en la descendencia, en línea con lo descrito por Fleming et al. (2012).

Tabla 1. Rendimientos de las vacas y los terneros durante la lactación, en función del tipo de alimentación materna y de la raza.

	Alimentación		Raza		Raíz MSE	Significación		
	CONTROL	SUBNUT	PA	PI		Alimentación	Raza	CCp
Vacas								
PV al parto (kg)	605	592	598	599	54,4	n.s.	n.s.	-
CCp	2,8 ^a	2,7 ^b	2,7 ^b	2,9 ^a	0,2	0,025	<0,001	-
GMD (kg/d)	-0,165	-0,096	-0,17	-0,09	0,2	n.s.	n.s.	n.s.
Producción de leche d 23 (kg/d)	9,5	8,7	9,9 ^a	8,3 ^b	2,1	n.s.	0,008	0,049
Grasa (%)	4,4 ^b	4,8 ^a	4,2 ^b	4,9 ^a	0,6	0,010	<0,001	0,016
Proteína (%)	3,6	3,7	3,6	3,7	0,3	n.s.	n.s.	0,030
Duración APP (d)	40	46	49 ^a	38 ^b	0,2	n.s.	0,035	<0,001
Terneros								
PV al nacimiento (kg)	42	42	45 ^a	39 ^b	6,2	n.s.	<0,001	0,036
GMD (kg/d)	0,834 ^a	0,732 ^b	0,800	0,766	0,2	0,011	n.s.	0,009
Ingesta de leche d 25 (kg/d)	8,8 ^a	7,8 ^b	9,2 ^a	7,4 ^b	1,5	0,013	<0,001	0,019
Alzada a la cruz d 120 (cm)	94 ^a	93 ^b	95 ^a	92 ^b	3,2	0,047	<0,001	n.s.
Perímetro torácico d 120 (cm)	119 ^a	115 ^b	118 ^a	115 ^b	5,5	0,005	0,020	0,002
Interacción de Raza x Alimentación en:								
	CONTROL-PA	SUBNUT-PA	CONTROL-PI	SUBNUT-PI		P valor		
GMD vacas (kg/d)	-0,151 ^b	-0,188 ^b	-0,179 ^b	-0,004 ^a		0,0136		
GMD terneros (kg/d)	0,807 ^a	0,792 ^a	0,860 ^a	0,672 ^b		0,0417		

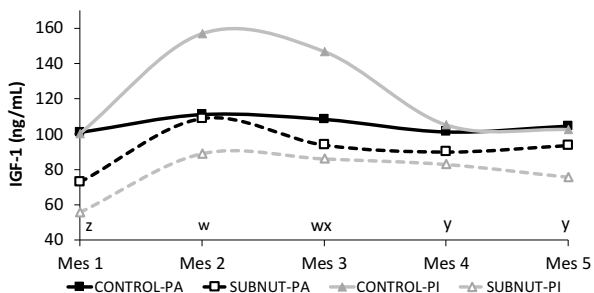
n.s.: no significativo; ^{a,b}: diferencias entre medias $P < 0,05$

CONTROL: animales alimentados durante el 1^{er} tercio de gestación con el 100% de sus necesidades energéticas; SUBNUT: animales alimentados con el 65% de sus necesidades energéticas; MSE: error cuadrático medio; PA: parda; PI: pirenaica; PV: peso vivo; CCp: condición corporal al parto; GMD: ganancia media diaria; APP: anestro posparto

Los valores plasmáticos medios de IGF-1 de los terneros fueron aumentando a lo largo de la lactación (Figura 1), aunque se produjo una interacción entre el tipo de alimentación y la raza ($P = 0,034$). Mientras que no hubo diferencias entre los subgrupos de los terneros PA, los CONTROL-PI presentaron valores medios superiores a los SUBNUT-PI ($P < 0,001$). El

sistema de regulación fisiológica de la IGF-1 en los terneros SUBNUT-PI podría haberse alterado a consecuencia de una reprogramación fetal para hacer frente a la subnutrición gestacional (Gallagher et al., 1998).

Figura 1. Concentración plasmática de IGF-1 en terneros durante la lactación, en función del tipo de alimentación materna y la raza (w, x, y, z: diferencias entre valores medios mensuales, $P < 0,05$).



Concluyendo, el efecto de la subnutrición durante el primer tercio de la gestación tuvo consecuencias a largo plazo, observándose una disminución en la CC de las vacas al parto, hecho que indirectamente también afectó a otros parámetros, tanto en las madres como en la descendencia. La subnutrición materna afectó directamente a los rendimientos de los terneros que se estaban gestando, mostrando los terneros PI una mayor sensibilidad a la subnutrición gestacional, con menores crecimientos y menores niveles plasmáticos de IGF-I durante la lactación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Rodríguez, J. et al., 2010. *Livest. Sci.* 129, 111-121
- Casasús, I. et al., 2004. *Livest. Prod. Sci.* 89, 195-207
- Doney, J. et al., 1979. *J. Agric. Sci.* 92, 123-132
- Fleming, T. et al., 2012. *Anim. Reprod. Sci.* 130, 193-197
- Gallagher, B. et al., 1998. *J. Endocrinol.* 159, 501-508
- Le Du, Y. et al., 1979. *Livest. Prod. Sci.* 6, 277-281
- Pulina, G. et al., 2006. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 255-291
- Rodríguez-Sánchez, J. et al., 2018. *Domest. Anim. Endocrinol.* 65, 24-37
- Sanz A. et al., 2003. *Span. J. Agric. Res.* 1, 7-21.

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 A14_17R).

MATERNAL SUBNUTRITION DURING THE FIRST THIRD OF GESTATION DECREASES THE OFFSPRING PERFORMANCES DURING THE LACTATION

ABSTRACT: Subnutrition periods can occur in beef cattle farming systems. A negative energy balance in early pregnancy could affect the foetal development, with negative implications for the future calf. This study analysed the effects of subnutrition during the first third of gestation on cow-calf performance at the next lactation. Fifty-three Parda de Montaña and 32 Pirenaica cows were inseminated and allocated to a control (CONTROL) or nutrient-restricted (SUBNUT) group, fed at 100 or 65% of their energy requirements during the first 82 days of pregnancy and 100% thereafter. Average daily gain (ADG) was calculated in dams and calves during lactation. Body condition score (BCS) at parturition, milk yield and postpartum anoestrus length were analysed in dams. In calves, milk intake, morphometric measurements and IGF-1 concentration were recorded. Subnutrition in early pregnancy diminished dam BCS at parturition, which affected most of the cow-calf traits during lactation. SUBNUT calves had lower body growth rates at weaning. Breed differences became evident, as Pirenaica calves showed more susceptibility to maternal subnutrition with lower ADG and IGF-1 concentrations. In conclusion, maternal nutrition in early gestation played an important role in a long term in dam BCS at calving and in the future calf development.

Keywords: maternal subnutrition, IGF-1, average daily gain, calf performance

EFFECTO DEL TIPO DE CIDR Y DE LA ADMINISTRACIÓN DE eCG SOBRE EL DESARROLLO FOLICULAR, EL CELO Y LA FERTILIDAD EN NOVILLAS HOLSTEIN SOMETIDAS A UN PROTOCOLO MODIFICADO DE 5 DÍAS BASADO EN GnRH

Sanz^{1,2}, A., Gobikrushanth¹, M., Colazo¹, M.G.

¹Livestock Systems Section, Alberta Agriculture and Forestry, Edmonton, Alberta, Canada;

²CITA de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50193 Zaragoza, España. asanz@aragon.es

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el protocolo de sincronización ovárica más comúnmente usado en vacas es de 7 días y se basa en el uso de GnRH combinada con prostaglandina F_{2α} (PGF). En los últimos años, se han estudiado ajustes al protocolo clásico de 7 días, para tratar de unificar y mejorar los resultados de preñez en novillas; por ejemplo, añadir un CIDR para evitar ovulaciones tempranas (Martínez et al., 2002), o disminuir de 7 a 5 días el tratamiento con CIDR y extender el intervalo desde la retirada del CIDR a la inseminación artificial (Colazo y Ambrose, 2011). Además, ha cobrado importancia el uso de la gonadotropina coriónica equina (eCG o PMSG), en protocolos de sincronización con inseminación a tiempo fijo (IATF). Se ha reportado que la eCG, a través de su acción de FSH y LH, aumenta el tamaño del folículo preovulatorio y mejora los porcentajes de preñez a la IATF (Baruselli et al., 2004). En un estudio reciente, la incorporación de eCG en protocolos cortos de sincronización en novillas de carne aumentó la tasa de estro en un 7%, con una mejora significativa de la tasa de preñez a la IATF en dos explotaciones, pero no en una tercera (Revisado en Sanz et al., 2019).

Por otro lado, dispositivos con diferente contenido de progesterona también podrían afectar el crecimiento folicular y la fertilidad, a través del efecto inhibitorio de la progesterona sobre la LH (Colazo et al., 2004). Sin embargo, no hay estudios que se hayan centrado en el uso de la eCG en protocolos cortos de sincronización de celo en novillas, aplicando dispositivos con diferente contenido de progesterona. Por lo tanto, en este ensayo se pretendían comprobar dos hipótesis: (1) el uso de CIDRs nuevos disminuye el crecimiento del folículo preovulatorio, el porcentaje de animales en celo y la tasa de preñez; y (2) la administración de eCG a la retirada del CIDR aumenta el crecimiento del folículo preovulatorio, el porcentaje de animales en celo y la tasa de preñez. El objetivo de este ensayo fue comparar el desarrollo folicular ovárico, la expresión de celo y la tasa de fertilidad en novillas Holstein que recibieron un CIDR nuevo o usado durante 5 días, con o sin 300 UI de eCG a la retirada del CIDR.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para ello, se realizó un ensayo con un diseño experimental de 2x2 con 133 novillas Holstein de 13 a 15 meses de edad en la explotación comercial Breevliet Ltd. (<http://breevliet.com/>) ubicada en Wetaskiwin (Alberta, Canadá). Las novillas recibieron 17 kg MF/día de una ración mixta, a base de heno de hierba (7,44%), ensilado de hierba (17,85%), ensilado de cebada (47,58%), bagazo de cerveza (17,85%), cebada (5,95%), paja de cebada (2,97%), correctores, vitaminas y minerales (0,36); con una composición química de 45% MS, 15,2% PB, ADF 30,4%, NDF 42,7%, EN 1,36 Mcal/kg. En el día 0 del ensayo se colocó un dispositivo de progesterona nuevo o usado (CIDR; Zoetis Animal Health, Canada) (Figura 1). En el día 5 se retiró el CIDR, se administró una dosis de PGF (Estroplan; Vetoquinol NA Inc., Canadá), y se colocaron parches de detección de estro (Estroprotect™; Rockway Inc., Spring Valley, WI, EEUU) entre la cadera y la cola de las novillas; además, la mitad de las novillas recibieron 300 UI de eCG (Pregnenol; Vetoquinol NA Inc., Canada). Se realizó la detección de estro 2 veces al día (mañana y noche) durante 84 horas después de la retirada del CIDR. Las novillas con un parche activado se inseminaron aproximadamente 12 h después de la observación. Todas las novillas que a las 84 horas no habían exhibido celo recibieron una dosis de GnRH (Fertiline; Vetoquinol NA Inc., Canada) y se inseminaron a tiempo fijo. Todas las novillas fueron inseminadas por el mismo técnico con semen congelado y descongelado, sexado o convencional de uno de los cuatro toros disponibles comercialmente (Alta Genetics Canadá, <http://map.altagenetics.com/>). Se realizaron ecografías de los ovarios en 71 novillas en el

momento de la inserción y retirada del CIDR, en el momento de la IA y cada 12 horas tras la IA, para determinar la dinámica ovárica (número, ubicación y tamaño de los folículos y cuerpos lúteos presentes en el ovario) y examinar los efectos de los protocolos de sincronización aplicados sobre el crecimiento folicular, la ovulación, el desarrollo y función del cuerpo lúteo. Se realizó un diagnóstico de gestación por ecografía 28 días después de la IA.

Se realizó un análisis estadístico de los resultados del ensayo con el programa JMP (versión 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.). El diámetro del folículo preovulatorio a la retirada del CIDR y en el momento de la IA, el crecimiento del folículo preovulatorio y el intervalo desde la retirada del CIDR a la detección de celo se analizaron con el procedimiento MIXED, considerando como efectos fijos el tipo de CIDR (nuevo vs. usado), la inclusión de eCG (con vs. sin) y sus interacciones. Las tasas de celo, ovulación y preñez se analizaron con el procedimiento GLIMMIX, con los mismos efectos fijos que en el análisis anterior. En el caso de la tasa de preñez, también se incluyó el efecto del tipo de semen (convencional vs. sexado). Los valores están expresados como las medias de mínimos cuadrados.

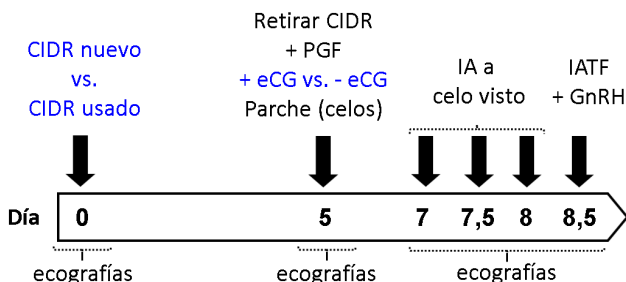


Figura 1. Protocolos de sincronización aplicados a las novillas en el ensayo realizado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del ensayo se resumen en la Tabla 1. Ninguna de las interacciones analizadas fue significativa. Con relación al estudio de la dinámica folicular ovárica en las novillas Holstein, el diámetro del folículo preovulatorio a la retirada del CIDR no se vio afectado por el tipo de CIDR usado o por la administración de eCG. Sin embargo, las vacas que recibieron un CIDR usado tendieron a tener un mayor diámetro del folículo preovulatorio en el momento de la IA ($P = 0,08$). La inclusión de eCG no afectó al tamaño del folículo preovulatorio en el momento de la IA. La velocidad de crecimiento del folículo preovulatorio de las novillas no se vio afectada por el tipo de CIDR usado o por la inclusión de eCG en el protocolo de sincronización. La tasa de expresión de celo de las novillas fue similar en los cuatro lotes del ensayo (85,3%), independientemente de los tratamientos del ensayo, en línea con lo descrito en otros trabajos (Colazo et al., 2018). El intervalo de tiempo que transcurrió desde la retirada del CIDR hasta la detección de celo en las novillas tampoco se vio influido por el tipo de CIDR usado o por la administración de eCG en el protocolo de sincronización. La tasa de ovulación obtenida en el ensayo fue del 95,5% (127/133), similar en todos los tratamientos.

La tasa de preñez global del ensayo fue de 53,4% (71/133). El tipo de CIDR tuvo un efecto significativo sobre la tasa de preñez, que fue un 26% mayor en las novillas que recibieron un CIDR nuevo, en contra de la hipótesis de partida del ensayo. En este ensayo fue 2,88 veces más probable que se quedaran preñadas las novillas que recibieron un CIDR nuevo frente a las tratadas con un CIDR usado, que pudo deberse al hecho de que en un ambiente de progesterona baja un folículo en crecimiento puede tender a convertirse en un folículo persistente. Además, si la progesterona es baja, aumentará la pulsatilidad de LH, pudiendo desencadenar una premaduración del oocito e incapacidad para desarrollarse.

La inclusión de eCG no mejoró la tasa de preñez, en línea con lo descrito por Small et al. (2010) en novillas de carne. Estos autores justificaron la ausencia de efecto de la eCG sobre la fertilidad debido a que la mayoría de animales presentaban folículos preovulatorios con un diámetro ≥ 10 mm en el momento de la IA, por lo que no tendrían comprometida la fertilidad. Estos resultados confirman que la eCG sería efectiva únicamente en animales que están

comprometidos metabólicamente. El tipo de semen tampoco mostró efecto sobre la tasa de preñez obtenida ($53,2 \pm 0,1$ vs. $57,1 \pm 0,1$ %, para semen convencional y sexado).

A la vista de estos resultados, no se han podido confirmar las dos hipótesis de trabajo. Al contrario, (1) el uso de CIDRs nuevos mejoró un 26% la tasa de preñez de las novillas frente a los CIDRs usados; y (2) la administración de eCG a la retirada del CIDR no tuvo ningún efecto sobre el crecimiento del folículo preovulatorio, la expresión de celo o la tasa de preñez, en novillas sometidas a un protocolo de 5 días acompañado de un CIDR.

Tabla 1. *Parámetros reproductivos (media \pm e.e.) en novillas sometidas a un protocolo de sincronización de 5 días modificado, en función del tipo de CIDR y de la inclusión de eCG.*

	CIDR		eCG		P ¹	
	nuevo	usado	con	sin	CIDR	eCG
Diámetro FP ² a la retirada CIDR (mm)	11,5 \pm 0,5	12,5 \pm 0,5	11,5 \pm 0,5	12,5 \pm 0,5	NS	NS
Diámetro FP a la IA (mm)	14,8 \pm 0,3	15,5 \pm 0,3	15,3 \pm 0,3	15,0 \pm 0,3	= 0,08	NS
Velocidad crecimiento FP (mm/día)	1,17 \pm 0,12	1,14 \pm 0,11	1,13 \pm 0,11	1,06 \pm 0,12	NS	NS
Intervalo retirada CIDR - celo (horas)	62,6 \pm 2,3	65,0 \pm 2,0	64,2 \pm 2,2	63,4 \pm 2,1	NS	NS
Tasa de celo (%)	86,4 \pm 0,1	84,3 \pm 0,0	82,6 \pm 0,1	87,8 \pm 0,0	NS	NS
Tasa de preñez (%)	67,2 \pm 0,1	41,6 \pm 0,1	51,2 \pm 0,1	58,1 \pm 0,1	= 0,005	NS

¹ Los valores P indican una diferencia significativa ($< 0,05$), una tendencia a la diferencia ($0,05 < P < 0,10$) o ninguna diferencia (NS). ² FP: folículo preovulatorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Baruselli, P.S. et al., 2004. Anim. Reprod. Sci. 82-83: 479-486. • Colazo, M.G. et al., 2004. Anim. Reprod. Sci. 81: 25-34. • Colazo M.G. y Ambrose D.J., 2011. Theriogenology 76: 578-588. • Colazo, M.G. et al., 2018. Theriogenology 118: 90-95 • Martínez, M.F. et al., 2002. Theriogenology 57: 1049-1059. • Sanz, A. et al., En prensa. Revista ITEA-Inf. Tec. Econ. Agrar. 115. • Small, J.A. et al., 2010. Canadian J. Anim. Sci. 90: 23-34.

Agradecimientos: Los autores agradecen el apoyo de Alberta Agriculture and Forestry (Canadá), Vetoquinol N.-A Inc. (Canadá) por la eCG y a Breevliet Ltd. (Canadá). A. Sanz (Grupo de investigación del Gobierno de Aragón A14_17R) recibió una Subvención para Estancias de movilidad del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (PRX18/00097).

EFFECT OF TYPE OF CIDR AND eCG ADMINISTRATION ON FOLLICLE DEVELOPMENT, ESTRUS ACTIVITY AND FERTILITY IN HOLSTEIN HEIFERS SUBJECTED TO A MODIFIED 5-D GnRH-BASED PROTOCOL

ABSTRACT: It was compared follicle development, estrus expression and fertility in 133 Holstein heifers (13-15 months) given new or used CIDR (d0) for 5 days, with or without 300 IU eCG at CIDR removal (d5; 2x2 factorial design). On d5, heifers also received 500ug cloprostenol, and an estrus detection patch (Estrotect™). Heifers with activated patch were inseminated 12h after. All heifers failing to exhibit estrus by 84h after CIDR removal received 100ug GnRH and were TAI. Ovarian ultrasonography was performed at CIDR insertion and removal, at AI, every 12h after AI and 28d after AI. Preovulatory follicle diameter at AI tended to be greater for heifers given a used CIDR (15.5 vs. 14.8 mm, $P=0.08$). Incidence of estrus, ovulation and interval from CIDR removal to estrus were not affected by CIDR type nor eCG administration. Overall, estrus and pregnancy rates were 85.3 and 53.4%. Pregnancy rate was not affected by neither semen type nor eCG administration, but it was greater in heifers with new CIDR (67.2 vs. 41.6%, $P=0.005$). In conclusion, heifers given new CIDR tended to have smaller preovulatory follicles and 2.88 greater odds of becoming pregnant than those given used CIDR but none of the parameters measured were affected by eCG administration.

Keywords: Dairy, ovarian synchronization program, timed artificial insemination.

Removed article

This article was not presented at the Congress

Artículo eliminado

Este artículo no fue presentado a las Jornadas

EFFECTO DE LA DOSIS DE eCG SOBRE LA RESPUESTA REPRODUCTIVA DE OVEJAS DE RAZA RASA ARAGONESA EN PRIMAVERA

Macías¹, A., Fuertes², A., Laviña¹, A., Martín¹, E., Abecia³, J.A., Monteagudo^{4,5}, L.V., Tejedor⁴, M.T.

¹Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de la Raza "Rasa Aragonesa". (ANGRA). Cabañera Real s/n. 50800 ZUERA (ZARAGOZA).

²A.D.S. ovino Maestrazgo Javalambre. C/Teruel 1. 44460 Sarrión (TERUEL).

³IUCA. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177. 50013 ZARAGOZA

⁴Departamento de Anatomía, Embriología y Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177. 50013 ZARAGOZA.

⁵IA2. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177. 50013 ZARAGOZA

Email: angel@rasaaragonesa.com

INTRODUCCION

Las ovejas son animales poliéstricos estacionales dependientes de la región donde se localizan. La "Rasa Aragonesa" es una raza ovina autóctona situada en el noreste de España. Se caracteriza por ser una raza rústica de aptitud cárnica, con un descenso de su actividad sexual en primavera (meses de marzo a mayo con fertilidad natural entre el 30 y el 75%) alcanzando en otoño su máximo (Sierra, 2002). Por este motivo se deben implementar tratamientos de control del ciclo estral durante los meses de primavera de modo que la producción de cordero ocurra los meses de otoño e invierno que es la época de mayor demanda y valor de este producto. El protocolo de inducción de celos más habitual consiste en la utilización de esponjas intravaginales impregnadas de progestágenos sintéticos y una inyección de gonadotropina coriónica equina (eCG) en el momento de su retirada. La respuesta a este tratamiento depende de muchos factores y la dosis de eCG adecuada debe de ser evaluada de acuerdo a cada sistema en particular (Abecia y Forcada, 2010).

La Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de la raza Rasa Aragonesa (ANGRA) desarrolla desde el año 1989 un programa de mejora genética basado en la herencia poligénica cuyo objetivo de selección es la prolificidad. Además en el año 2007 se identificó en esta raza FecX^R (Monteagudo et al., 2009), una variante del gen ovino BMP15 denominada comercialmente Gen ANGRA Santa Eulalia que produce alta prolificidad en las hembras que lo portan (Laviña et al., 2009). Estas ovejas presentan tasas de ovulación elevadas y se hace imprescindible ajustar las dosis de eCG utilizada ya que, de ser demasiado bajas no producirían ningún efecto, pero si fueran muy altas podrían producir sobrestimulación ovárica y por tanto partos múltiples perjudiciales para la viabilidad de los corderos. El presente trabajo pretende evaluar, en condiciones de campo, el comportamiento reproductivo en primavera de las ovejas de esta raza en función de la dosis utilizada de eCG, incluyendo tanto ovejas portadoras como no portadoras de FecX^R.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo durante la primavera de 2018 en la explotación Pérez Ballesteros S.C. en la localidad turolense de Arcos de las Salinas (39° 59' 28" N, 1° 2' 32" O). Se utilizaron ovejas de raza Rasa Aragonesa inscritas en el libro genealógico gestionado por ANGRA con una condición corporal media de 3 (Russel et al., 1969) y que no habían tenido contacto con machos desde el parto anterior ocurrido en diciembre. Durante el día salieron a pasto alimentándose de forrajes de calidad (avena y centeno) y fueron suplementadas con 1 kg de pienso compuesto y pulpa de naranja. El agua y los bloques minerales se dispusieron ad libitum. El tratamiento de sincronización de celos se realizó mediante la aplicación de esponjas vaginales (SYNCROPART 30 mg, Ceva Salud Animal, Barcelona, España) impregnadas con acetato de flugestona durante 12 días y diferentes dosis de eCG (SYNCROPART PMSG 6000 UI, Ceva Salud Animal, Barcelona, España) dependiendo del grupo de estudio, vía intramuscular en el momento de la retirada de la esponja. Las ovejas se han dividido para su estudio en 5 grupos: grupo de ovejas sin tratamiento (O.S.T) (n=273; grupo con dosis de eCG de 240 U.I. (240 U.I.) (n=131); grupo con dosis de eCG de 360 U.I. (360 U.I.) (n=130); grupo con dosis de eCG de 480 U.I. (480 U.I. IA) (n=73) y grupo de ovejas portadoras del gen FecX^R, sin ningún tipo de tratamiento (GEN) (n=62). Todos los grupos excepto 480 U.I. IA fueron

cubiertas por el plantel de machos de la explotación compuesto por 42 machos y el grupo 480 U.I. IA fueron inseminadas según el protocolo habitual de ANGRA (Macías et al, 2017). Los datos de la inseminación fueron recogidos en listados específicos y los partos resultantes registrados en la ganadería mediante el control de producciones. Para el estudio estadístico se usó el programa IBM® SPSS® statistics (versión 22). Para la comparación de fertilidad (porcentaje de ovejas que llegan al parto) y prolificidad (porcentajes de partos sencillos, dobles y múltiples) entre grupos se ha utilizado el test χ^2 de Pearson; en caso de resultado significativo, se ha aplicado la corrección de Bonferroni a las comparaciones múltiples. Se ha aplicado la regresión logística al análisis de factores que afectan la fertilidad; como tales se han considerado el grupo de tratamiento, el grupo de prolificidad, la edad, el intervalo entre partos y el número de parto. El grupo de prolificidad se basa en la media de la prolificidad de ANGRA en su última evaluación genética (1,34 corderos/parto) y en la media de prolificidad de la propia explotación en los dos últimos años (1,68 corderos /parto); si la prolificidad histórica de la oveja es menor que la media de ANGRA, su valor es 0; si está comprendida entre la media de ANGRA y la de la explotación, el valor es 1 y si supera la media de la explotación, su valor es 2. Para el análisis de los factores que afectan a la prolificidad (número de corderos nacidos en el parto) se ha aplicado un ANOVA que considera como factores fijos el grupo de tratamiento y el grupo de prolificidad, y como covariables la edad, el intervalo entre partos y el número de parto. En este análisis no se incluyen las ovejas del gen.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1. En cuanto a fertilidad, se detectan diferencias significativas entre los grupos, aunque el valor de p obtenido está muy próximo a 0,05 (χ^2 Pearson = 9,542*; $p=0.049$); por esta razón, las comparaciones múltiples no han detectado diferencias significativas entre los grupos. Los resultados no son concluyentes y sería necesario incrementar el efectivo de los grupos sometidos a tratamiento hormonal para alcanzar conclusiones definitivas. En prolificidad, se detectan diferencias altamente significativas entre los grupos (χ^2 Pearson =77,502**; $p<0,001$). La frecuencia de partos simples es significativamente más alta en O.S.T., 240 y 360 U.I. que en GEN y el grupo 480 U.I. IA no muestra diferencias significativas con ninguno de los otros grupos. En cuanto a partos múltiples (triples o cuádruples), la frecuencia en GEN es significativamente más alta que en el resto de los grupos. La frecuencia de partos múltiples es significativamente mayor en 480 IA que en O.S.T. Los grupos 240 y 360 no muestran diferencias entre ellos ni con O.S.T. ó 480 IA. Estos resultados sugieren que el tratamiento con 240 U.I. es tan efectivo respecto a la fertilidad como los tratamientos con dosis superiores de eCG y respecto a la prolificidad mantiene buenas proporciones tanto de partos simples como dobles y admisibles de partos múltiples. Las ovejas portadoras de FecX^R, sin ser tratadas hormonalmente, presentan fertilidades propias del periodo de actividad sexual y elevada proporción de partos múltiples que puede complicar la viabilidad de los corderos. La regresión logística solo detecta un efecto significativo de la edad sobre la fertilidad; al aumentar la edad, la fertilidad disminuye ($p<0,001$; OR=0,838; 95%IC: 0,768-0,914). En principio, influye más en la fertilidad la edad de la oveja que el tratamiento hormonal al que se somete. El ANOVA muestra sólo un efecto significativo sobre la prolificidad; el del grupo de prolificidad ($p=0,007$; $\eta^2=2,6\%$). En principio, el comportamiento histórico de la hembra influye más sobre la prolificidad del parto actual que el tratamiento hormonal realizado. Sin embargo, dado que se trabaja con un reducido número de animales, los resultados de la regresión logística y del ANOVA indican simplemente tendencias o líneas de investigación que deberán explorarse adecuadamente en el futuro.

Tabla 1. Resultados de fertilidad y prolificidad en cada grupo analizado. Cada letra del subíndice denota un subconjunto de categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

	O.S.T.	240 U.I.	360 U.I.	480 U.I. I.A.	GEN	
Fertilidad	217/273 (79,5%) ^a	114/131 (87,0%) ^a	116/130 (89,2%) ^a	64/73 (87,7%) ^a	55/62 (88,7%) ^a	0
Prolificidad:						<0
Proporción partos simples	87/217 (40,1%) ^a	47/114 (41,2%) ^a	42/116 (36,2%) ^a	17/63 (27,0%) ^{a, b}	7/55 (12,7%) ^b	
Proporción partos dobles	121/217 (55,8%) ^a	57/114 (50,0%) ^a	64/116 (55,2%) ^a	36/63 (57.1) ^a	24/55 (43,6%) ^a	
Proporción partos múltiples	9/217 (4,1%) ^a	10/114 (8,8%) ^{a, b}	10/116 (8,6%) ^{a, b}	10/63 (15,9%) ^b	24/55 (43,6%) ^c	

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abecia MA, Forcada MF. 2010. Manejo reproductivo en ganado ovino. Servet. 81-84.
- Laviña, A. et al. 2009 XIII Jornadas sobre Producción Animal de AIDA
- Macías, A et al. (2017). J. Anim. Sci. 95. doi: 10.2527/jas2017.1951.
- Monteagudo, LV et al. (2009). Ani. Repro. Sci. 110: 139-146.
doi: 10.1016/j.anireprosci.2008.01.005.
- Russel, A.J.F. et al. (1969). The Journal of Agricultural Science, 72, 451-454.
doi: 10.1017/S0021859600024874
- Sierra, I. 2002. Razas aragonesas de ganado. Gobierno de Aragón. 31 p.

Agradecimientos: Los autores quieren agradecer a la familia Pérez Ballestero su colaboración en la realización de este trabajo.

EFFECT OF eCG DOSES ON THE SPRING REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF RASA ARAGONESA EWES

The spring reproductive performance of Rasa Aragonesa ewes was assessed in field conditions. Four eCG dose groups were analyzed: ewes with no hormonal treatment (O.S.T.); 240 U.I. dose (240 U.I.); 360 U.I. dose (360 U.I) and ewes receiving 480 U.I. submitted to artificial insemination (480U.I.A.I.). High prolificacy ewes, carrying FecX^R variant (GEN), were also studied; they did not received any hormonal treatment. GEN ewes showed spring sexual activity and high frequency of multiple births (43.6%). Fertility ranged 79.5% (O.S.T.) to 89.2% (360 U.I.); significant differences were found among groups, but the obtained p-value was very near 0.050 (p=0.049). Therefore, the multiple comparisons with Bonferroni correction did not find significant differences. To reach definitive conclusions, increasing sample size for hormonal treatment groups will be necessary. Single births frequencies for O.S.T. (40.1%), 240 U.I. (41.2%) and 360 U.I. (36.2%) groups were significantly greater (p<0.001) than for GEN (12.7%). Only 8.8% multiple births were obtained with 240 U.I. dose. Logistic regression only showed the age effect on fertility (p<0.001; OR= 0.838 95%IC: 0.768-0.914). ANOVA only detected the effect of ewe's prolificacy historical on prolificacy (p=0.007; eta²=2.6%). Age and prolificity historical would be more important factors for fertility/ prolificacy than the hormonal treatment.

Keywords: Rasa Aragonesa, eCG dose, reproductive performance, higher prolificacy.

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN CERDAS NULÍPARAS TRAS LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL POSCERVICAL

Suárez¹, A., Coll, J³ Mitjana, O¹, Tejedor, T², y Falceto, M.V.¹

¹Departamento de Patología Animal, Área de Reproducción y Obstetricia, ²Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza, España; ³Granja Coll, Fonz, Huesca, España
mvzandressuarez@gmail.com

INTRODUCCIÓN

A finales de los años 90, se probaron nuevos catéteres de inseminación artificial porcina y se desarrolló la técnica de inseminación intrauterina poscervical (PCAI) que deposita el semen en el cuerpo uterino (Kirkwood y Kauffold, 2015). Su objetivo principal es mejorar la eficiencia genética de los verracos reduciendo la concentración espermática de las dosis seminales ($1.5 \cdot 10^9$ espermatozoides) sin afectar la productividad de las cerdas inseminadas (Roca *et al.*, 2011). Además, durante la PCAI no se requiere la presencia del macho, se disminuye tiempo de la inseminación y el reflujo posinseminación (Ternus, 2017).

El primer trabajo de campo publicado usando la PCAI fue llevado a cabo por Watson y Behan (2002) en cerdas múltiparas, obteniendo resultados similares a la inseminación cervical (CAI). Sin embargo, todavía existen pocos estudios en las hembras nulíparas que respalden las conclusiones sobre esta técnica. El menor tamaño del tracto reproductivo y la necesidad de formación especializada del personal que realiza las inseminaciones son los factores limitantes más importantes del uso del PCAI en las cerdas jóvenes. El objetivo principal de este estudio fue comparar las técnicas CAI y PCAI y su efecto en los parámetros reproductivos obtenidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento fue realizado de acuerdo con los preceptos del bienestar animal del Comité de Ética en Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza, protocolo n° PI31/18.

El experimento se llevó a cabo durante los meses de marzo a julio, en una granja de cerdas de cría (n=1900) ubicada alrededor de Fonz (Huesca, España). Se utilizaron 109 nulíparas (Naima line®; Choice genetics, España), con una edad de 255-270 días, 150 ± 5 Kg de peso y 2 celos detectados previamente. Las cerdas fueron distribuidas aleatoriamente cada semana en ambos grupos. La tabla 1 muestra la distribución de los grupos poscervical (n=57) y grupo cervical (n=52).

Las cerdas nulíparas se alojaron en corrales de 0,65x2 m y se alimentaron con 2-2.5 kg de una dieta comercial dos veces al día durante las primeras 6 semanas. Posteriormente fueron sincronizadas con altrenogest durante 18 días. Además 10 días antes de las inseminaciones se realizó un *flushing* alimentario de 2,5 kg. Tras confirmar la preñez se disminuyó la ración a 2,3 kg. Posteriormente se incrementó en 0,2 kg desde los 90 días de gestación hasta el parto. El semen se obtuvo una vez a la semana de 7 verracos Pietrain (UPB®; Semen Cardona; España), utilizando la técnica de la mano enguantada. La concentración espermática se evaluó en una cámara de Burkert® (Brand, Alemania). Se analizó la motilidad, aglutinación y anomalías espermáticas mediante el programa ISAS Psus® (Proiser, España). Solo se utilizaron eyaculados que cumplieran con los requisitos mínimos de calidad seminal (porcentaje de motilidad espermática mayor del 80% y de morfoanomalías menor del 25%).

Después de la evaluación, cada eyaculado se diluyó a 37°C (Vitasem®, Magapor, España) y el semen se almacenó a 15-18°C en bolsas con una concentración de $1,5 \cdot 10^9$ espermatozoides/45 ml (PCAI) o $3 \cdot 10^9$ espermatozoides/90 ml (CAI) para cada dosis.

La detección del estro se realizó dos veces al día usando la técnica de identificación del reflejo de inmovilidad de la cerda ante el verraco y ante la presión lumbar. Las cerdas que mostraron signos de estro se inseminaron en el momento de la detección y se inseminaron de nuevo con un intervalo de 12 horas hasta la finalización del estro. El grupo CAI se inseminó en presencia del verraco y el semen se depositó en la porción craneal del cuello uterino, utilizando el catéter cervical con punta de espuma para nulíparas (Magapor, España). Las nulíparas del grupo PCAI se inseminaron sin la presencia del verraco y el semen se depositó en el cuerpo del útero utilizando el catéter cervical con punta de espuma como guía y la sonda poscervical (Magaplus N®, Magapor, España). Las nulíparas que no permitieron el paso de la sonda se inseminaron con la técnica CAI y se anotaron como un subgrupo, llamado "Mixto" y

excluyéndoles del experimento. Además, se registro la aparición de problemas (sangrado y/o reflujo) durante las inseminaciones y la presencia posterior de metritis.

La preñez se confirmó mediante ecografía transabdominal (Future-1®, Inerbo, España) a los 28 días posinseminación. Los parámetros reproductivos se recolectaron para nulíparas inseminadas en los grupos PCAI y Mixto y se compararon con los obtenidas para CAI como grupo control. Se registró también la aparición de problemas como repetición de celo, aborto, muerte o sacrificio.

El análisis se realizó utilizando SPPSS v.22. La tasa de fertilidad y los problemas observados se analizaron mediante tablas cruzadas y los datos de porcentaje se compararon utilizando la prueba de χ^2 de Pearson. Los datos de prolificidad (lechones nacidos: totales, vivos, muertos y momificados) fueron analizados por ANOVA de una vía. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con una $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra que la tasa de éxito de la PCAI de penetración hasta el cuerpo del útero fue del 92,07%. Este porcentaje es alto, considerado como normal un 95% de éxito en multiparas, 85% en primiparas y 75% en nulíparas (Bortolozzo *et al.*, 2015). Aunque, contradicen la recomendación de Dallanora *et al.* (2004) de no usar el PCAI en nulíparas, nuestros resultados corroboran las investigaciones de Ternus (2017), que concluyen que el PCAI puede realizarse PCAI con éxito en nulíparas. En el resto de las inseminaciones del grupo de PCAI (13 de 164) el catéter no pudo llegar hasta el cuerpo del útero y fueron inseminadas por CAI (grupo "Mixto").

En 11 casos de las 303 inseminaciones, se encontró reflujo seminal (Tabla 1) y no hubo diferencias estadísticas entre los grupos ($P > 0,05$). Hernández-Caravaca *et al.*, (2017) informaron resultados similares en multiparas y nulíparas. Aunque el reflujo se debe a muchos factores, una aplicación incorrecta de la sonda de inseminación o la torsión de la sonda suele ser la causa más frecuente (Ausejo *et al.*, 2017).

En la tabla 1, no se observan diferencias significativas entre los grupos PCAI y CAI con respecto a la fertilidad ($P > 0,05$). Tampoco hubo diferencias significativas de la tasa de partos ($P > 0,05$). Del mismo modo, no se observan diferencias estadísticas en los parámetros de prolificidad ($P > 0,05$). Los resultados de los parámetros reproductivos corroboran las investigaciones de Ternus (2017), demostrando que no existen diferencias estadísticas para la fertilidad y la tasa de partos en los grupos CAI y PCAI, así mismo, sobre los parámetros de prolificidad. Resultados similares obtenidos por Sbardella *et al.* (2014), utilizando primíparas. En conclusión, la inseminación artificial postcervical en nulíparas, permite un rendimiento reproductivo y de prolificidad similar al observado con la inseminación artificial cervical. Por lo tanto, la aplicación de la PCAI en nulíparas no afecta el rendimiento reproductivo, obteniendo los mismos resultados que CAI, pero con los beneficios del método PCAI.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ausejo, R. 2017 Bulg. J. Vet. Med. 21, 1311–1477. <https://doi.org/10.15547/bjvm.1031>
- Bennemann, P.E., Milbradt, E., Diehl, G.N., Weber, D., Schimidt. 2004. A.C.T., 106–110.
- Bortolozzo, F.P., Maria, A., Goldberg, G., Wentz, I. 2008. Acta Sci. Vet. 36, 17–26.
- Bortolozzo, F.P.. 2015. Reprod. Domest. Anim. 50, 80–84. <https://doi.org/10.1111/rda.12544>
- Dallanora, D., Mezalira, A., Katzer, L., Bernardi, M, 2004. Pesq. agropec. bras 39, 815–819.
- Fitzgerald, R.F., Jones, G.F., Stalder, K.J., 2008. J. Swine Heal. Prod. 16, 10–15.
- Hernández-Caravaca, I., 2017. Theriogenology 90, 147–152.
- Kirkwood, R.N. Reprod. Domest. Anim. 50, 85–89. <https://doi.org/10.1111/rda.12524>
- Knox, R. V., 2016. Theriogenology 85, 83–93.
- Ternus, E.M. 2017. Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec. 69, 777–784. <https://doi.org/10.1590/1678>
- Watson, P.F., Behan, J.R., 2002. Theriogenology 57, 1683–1693.

Tabla 1. Valores de media y desviación estándar de tasa de penetración del catéter hasta el cuerpo del útero, parámetros reproductivos y de prolificidad para los grupos CAI y PCAI

Grupo	CAI	PCAI
N	52	46
Tasa de penetración hasta el cuerpo uterino (%)	-	92,07%
Fertilidad (%)	94,02 ^a	93,50 ^a
Tasa de Parto (%)	94,20 ^a	91,30 ^a
Lechones nacidos totales	13,98±5 ^a	14,24±5,20 ^a
Lechones nacidos vivos	12,56±4,46 ^a	12,71±3,38 ^a
Lechones nacidos muertos	1,32±1,04 ^a	1,20±0,51 ^a
Lechones nacidos momificados	0,10±0,29 ^a	0,33±0,08 ^a

a, b Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0.05$). CAI: inseminación artificial cervical, PCAI: inseminación artificial poscervical.

EVALUATION OF REPRODUCTIVE PARAMETERS COMPARING POST-CERVICAL WITH CERVICAL INSEMINATION IN NULLIPAROUS

ABSTRACT: Post-cervical artificial insemination (PCAI) in multiparous is well demonstrated, but in nulliparous there is few studies about that. The main objective of this study was to compare cervical insemination (CAI) with post-cervical technique and the effect in reproductive parameters in nulliparous. 109 LDxLW nulliparous were used, they were divided into PCAI group ($n=57$) and CAI group ($n=52$). CAI group were inseminated using the foam tip catheter for nulliparous (Magapor, Spain). PCAI group used the foam tip catheter as a guide and a specific PCAI probe for nulliparous (Magaplus N®, Magapor, Spain). Different incidences during the AI as backflow or bleeding problems were analyzed. PCAI success rate of cervix passage was 92.07%. The main incidence observed during inseminations was the backflow (3.63%), backflow was not found statistical differences between all groups ($P > 0.05$). PCAI group showed similar reproductive parameters in fertility (93.50%) than CAI group (94.02%) and farrowing rate, PCAI (91.30%), CAI (94.29%), without statistical differences in all groups ($P > 0.05$). Therefore, the application of PCAI in nulliparous do not affect the reproductive performance, obtained the same results as CAI, with the benefits of PCAI method.

Keywords: artificial insemination, post-cervical, fertility, nulliparous

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL EN ZÁNGANOS DE *APIS MELLIFERA IBERIENSIS*

Yániz, JL^{1*}, Palacín I¹, Santolaria, P¹

Grupo de investigación BIOFITER, Instituto Universitario de Ciencias Ambientales (IUCA),
Departamento de Producción Animal, Escuela Politécnica Superior, Universidad de
Zaragoza, Huesca, España
*yaniz@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La calidad del semen de los zánganos es fundamental para el éxito reproductivo de la reina, que a su vez determina la supervivencia y el nivel productivo de la colmena (Pettis et al. 2016). Por otro lado, la utilización de semen de calidad es esencial para obtener una mayor eficacia en la inseminación artificial de reinas seleccionadas (Collins 2004).

A diferencia de otras especies ganaderas, en las que el análisis de la calidad seminal esta ampliamente estudiado y estandarizado, en el caso de las abejas el estudio de las características seminales del zángano no está tan extendido. En algunos estudios se han evaluado parámetros como el volumen, la concentración, la viabilidad o la movilidad espermática (Ciereszko, et al. 2017), aunque se requiere un esfuerzo para estandarizar los métodos de evaluación.

En abejas, la evaluación de la movilidad espermática se ha realizado en muy pocos trabajos, probablemente debido a la dificultad que conlleva esta determinación por la morfología filiforme de los espermatozoides del zángano. Sin embargo, una adecuada movilidad es necesaria para que se produzca la migración de los espermatozoides a la espermateca de la reina y la posterior fecundación, existiendo una importante correlación entre la movilidad espermática y el éxito de inseminación en reinas (Wegener et al., 2012). A diferencia de la movilidad, el estudio de la integridad de la membrana plasmática (viabilidad), es uno de los parámetros de calidad seminal que más se han empleado en esta especie, principalmente combinando los fluorocromo SYBR-14 y yoduro de propidio. Otras combinaciones de fluorocromos se han utilizado muy ocasionalmente y, en la mayoría de los casos, la determinación de este parámetro se ha realizado mediante recuento manual.

El objetivo de este trabajo es contribuir al conocimiento de la calidad seminal del zángano de la subespecie *Apis mellifera iberiensis*, analizando el efecto del soporte utilizado en la determinación de la movilidad espermática y adaptando un protocolo de evaluación de la integridad de la membrana plasmática previamente desarrollado en mamíferos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó durante la época de producción de miel (marzo-junio, 2018), incluyendo zánganos de la especie *Apis mellifera iberiensis* capturados en apiarios en la provincia de Huesca (España).

Se analizó el semen de 30 zánganos procedentes de 3 colmenas diferentes (10 de cada colmena). Los zánganos se capturaron en su regreso a la colmena bloqueando la entrada a la misma con un excluidor, para posteriormente ser transportados al laboratorio. La extracción del semen se realizó dentro de la primera hora tras la captura utilizando procedimientos estandarizados (Cobey et al. 2013). Tras la extracción, el semen se diluyó en medio de Kiev, ajustado la concentración a 30-50 millones de espermatozoides/ml.

La movilidad espermática se estudió en diferentes soportes: Porta-cubreobjetos (cubreobjetos de 22 x 22 mm; Menzel-Glaser, Braunschweig, Germany); cámara Makler (10 µm profundidad; Sefi-Medical Instrument, Haifa, Israel); y cámara Leja (10-µm profundidad; Leja, Nieuw-Vennep, the Netherlands). Se utilizó un microscopio de contraste de fases negativo con un objetivo 10x (Olympus BX40, Olympus Optical, Tokyo, Japan) equipado con una platina termostaticada (35°C) y una cámara digital Basler (modelo A312f; Basler AG, Vision Technologies, Ahrensburg, Germany), para la captura de videos y el posterior análisis de movilidad espermática. El mismo operario analizó la movilidad de todas las muestras subjetivamente, determinando los parámetros de movilidad total (MT, %) si los espermatozoides presentaban algún tipo de actividad, movilidad progresiva (MP, %) si la

cabeza espermática presentaba desplazamiento, y la circularidad espermática (MC, %) si los espermatozoides móviles presentaban una forma circular (cabeza y cola superpuestas). Por otro lado, se determinó la integridad de la membrana plasmática mediante un protocolo previamente adaptado en mamíferos (Yániz et al., 2013), que combina de naranja de acridina y yoduro de propidio. Este protocolo resulta muy económico y evita la necesidad de incubar las muestras antes de su evaluación. El análisis de las imágenes se realizó utilizando el módulo de viabilidad del Open-CASA (Alquezar-Baeta et al., 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de los diferentes soportes estudiados (Porta, Makler y Leja) sobre las características de movilidad de los espermatozoides de zánganos, se describen en la Tabla 1. Se observó una menor proporción de espermatozoides móviles totales en el sistema porta-cubreobjetos, comparado con las otras dos cámaras (Makler y Leja). El porcentaje de espermatozoides progresivos móviles fue significativamente mayor en la cámara Leja, en la que la difusión de la muestra se realiza por capilaridad, que en los soportes de carga mediante gota (Porta y Makler, Tabla 1). La mayoría de los estudios que evalúan la movilidad espermática en zánganos usan el porta-cubre objetos como soporte de referencia (Taylor et al. 2009; Wegener et al. 2012; Ciereszko, et al. 2017)). Sin embargo, los resultados del presente estudio indican que la utilización de este soporte no es adecuada, ya que provoca una clara disminución de la movilidad total y progresiva con respecto a la observada en las cámaras Makler y Leja.

Por otro lado, se estudió el movimiento circular de los espermatozoides puesto que es considerado como un indicador de la calidad espermática en zánganos (Wegener et al. 2012; Ciereszko, et al. 2017). En este caso, se observó un comportamiento diferente, con un menor porcentaje de espermatozoides circulares en la cámara Leja. En la cámara Makler y el portaobjetos se apreció con mucha frecuencia la adherencia de la cabeza de los espermatozoides al soporte, seguido casi inmediatamente por un enrollamiento de los mismos y un cese del movimiento progresivo. Esto parece indicar que la circularidad es un mal indicador de la calidad seminal en esta especie.

Por último, la evaluación de la integridad de la membrana plasmática del espermatozoide mediante la combinación de naranja de acridina y yoduro de propidio fue exitosa, permitiendo discriminar con claridad los espermatozoides vivos (todo el espermatozoide de un color verde intenso) y muertos (cabeza espermática roja). La utilización del OpenCASA permitió una determinación rápida y fiable de este parámetro de calidad seminal. Por último, existió una clara correspondencia entre los resultados de movilidad total en la cámara Makler y los de viabilidad espermática, que también se midieron en esta misma cámara.

El estudio confirma que el tipo de soporte utilizado en la evaluación de la calidad seminal en zánganos *Apis mellifera iberiensis* afecta significativamente al resultado final y que la combinación de naranja de acridina y yoduro de propidio es una buena alternativa para la evaluación de la integridad de la membrana plasmática en esta especie.

Tabla 1. Valores seminales (media \pm E.S.) de movilidad evaluada en diferentes soportes (Porta-cubre objetos, cámara Makler y cámara Leja) y viabilidad de espermatozoides de zánganos *Apis mellifera iberiensis*

%	Porta	Makler	Leja
Viabilidad	70,58 \pm 1,92	70,58 \pm 1,92	70,58 \pm 1,92
MT	65,24 \pm 3,13 ^a	70,52 \pm 2,39 ^{ab}	79,78 \pm 2,04 ^b
MP	13,78 \pm 2,52 ^a	31,61 \pm 2,88 ^b	59,83 \pm 2,80 ^c
MC	62,43 \pm 4,67 ^a	75,63 \pm 4,97 ^a	17,47 \pm 3,26 ^b

MT: movilidad total; MP: movilidad progresiva; MC: movilidad circular (% sobre MT). Superíndices^{a-c}, indican diferencias significativas entre soportes (P < 0.001).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alquezar-Baeta C.; Gimeno-Martos S.; Miguel-Jimenez S.; Santolaria P.; Yaniz J.; Palacin I.; Casao A.; Cebrian-Perez J. A.; Muino-Blanco T.; Perez-Pe R., 2019: OpenCASA: A new open-source and scalable tool for sperm quality analysis. PLoS Comput Biol, 15 e1006691.
- Ciereszko A., Wilde, J., Dietrich, G.J., Siuda, M., Bak, B., Judycka, S., Karol, H. 2017. Apidologie 48(2): 211-222.
- Cobey, S.W., Tarpy, D.R., Woyke, J. 2013. J Apicult Res 52(4).
- Collins, A.M. 2004 Invertebr Reprod Dev 45(3): 231-237.
- Pettis, J.S., Rice, N., Joselow, J., vanEngelsdorp, D., Chaimanee, V. 2016. PloS one 11(5): e0147220.
- Wegener, J., May, T., Knollmann, U., Kamp, G., Muller, K., Bienefeld, K. 2012. Cryobiology 65(2): 126-131.
- Taylor, M.A., Guzman-Novoa, E., Morfin, N., Buhr, M.M. 2009. Theriogenology 72(2): 149-159.
- Yániz J.L., Palacín, I., Vicente-Fiel, S., Gosálvez, J., López-Fernández, C., Santolaria, P. 2013. Reprod Domest Anim 48(4): 598-603.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Empresa y Competitividad (MINECO, proyecto AGL2017-85030-R) y el Gobierno de Aragón-Fondo Social Europeo del (DGA-FSE, proyecto A07-17R).

SEMINAL QUALITY ASSESSMENT IN *APIS MELLIFERA IBERIENSIS* DRONES

ABSTRACT: Drone semen quality is fundamental for the reproductive success of the honey bee queen, and to obtain greater efficiency in the artificial insemination of selected queens. This study was designed to analyze the effect of the viewing support used in the results of drone sperm motility and to adapt a protocol for the plasma membrane integrity assessment in this species. The effect of three different sample devices (slide-coverslip, Makler and Leja chambers) on sperm motility parameters of honey bee drones was compared. A lower proportion of motile and progressive sperm was observed in slide-coverslip and in slide-coverslip and Makler, respectively, than in Leja chamber, while the percentage of circular sperm showed an opposite behaviour. The use of acridine orange and propidium iodide allowed a fast and clear assessment of the sperm plasma membrane integrity of this species. This study confirms that the chamber used significantly affects the result of sperm motility, and that the combination of acridine orange and propidium iodide is a good alternative for the plasma membrane integrity assessment in honey bee drone sperm.

Keywords: *Apis mellifera iberiensis*, semen quality, sperm motility, sperm viability.

ESTUDIO MORFOMÉTRICO DIFERENCIAL DE LAS SUBPOBLACIONES ESPERMÁTICAS EN BOS TAURUS

Palacín, I.¹, Santolaria, P.¹, Alquezar-Baeta, C.², Soler, C.³, Silvestre, M.A.³, Yániz, J.L.^{1*}

¹Grupo de investigación BIOFITER, Instituto Universitario de Ciencias Ambientales (IUCA), Departamento de Producción Animal, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Zaragoza, Huesca, España

²Departamento de Informática e Ingeniería de Sistemas, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.

³Departamento de Biología Celular, Biología Funcional y Antropología Física, Universidad de Valencia, Valencia, España.

*yaniz@unizar.es

INTRODUCCIÓN

El estudio de la morfología espermática se considera un parámetro fundamental en el análisis de calidad seminal, existiendo estudios que relacionan los parámetros morfométricos del espermatozoide con la fertilidad del macho (Yániz et al., 2015). Sin embargo, los métodos corrientemente empleados para la determinación morfométricas implican la realización previa de procesos de secado, fijación y tinción de las muestras, que matan los espermatozoides y alteran su morfología. Para evitarlo, en los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas para el análisis de la morfometría espermática en muestras líquidas (Yániz et al., 2015), si bien se basan en el análisis indiscriminado de toda la población espermática, sin considerar las diferentes subpoblaciones existentes.

En un trabajo reciente (Yániz et al., 2017) se ha descrito un nuevo método de fluorescencia (ISAS[®]3fun) que permite la identificación de espermatozoides en función de la integridad de la membrana plasmática y acrosómica en muestras líquidas. El objetivo de este trabajo es utilizar este nuevo método para estudiar en detalle las características morfométricas de las diferentes subpoblaciones espermáticas presentes en muestras seminales de toro.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 muestras congeladas de toros de raza Frisona. Tras su descongelación, se añadió a las muestras la combinación de fluorocromos suministrada en el kit comercial ISAS[®]3Fun (Proiser R+D, S.L., Paterna, España. Yániz et al., 2017), siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, una vez añadidos los fluorocromos, se incubaron las muestras 5 min a 37°C en oscuridad, se colocó una gota de 3µl en un portaobjetos atemperado, se colocó un cubreobjetos y se inmovilizó la muestra mediante el sistema Trumorph[®] (Proiser R+D, S.L., Paterna, Spain. Soler et al., 2015).

Se obtuvieron imágenes de cada muestra teñida mediante un equipo formado por un microscopio de epifluorescencia (DM4500B, Leica; Wetzlar, Alemania) equipado con una platina térmica, objetivo de inmersión 63x y filtros estándar Azul/Verde/Rojo. Las imágenes se capturaron con una cámara acoplada al microscopio (Canon Eos 600D Digital Camera, Canon Inc., Tokyo, Japón), utilizando un software de captura de imágenes (EOS Utility).

Los espermatozoides observados fueron clasificados en (Figura 1): espermatozoides con la membrana plasmática y acrosoma intactos (MNAN), espermatozoides con la membrana dañada y el acrosoma intacto (MDAN), espermatozoides con la membrana intacta y el acrosoma dañado (MNAD) y espermatozoides con membrana y acrosoma dañados (MDAD). Las imágenes se analizaron con el software libre ImageJ (versión 1.45e, disponible on-line <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>). De cada espermatozoide, se obtuvieron los diferentes parámetros morfométricos de la cabeza y el acrosoma. Se evaluó el área (A), perímetro (P), longitud (L) y anchura (An) del total de la cabeza espermática de las diferentes subpoblaciones y, en los espermatozoides con el acrosoma intacto, se evaluó el área y el porcentaje que ocupa en acrosoma con respecto al total del área de la cabeza. Se evaluaron al menos 200 espermatozoides por muestra. Los resultados se analizaron con el programa estadístico SPSS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La combinación de los fluorocromos utilizados permitió el estudio detallado de la morfometría de las diferentes subpoblaciones en cada muestra. Tal y como se aprecia en la Tabla 1, las dimensiones de la cabeza de los espermatozoides con el acrosoma dañado (MNAD, MDAD), fué significativamente menor que las de los espermatozoides con acrosoma intacto (MNAN, MDAN) en todos los parámetros estudiados (A, P, L, An). Los parámetros de la subpoblación MDAN, fueron significativamente mayores cuando se compararon con las otras subpoblaciones. Estas diferencias suponen un incremento del 4% en el área espermática respecto a la subpoblación MNAN. Respecto al acrosoma, se observó un área superior en los espermatozoides con la membrana plasmática dañada (MDAN), aunque el porcentaje sobre el total de la cabeza fue similar al de los espermatozoides con el acrosoma y la membrana plasmática intacta (MNAN), posiblemente debido a que el acrosoma de la subpoblación MDAN, además de aumentar de tamaño, se desplaza en sentido apical.

En un estudio previo utilizando contraste de fases, Marco-Jiménez et al., (2006) observaron que los espermatozoides con la membrana plasmática dañada eran más pequeños que aquellos con la membrana plasmática intacta. Estas diferencias las atribuyeron a la pérdida de contenido celular por alteración de la membrana. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que estas diferencias probablemente se deban a una mayor incidencia de daño acrosómico en los espermatozoides con la membrana plasmática dañada.

El nuevo método utilizado para el estudio de la morfometría seminal en toros de la raza frisona ha permitido estudiar, de forma simultánea y en detalle, las características de la cabeza espermática en las diferentes subpoblaciones presentes en la muestra, observándose claras diferencias en función del estatus de la membrana plasmática y, especialmente, del acrosoma.

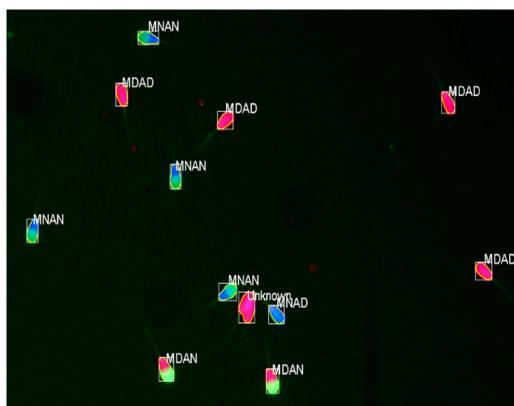


Figura 1 Diferenciación de subpoblaciones espermáticas: MNAN (membrana plasmática y acrosoma intacto; azul y rojo), MDAN (acrosoma intacto, membrana plasmática dañada; verde y rojo), MNAD (membrana plasmática intacta, acrosoma dañado; azul), MDAD (membrana y acrosoma dañado; rojo)

Tabla 1. Diferencias morfométricas (Media \pm SEM) observadas entre diferentes tipos de subpoblaciones espermáticas en toro.

	MNAN	MDAN	MNAD	MDAD
Cabeza				
Área (μm^2)	38,06 \pm 0,34 ^a	39,66 \pm 0,32 ^b	35,45 \pm 0,35 ^c	35,09 \pm 0,27 ^c
Perímetro (μm)	25,34 \pm 0,12 ^a	26,10 \pm 0,13 ^b	24,54 \pm 0,13 ^c	24,58 \pm 0,12 ^c
Longitud (μm)	9,38 \pm 0,05 ^a	9,61 \pm 0,06 ^b	9,13 \pm 0,06 ^c	9,11 \pm 0,05 ^c
Anchura (μm)	5,25 \pm 0,04 ^a	5,44 \pm 0,04 ^b	4,91 \pm 0,03 ^c	4,85 \pm 0,02 ^c
Acrosoma				
Área (μm^2)	22,51 \pm 0,14 ^a	23,50 \pm 0,25 ^b		
% Cabeza	59,20 \pm 0,36	59,29 \pm 0,49		

Superíndices^{a-c}, indican diferencias significativas entre subpoblaciones (P < 0.001)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Marco-Jimenez, F., Vicente, J.S., Lavara, R., Balasch, S., Viudes-De-Castro, M.P., 2010. *Reprod Domest Anim* 45, E118-E123.
- Palacín, I., Vicente-Fiel, S., Santolaria, P., Yaniz, J.L., 2013. *Small Ruminant Research* 112, 128-135.
- Soler, C., García, A., Silvestre, M., Sancho, M., 2015. *Anim. Reprod. Sci.* 158, 1-10.
- Yániz, J.L., Soler, C., Santolaria, P., 2015. *Anim. Reprod. Sci.* 156, 1-12.
- Yániz, J.L., Soler, C., Alquezar-Baeta, C., Santolaria, P., 2017. *Anim. Reprod. Sci.* 181, 108-114.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Empresa y Competitividad (MINECO, proyecto AGL2017-85030-R) y el Gobierno de Aragón-Fondo Social Europeo del (DGA-FSE, proyecto A07-17R).

DIFFERENTIAL MORPHOMETRIC ASSESSMENT OF *BOS TARUS* SPERM SUBPOPULATIONS

ABSTRACT: Previous studies of sperm morphometry have evaluated the whole sperm population regardless of the sperm status. The aim of the present work was to evaluate in detail the morphometry of the different sperm subpopulations according to the membrane and acrosome integrity. Cryopreserved semen samples from 16 bulls were processed for sperm morphometry using the fluorochrome combination included in the ISAS®Fun kit. This allowed to assess sperm morphometry of the whole sperm head and the acrosome in the different sperm subpopulations present in the semen. The acrosome integrity has a great impact on the results of sperm morphometry as the head spermatozoa with damaged acrosome was significantly smaller than those of spermatozoa with normal acrosome. The head dimensions of spermatozoa with damaged plasma membrane but normal acrosome was significantly higher than those of other sperm subpopulations. No morphometric differences between spermatozoa with damaged acrosomes were found independently of the membrane status. It was concluded that the acrosome integrity has a great impact on the variability of head sperm morphometry.

Keywords: *Bos Taurus*, sperm morphometry, acrosome, subpopulations.

ESTADO DE LA CROMATINA ESPERMÁTICA Y RELACIÓN CON LA FERTILIDAD EN CAMPO EN DOSIS SEMINALES CRIOPRESERVADAS DE LA RAZA BOVINA AUTÓCTONA ASTURIANA DE LA MONTAÑA

Amer Salman¹, J. Néstor Caamaño², C. Arija¹, C. Tamargo², Carlos O. Hidalgo², C. Fueyo², A. Fernández², M.J. Merino², Felipe Martínez-Pastor¹

¹INDEGSAL, Universidad de León, 24071 León, España

²Selección y Reproducción Animal-SERIDA, Principado de Asturias, Gijón, España
felipe.martinez@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Los bancos de semen son una herramienta crucial para la conservación de las razas autóctonas. Dentro de la gestión de los criobancos es imprescindible realizar un control de calidad de éste para comprobar la viabilidad de las dosis criopreservadas. En este estudio, mostramos parte de los análisis realizados al banco de semen de la raza bovina autóctona Asturiana de la Montaña, que se encuentra en el Banco de Recursos Zoogenéticos del Principado de Asturias (Tamargo et al., 2009).

Uno de los parámetros más relevantes para la utilidad futura del semen es el estado de la cromatina espermática. Se ha demostrado que la fertilidad es seriamente afectada por los daños en el ADN espermático (Evenson, 2013), siendo estas alteraciones no compensables. Por tanto, la presencia de estas alteraciones en las dosis almacenadas en un criobanco podría comprometer muy seriamente su viabilidad futura. El estudio de las alteraciones de la cromatina espermática se reduce frecuentemente al análisis de las roturas del ADN, pero se ha propuesto que otros parámetros podrían ser relevantes. Entre ellos, la cantidad de puentes disulfuro entre protaminas, que podrían estar relacionados con la estabilidad de la cromatina (Zubkova et al. 2005).

En este estudio, hemos evaluado el estado de la cromatina espermática de las dosis de varios toros de Asturiana de la Montaña. Además de considerar la fragmentación del ADN espermático, hemos evaluado la madurez de la cromatina y la cantidad de puentes disulfuro, para conseguir un análisis más completo de la condición de estas muestras y de su utilidad futura. Adicionalmente, hemos analizado la relación de las alteraciones estudiadas con datos de fertilidad en campo de esas mismas dosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los reactivos fueron adquiridos de Sigma (St. Louis, MO, EE.UU.), Polysciences (naranja de acridina, Warrington, PA, USA) y Thermofisher (Waltham, MA USA). Se utilizaron dosis seminales de 20 toros de raza Asturiana de la Montaña almacenadas en el Banco de Germoplasma del Principado (SERIDA, Asturias). Los toros tenían entre 2 y 5 años de edad en el momento de la extracción (vagina artificial). Los resultados de fertilidad tras inseminación artificial (56 d non-return rates, NRR) se obtuvieron de registros para primeras y segundas inseminaciones.

Para los análisis de la cromatina espermática, las dosis se descongelaron a 37 °C 30 s en un baño de agua y a los 10 min se diluyó una alícuota en buffer TNE a 2×10^6 ml⁻¹. El semen se incubó 5 h a 38 °C (test de termorresistencia) y se volvió a muestrear. Los tubos se mantuvieron a -80 °C hasta su análisis. Para evaluar la fragmentación del ADN y la madurez de la cromatina, se utilizó la técnica SCSA (Evenson y Jost, 2000). Se pasaron 200 µL de muestra a un tubo de citometría, añadiendo 400 µL de solución ácida-detergente (150 mM NaCl, 0,1% Tritón X-100, 80 mM HCl, pH 1,2) durante 30 s. Inmediatamente se añadieron 1,2 ml de solución de tinción (150 mM NaCl, 100 mM ácido cítrico, 200 mM Na₂HPO₄, 1 mM EDTA, 0,02 mM naranja de acridina). A los 3 min las muestras se analizaron en un citómetro FACScalibur (Becton Dickinson, San Jose, USA), utilizando un láser azul (488 nm) y fotodetectores para fluorescencia roja (670LP) y verde (530/30). Para determinar la cantidad de puentes disulfuro entre protaminas, se utilizó el fluorocromo monobromobimano (mBBBr; Zubkova et al., 2005). Cada muestra se dividió en dos alícuotas. Una de ellas se incubó 10 min a 37 °C en DTT 1 mM como referencia (tioles libres totales). Las alícuotas se lavaron con PBS y se incubaron con mBBBr 500 µM durante 10 min a 37 °C. Se lavaron de nuevo y se resuspendieron en PBS con yoduro de propidio (PI) 3 µM, analizándose en un citómetro MACSQuant Analyzer 10 (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Alemania). Para identificar los

espermatozoides se seleccionaron los eventos PI+, usando un láser azul (488 nm) como excitación y un fotodetector de fluorescencia roja (655–730). Para evaluar los tioles libres (unidos a mBBR), se utilizó un láser violeta (405 nm) y se detectó con un fotodetector de fluorescencia azul (450/50). En ambas técnicas se analizaron 10.000 eventos por tubo. Los datos se procesaron con el paquete estadístico R (<http://www.r-project.org>) para obtener los parámetros del SCSA %DFI (fragmentación del ADN) y %HDS (madurez de la cromatina) (Evenson, 2013) y los valores medios de la fluorescencia (MFI) del mBBR. Se estimaron los puentes disulfuro por diferencia promedio de la alícuota referencia y la no tratada con DTT (Zubkova et al., 2005). Los datos se analizaron mediante modelos lineales de efectos mixtos. Los resultados se muestran como media \pm e.e.m. si no se indica lo contrario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la fertilidad en campo (NRR de 11 toros) fueron 57,3% \pm 3,0 para primera IA y 54,5% \pm 2,0 para segunda IA (distribución en Fig. 1a). Los resultados de fragmentación del ADN espermático (Fig. 1b) y de la madurez de la cromatina (Fig. 1c) mostraron que ninguna muestra alcanzaba valores que pudiesen comprometer la fertilidad (Evenson et al., 2013; Waterhouse et al., 2006). En ambos casos, la incubación a 38 °C no alteró significativamente los valores de estas variables (%DFI: 1,9% \pm 0,2 vs. 2,0% \pm 0,2; %HDS: 4,8% \pm 0,3 vs. 4,5% \pm 0,3). Gosálvez et al. (2011) indicó que la cromatina de los espermatozoides descongelados de toro Holstein era resistente al daño, característica que parece ser común en la especie bovina según nuestros resultados en Asturiana de la Montaña. El %DFI post-descongelación mostró una relación negativa con las NRR de primera IA (-5,40 \pm 1,93, P=0,003), aunque no con las de segunda IA o a las 5 h post-incubación. No se encontró relación entre %HDS y los datos de NRR.

Aunque se ha propuesto que la cantidad de puentes disulfuro podría afectar la integridad del ADN espermático, no se ha encontrado una relación clara en el caso del ganado bovino (Evenson et al., 2000). En nuestro caso, los puentes disulfuro tuvieron una dinámica diferente a la del SCSA (Fig. 2), con una disminución de la fluorescencia tras la incubación (Fig. 2a), indicando un mayor nivel de puentes disulfuro (Fig. 2c), con P<0,001 (los valores de referencia no variaron, Fig. 2b). Estos resultados indican que la estructura de la cromatina sí se ve alterada en el test de termoresistencia, pero en un sentido que podría contribuir precisamente a evitar alteraciones, explicando la falta de cambios del SCSA. No observamos una relación de los resultados de este análisis con el NRR.

En conclusión, el estado de la cromatina espermática de las muestras analizadas no supondría un problema para el uso futuro de estas muestras. A pesar del reducido número de muestras, encontramos cierta relación del SCSA con la fertilidad, lo cual indica que podría ser una herramienta interesante. Aunque no observamos esta relación con el análisis de los puentes disulfuro, la información proporcionada podría ayudar a comprender cómo se comporta el núcleo espermático en las técnicas de reproducción asistida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Evenson, D.P., 2013. *Methods Mol. Biol.* 927: 147-164. • Evenson, D. & Jost, L., 2000. *Methods Cell. Sci.* 22: 169-189. • Evenson, D.P., Jost, L.K. & Varner, D.D., 2000. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 56: 401–406. • Evenson, D.P., 1999. *Reprod Fertil Dev* 11: 1–15. • Gosálvez, J., López-Fernández, C., Fernández, J.L., Gouraud, A. & Holt, W.V., 2011. *Mol. Reprod. Dev.* 78: 951–961. • Tamargo, C., Fuente, J. de la, Rodríguez, A., Pérez-Garnelo, S.S., Fernández, A., Benito, J.M. & Hidalgo, C.O., 2009. *Arch. Zootec.* 58:529–532. • Waterhouse, K.E., Haugan, T., Kommisrud, E., Tverdal, A., Flatberg, G., Farstad, W., Evenson, D.P. & De Angelis, P.M., 2006. *Reprod Fertil Dev* 18:781–788. • Zubkova, E.V., Wade, M. & Robaire, B., 2005. *Fertil. Steril.* 84 Suppl. 2: 1191–1198.

Agradecimientos: Los autores agradecen a las asociaciones de ganaderos ASEAMO y ASCOL (Asturias) por su apoyo y a Beatriz de Arriba y Lucía Tejerina por su ayuda en los análisis. Este trabajo ha sido financiado por los proyectos RZP2013-006-00-00 y RZP2017-00008-00-00 (MINECO) y ha sido realizado dentro de una Red de Excelencia (PIVEP, AGL2016-81890-REDT, MINECO).

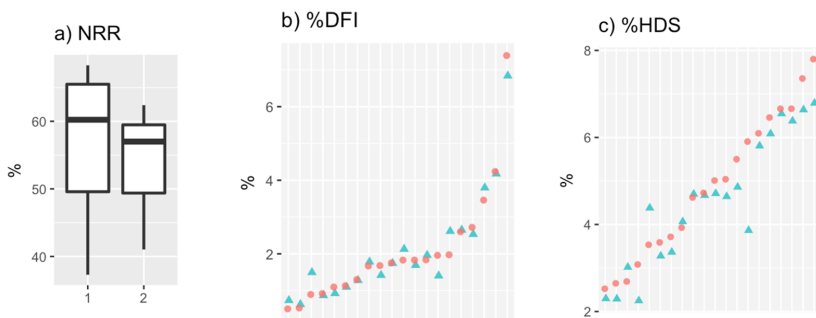


Figura 1. El gráfico de cajas a) muestra la distribución de los datos de fertilidad (NRR) de los toros ($n = 11$) en primera y segunda IA. Las gráficas b) y c) muestran los resultados del SCSA para los 20 toros analizados tras descongelar (círculos) y tras 5 h de incubación a 38 °C (ordenados de forma creciente por valores post-descongelación).

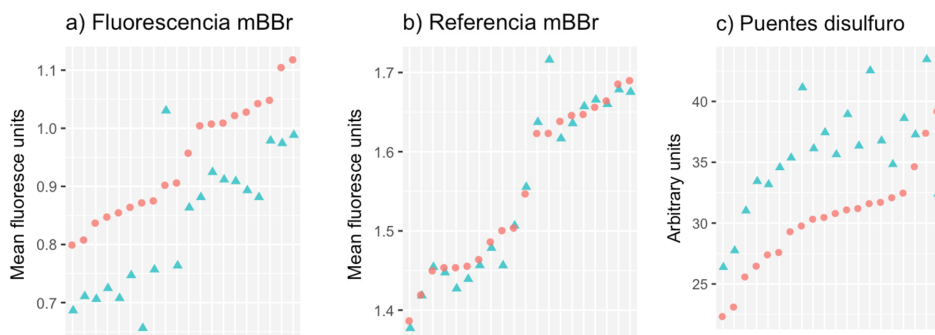


Figura 2. Resultados del análisis de los puentes disulfuro en 20 toros, tras descongelar (círculos) y tras 5 h de incubación a 38 °C (ordenados de forma creciente por valores post-descongelación). Las gráficas a) y b) muestran los valores medios de fluorescencia (MFI) de las muestras sin descondensar y de referencia (descondensada con DTT), y la gráfica c) muestra el nivel de puentes disulfuro de cada muestra (calculado a partir de los MFI).

SPERM CHROMATIN STATUS AND RELATIONSHIP WITH FIELD FERTILITY OF CRYOPRESERVED SEMEN DOSES FROM THE ASTURIANA DE LA MONTAÑA AUTOCHTHONOUS CATTLE BREED

ABSTRACT: Germplasm banks are crucial for the conservation of autochthonous breeds. We have analysed the chromatin structure of doses from the Asturiana de la Montaña semen bank (SERIDA, Asturias), in order to verify their viability for future use. The samples were assessed post-thawing and after a 5-h 38 °C incubation by using flow cytometry. We assessed DNA fragmentation (%DFI) and chromatin maturity (%HDS) by SCSA and disulfide bridges by monobromobimane (mBBr) staining. The SCSA results indicated that the chromatin of the cryobank doses was in good condition and should not represent a risk for future use. Incubation did not affect the SCSA results (0 h %DFI: $1,9\% \pm 0,2$, %HDS: $4,8\% \pm 0,3$; 5 h %DFI: $2,0\% \pm 0,2$, %HDS: $4,5\% \pm 0,3$). Moreover, post-thawing %DFI negatively influenced field fertility (non-return rates of first inseminations, $P=0.003$). The levels of disulfide bridges increased after the incubation ($P<0.001$) suggesting chromatin changes after thawing that could explain the resilience found by SCSA analysis. We found no relationship of disulfide bridges levels with field fertility. However, this analysis could help understanding the bull sperm chromatin dynamics after thawing.

Keywords: bull, sperm chromatin, fertility, germplasm bank.

EL ÁCIDO GRASO DEL PLASMA SEMINAL NO ES UN BUEN PREDICTOR DE LA CONGELACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES DE EPIDÍMIO DE CABALLO

Vieira, LA., Matás, C. y Gadea, J

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Campus de Excelencia Internacional para la Educación Superior e Investigación (Campus Mare Nostrum), Universidad de Murcia, Murcia 30100, España E-mail: luisalberto.vieira@um.es, Instituto de Investigación Biomédica de Murcia IMIB-Arrixaca, Murcia, España.

INTRODUCCIÓN

La variabilidad que existe entre los sementales en lo que respecta la congelación de los espermatozoides (Loomis and Graham, 2008) de caballo, reduce la posibilidad de lograr un resultado satisfactorio en este campo. En ese sentido, Aurich et al. (1996) atribuyen esa variabilidad a la composición del plasma seminal (PS). Así, se ha determinado que la concentración de proteínas en el PS de distintos animales (Kareskoski et al., 2011), los tipos de ácidos grasos y la capacidad antioxidante total (TAC) (Martínez-Soto et al., 2013), determinan que sean buenos o malos congeladores. En estudios recientes donde se evaluaron el efecto de PS de diferentes sementales sobre la viabilidad y el daño acrosomal de los espermatozoides de epidídimo de caballo congelado-descongelado (Vieira et al., 2016), observaron efectos positivos y perjudiciales sobre la integridad de la membrana espermática dependiendo del semental. Estos mismos autores, demostraron una relación positiva entre la concentración de proteínas y TAC con una relación lineal de coeficiente de índice de Pearson $r=0.94$. Por otro lado, Martínez-Soto et al. (2013) evidenció una relación de tipos de ácidos grasos presentes en el PS con la calidad seminal después de la congelación-descongelación. El objetivo de este estudio fue investigar si la composición de los ácidos grasos está relacionada con la congelabilidad de los espermatozoides de epidídimo de caballo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los espermatozoides se obtuvieron de la cola de epidídimo de testículos de 12 machos castrados o sacrificados en el matadero. El transporte al laboratorio se realizó en recipiente isoterma en tiempo inferior a 1 h desde la obtención de los testículos. Seguidamente se procedió al lavado de los mismos con solución salina fisiológica y se procedió a la disección de la cola del epidídimo. Con un catéter de inyección intravenosa (21G) acoplada a una jeringuilla de 10 mL, se introdujo el aire en el conducto deferente para la posterior obtención de los espermatozoides. El PS fue obtenido de tres sementales de fertilidad probada denominados como: A, F y O. La obtención de la muestra seminal se realizó mediante una vagina artificial con la ayuda de una yegua en celo. Posteriormente el eyaculado se sometió a dos centrifugaciones (3000 g durante 30 min a 4°C) y, el sobrenadante se congeló en alícuotas de 1 mL a 20°C hasta el momento de su uso. Los lípidos totales fueron extraídos según el método descrito por Folch et al. (1957). La transmetilación se realizó según describe Christie y Han (2010). Los ácidos grasos extraídos, neutralizados con 2 mL de KHCO_3 al 2% y disueltos nuevamente en 1 mL de iso-hexano. Se separó y se cuantificó de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (ácidos grasos saturados-SFA, monoinsaturados-MUFA y poliinsaturados-PUFA) mediante cromatografía gas-líquido. Las concentraciones de ácidos grasos se expresaron como porcentaje total del contenido de lípidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados (Tabla 1) muestran que el PS del macho O presenta una mayor proporción de SFA que el macho A y el macho F. Mientras que el macho F tiene una menor proporción de MUFA y el porcentaje más alto de PUFA que el macho A y el macho O. Luego, la proporción de SFA/PUFA del macho F fue menor en relación a los machos A y O. Después del análisis de la PUFA, se observó que el macho F mostraba valores más altos,

principalmente omega-6, mientras que los omega-3 fueron similares entre ellos. Por lo tanto, la proporción entre omega-6/omega-3 fue mayor para el macho F que para los machos A y O. Martínez-Soto et al. (2013) correlacionaron los SFA y MUFA con mala calidad seminal, mientras que los PUFA están correlacionados con la calidad seminal y la fertilidad (Safarinejad et al., 2010). Previamente habíamos demostrado que el PS de dos machos (F y O) con mayor (F) e intermedia (O) concentración de proteínas y TAC respectivamente, mejoraron la viabilidad y previnieron el daño acrosomal en relación al control y al macho (A) con menor concentración de proteínas y menor TAC, quienes redujeron esos valores (Vieira et al., 2016). En ese sentido, hemos querido investigar si la composición de los ácidos grasos de estos sementales (A, F y O) estaría relacionada con las concentraciones de las proteínas y TAC de PS. Sin embargo, no hemos apreciado esa relación, ya que el macho (O) que previamente mejoró la viabilidad y previno el daño acrosomal, presentó un porcentaje similar de SFA y MUFA (relacionados con mala calidad seminal), y menor porcentaje de PUFA (relacionado con la calidad seminal) que el macho (A) que redujo dichos parámetros. Estos resultados sugieren que la composición lipídica del PS no es un claro predictor de la congelación de los espermatozoides de epidídimo.

Tabla 1. Porcentajes de diferentes ácidos grasos del plasma seminal de tres sementales.

Ácidos grasos	Valores medios (%)	A (%)	F (%)	O (%)
SFA	62,9	61,42	61,07	66,16
MUFA	20,38	22,64	15,91	22,59
PUFA	16,7	15,94	23,02	11,24
Omega-3	7,17	7,28	8,15	6,07
Omega-6	9,57	8,67	14,87	5,17
Ratio ω -6/ ω -3	1,29	1,19	1,82	0,85
Ratio SFA/PUFA	4,13	3,85	2,65	5,88

SFA: ácidos grasos saturados, MUFA: ácidos grasos monoinsaturados, PUFA: ácidos grasos poliinsaturados, ω -3: omega-3, ω -6: omega-6.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aurich, J.E., Kuhne, A., Hoppe, H., Aurich, C., 1996. Theriogenology 46: 791-797. • Christie, W.W., Han, X., 2010. Oily Press Bridgewater, UK. • Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. Journal of Biological Chemistry 226: 497-509. • Kareskoski, A.M., del Alamo, M.M., Guvenc, K., Reilas, T., Calvete, J.J., Rodriguez-Martinez, H., Andersson, M., Katila, T., 2011. Reprod. Domes. Anim. 46: e79-e84. • Loomis, P.R., Graham, J.K., 2008. Anim. Reprod. Sci. 105: 119-128. • Martínez-Soto, J.C., Landeras, J., Gadea, J., 2013. Andrology 1: 365-375. • Safarinejad, M.R., Hosseini, S.Y., Dadkhah, F., Asgari, M.A., 2010. Clinical Nutrition 29: 100-105. • Vieira, L. Matás, C and Gadea, J. 18th International Congress of Animal Reproduction. 26- 30 June 2016. Tours, France. PW124.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la Fundación Séneca, Saavedra Fajardo (20020/SF/16). MINECO-FEDER (AGL 2015-66341-R).

FATTY ACID FROM SEMINAL PLASMA IS NOT A GOOD FREEZABILITY PREDICTOR OF STALLION EPIDIDYMAL SPERM

ABSTRACT: Previously we studied the effect of SP from different stallions (A, F, O) on the viability and acrosome status of epididymal frozen-thawed spermatozoa. SP from two stallions (F and O) improved the values in comparison to control and another stallion (A) who reduced the values (Vieira et al., 2016). A positive correlation between total antioxidant capacity (TAC) and protein concentration (linear Pearson correlation index $r = 0.94$) has been observed. The aim of this study was to investigate if the fatty acid composition is related with freezability of stallion epididymal sperm. Our findings showed that SP from stallion O had a greater proportion of SFA and low PUFA percentage than stallion A and F. On the other hand, MUFA level was similar to stallion A and higher to stallion F. While PUFA level was higher for stallion F than A and O. These results suggest that SP lipid composition is not a clear freezability predictor of stallion epididymal sperm.

Keywords: Epididymal sperm, stallion, fatty acid composition, seminal plasma.

CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD SEMINAL IN VITRO Y LA FERTILIDAD IN VIVO EN CAPRINO DE RAZA MURCIANO-GRANADINA

Mocé¹, E., Lozano-Palazón², S.A., Contreras¹, S.J., Martínez-Granell¹, M., Villalba¹, I., Bernácer¹, J., Gómez¹, E.A.

¹CITA-IVIA, Polígono la Esperanza, 100. Apdo. 187, 12400-Segorbe, Castellón. ²ACRIMUR, C/ Barón del Solar, 22, 30520-Jumilla (Murcia); moce_eva@gva.es

INTRODUCCIÓN

Todos reconocemos que el semen juega un papel fundamental en la fecundación, pero sobre el éxito de un programa de inseminación influyen diversos factores que dependen de los sementales, de las cabras y de factores externos (ambientales o de manejo).

El análisis de la motilidad espermática es, por su rapidez y sencillez, uno de los más utilizados en los centros de inseminación para evaluar la calidad de las dosis producidas. Con los programas de análisis de imágenes (sistemas CASA) se obtiene información acerca de la cantidad de movimiento, pero también de la calidad de ese movimiento. Además de estos sistemas, la citometría de flujo también se utiliza cada vez más en andrología para evaluar la calidad de las dosis producidas.

En algunas especies se han observado correlaciones entre algunas variables obtenidas con los sistemas CASA y la fertilidad (Yaniz et al., 2018). En caprino, sólo existe un trabajo de este tipo en el que se establecieron correlaciones entre la fertilidad y los parámetros de motilidad del semen congelado (Furstoss et al., 2010). No obstante, la mayoría de las inseminaciones en caprino a nivel nacional se realizan con semen refrigerado.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la relación entre la calidad del semen in vitro con la fertilidad del semen refrigerado en campo en ganado caprino de raza Murciano-Granadina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron muestras de semen fresco y refrigerado de 13 machos cabríos de raza Murciano-Granadina ubicados en las instalaciones del CITA-IVIA (Segorbe, Castellón) y pertenecientes al Programa Nacional de mejora genética de la raza. En las pruebas de fertilidad se utilizaron datos de inseminación de 549 cabras de raza Murciano-Granadina alojadas en 12 ganaderías pertenecientes a la Asociación Española de Criadores de la Cabra Murciano-Granadina (ACRIMUR), localizadas en diferentes provincias.

Para la preparación de las dosis se utilizó un diluyente de refrigeración a base de leche desnatada suplementado con glucosa (2 mg/mL). La concentración de los eyaculados se ajustó a 560×10^6 espermatozoides/mL, y el semen se envasó en pajuelas de 0,25 mL que se refrigeraron lentamente desde 20 °C hasta 4 °C en un baño de agua programable o durante el transporte de las dosis en nevera a 4 °C en un prototipo de refrigeración. Cada pajuela de 0,25 mL contenía una dosis de inseminación (140×10^6 espermatozoides).

Se evaluó la calidad de los eyaculados en semen fresco (muestra tomada tras la dilución con el diluyente de refrigeración) y después de la refrigeración. Se realizaron análisis de motilidad mediante el sistema CASA (ISAS versión 1.0.17, Prolser, Valencia) y análisis de la integridad de la membrana plasmática mediante la tinción dual SYBR14-yoduro de propidio y citometría de flujo (Epics XL-MCL, Beckman Coulter, IZASA, Barcelona) según los protocolos y diluyentes descritos por Konyali et al. (2013).

Para este trabajo se utilizaron las siguientes variables obtenidas del sistema CASA: móviles totales (MT, %), móviles progresivos (MP, %), velocidades VCL, VSL y VAP ($\mu\text{m/s}$), índices LIN, STR y WOB (%) y las variables ALH (μm) y BCF (Hz). La descripción detallada de estos parámetros y su significado se puede consultar en Martínez-Pastor et al. (2011). Con respecto al análisis de integridad de membrana plasmática sólo se consideró la población de espermatozoides SYBR+/yoduro de propidio- (IMP, %).

Para la sincronización del estro en las cabras se utilizó un protocolo corto basado en el descrito por Menchaca y Rubianes (2007). Brevemente, el día 0 se colocaron esponjas intravaginales con 30 mg de acetato de flugestona (FGA, SINCROPART® 30 mg, CEVA Salud Animal, Barcelona) y al mismo tiempo se aplicó una inyección intramuscular (IM) de entre 2,5 y 5 mg de prostaglandina F₂ α (Enzaprost® T, CEVA Salud Animal, Barcelona). El día 6 se retiraron esponjas y cada cabra recibió una inyección IM de 250 UI (para las IA realizadas en otoño-invierno) o de 300 UI (para las IA realizadas en primavera-verano) de PMSG (SINCROPART® PMSG 6000 UI, CEVA Salud Animal, Barcelona).

La IA se realizó el día 8, en un intervalo entre las 45 y las 48 h tras la inyección de PMSG. El contenido de una dosis de IA fue depositado lentamente lo más profundo posible en el cuello uterino. En el estudio se utilizó la fertilidad a parto.

Para el análisis de los datos se utilizaron los paquetes estadísticos Statgraphics Centurion XVII y SAS Statistical Software versión 9.2. Al ser la fertilidad un carácter binario se utilizaron modelos de regresión logística, que permiten utilizar efectos numéricos y efectos categóricos fijos y modelos lineales generalizados, que permiten incluir efectos aleatorios (por ejemplo, sesión). Como criterios estadísticos se utilizaron el test chi-cuadrado de Wald, que testa si el valor del coeficiente estimado para el efecto es distinto de cero (una $P < 0,05$ indica que es diferente de cero), y criterios de información de Akaike (AIC) y de Schwarz (BIC) que informan sobre el ajuste del modelo (mejor ajuste a valor más pequeño).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad del semen fresco y refrigerado de este estudio es elevada (Tabla 1) y la fertilidad obtenida fue del 59,3%, valor próximo a los valores medios de 2017 en las asociaciones nacional y española (MURCIGRAN, 2018; comunicación personal). Los valores MT y MP de nuestro estudio son similares a los observados en trabajos previos para esta especie (Barbas et al., 2018; Konyali et al., 2013; Santiago-Moreno et al., 2017; Xu et al., 2009). Por otra parte, no hay demasiados trabajos en caprino donde se hayan estudiado los parámetros cinéticos. Nuestros resultados son inferiores a los observados por Barbas et al. (2018) en algunos de los parámetros cinéticos del semen fresco (VCL, VAP y ALH) y superiores para el resto de parámetros. Además, nuestros resultados son en general superiores a los observados por Santiago-Moreno et al. (2017). Estas diferencias entre trabajos pueden ser debidas a diferencias en el protocolo seguido para evaluar la motilidad (concentración de espermatozoides, diluyente o cámara de recuento celular utilizados), en el software utilizado o razas utilizadas, factores que influyen en las medidas obtenidas (Yeste et al., 2018). Tanto en fresco como en refrigerado los mayores coeficientes de variación aparecen en los porcentajes de espermatozoides vivos y los menores en el índice de rectitud y en el índice de oscilación (STR y WOB).

Muchos autores han resaltado la dificultad que representa proponer un análisis de laboratorio capaz de predecir la capacidad fecundante de las dosis debido al gran número de factores que influyen sobre este carácter (para una revisión, ver Graham y Mocé, 2005). Así, el uso de un número elevado de espermatozoides y la preselección de los eyaculados garantizan fertilidades elevadas pero enmascaran los eyaculados subfértiles.

Esto explica que los modelos y los efectos que más influyen sobre el carácter fertilidad varíen entre trabajos. Generalmente, se observan correlaciones entre alguna de las velocidades y la fertilidad. De entre todos los modelos estudiados en este trabajo, los mejores ajustes se obtuvieron con un modelo que incluía la sesión como efecto aleatorio y un solo efecto numérico, la velocidad curvilínea (VCL) del semen fresco o la velocidad media (VAP) (Tabla 2). En otras especies, VCL (en ovino, Santolaria et al., 2015) o VCL junto con MT y MP (en porcino, Broekhuijse et al., 2012) son las variables con mayor capacidad predictiva de la fertilidad. No obstante, en otros trabajos es VAP la que más se correlaciona con la fertilidad del semen criopreservado en caprino (Furstoss et al., 2010) y vacuno (Nagy et al., 2015) o semen refrigerado en ovino (Vicente-Fiel et al., 2014).

Es necesario destacar que muchos estudios no incluyen la sesión como efecto en los modelos de análisis. Nuestros resultados evidencian que este efecto, que es ambiental y difícil de controlar porque incluye múltiples factores, es el que más influye sobre la fertilidad. El predominio del efecto sesión, por tanto, complica todavía más el encontrar un análisis de laboratorio con capacidad predictiva de la fertilidad de las dosis de semen en granja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbas, J.P. 2018. *Cryobiology* 82: 137-147.
- Broekhuijse, M.L. et al. 2012. *J. Anim. Sci.* 90: 779-789
- Furstoss, V. et al. 2010. *Theriogenology* 74: 1197-1206.
- Graham, J.K. et al. 2005. *Theriogenology* 64: 492-504.
- Konyali, C. et al. 2013. *Cryobiology* 67:124-131.
- Martínez-Pastor, F. et al. 2011. *Theriogenology* 75: 783-795.
- Menchaca, A. 2007. *Reprod. Domest. Anim.* 42: 590-593.
- Nagy, Á. et al. 2015. *Acta Vet. Hung.* 63: 370-381.
- Santiago-

Moreno, J. et al. 2017. Anim. Reprod. Sci. 181: 141-150. • Santolaria, M.P. 2015. Anim. Reprod. Sci. 163: 82-88. • Vicente-Fiel, S. et al. 2014. Anim. Reprod. Sci. 146: 15-20. • Xu, C.L. et al. 2009. Reprod. Domest. Anim. 44: 771-778. • Yaniz, J.L. et al. 2018. Reprod. Fertil. Dev. 30: 799-809. • Yeste, M. et al. 2018. Reprod. Fertil. Dev. 30: 789-798.

Agradecimientos: INIA RTA2017-00049-C02-01 cofinanciado con fondos FEDER.

Tabla 1. Análisis descriptivo de calidad seminal en 62 eyaculados frescos y refrigerados (N = número de inseminaciones)

Variable	Unidades	Semen fresco					Semen refrigerado				
		Media	Max.	Min.	CV (%)	N	Media	Max.	Min.	CV (%)	N
IMP	%	67	92	26	20,4	449	55	84	17	25,6	449
MT	%	79	95	51	11,6	513	77	94	59	10,4	513
MP	%	63	81	39	15,3	513	62	82	36	13,8	513
VCL	µm/s	134	172	95	12,8	513	142	180	109	11,2	513
VSL	µm/s	117	153	81	14,4	513	121	155	87,2	12,8	513
VAP	µm/s	127	165	88	13,9	513	134	172	95,5	12,6	513
LIN	%	84	91	74	5,2	513	83	89	71	4,8	513
STR	%	89	94	82	3,2	513	88	93	81	3	513
WOB	%	93	96	86	3,0	513	93	96	84	2,9	513
ALH	µm	1,84	2,8	1,47	14,2	513	2,06	3,02	1,60	12,5	513
BCF	Hz	10,7	12,3	8,9	7,6	513	10,7	12,7	9,13	7,1	513

Tabla 2. Mejores modelos logísticos mixtos tras selección de variables de calidad seminal en semen fresco y refrigerado (N = 513 inseminaciones)

Modelos	E. Aleatorio*	Covarianza**	E. Numérico	P-Wald	AIC	BIC
Modelo 1	Sesión	0,4243	VAP fresco (µm/s)	0,0024	184,3	183,8
Modelo 2	Sesión	0,4370	VCL fresco (µm/s)	0,0020	184,9	184,4

*Sesión: jornada de preparación de dosis y de inseminación; **Covarianza: estimación de la varianza asociada al efecto aleatorio; P-Wald : Probabilidad del test chi-cuadrado de Wald. Valores menores de 0,05 indican que el coeficiente en el modelo es diferente de 0 con una probabilidad mayor del 95%; AIC: criterio de información de Akaike; BIC: criterio de información de Schwartz.

CORRELATION BETWEEN IN VITRO SPERM QUALITY PARAMETERS AND IN VIVO FERTILITY IN THE MURCIANO-GRANADINA GOAT BREED

ABSTRACT: We studied the relation between some in vitro sperm quality parameters and the in vivo fertility in goats from the Murciano-Granadina breed. Refrigerated semen doses were prepared from 13 bucks and were inseminated into 549 goats. Motility and sperm plasma membrane integrity (PMI) were evaluated in 62 fresh and refrigerated ejaculates by means of a computer-assisted motility analyzer system (CASA) and flow cytometry. The quality of the fresh ejaculates (79% total motile, 69% progressively motile and 67% PMI) and refrigerated doses (77% total motile, 62% progressively motile and 55% PMI) was high, and the average fertility at parturition was 59%. From all the models studied, the best adjustment was obtained with a model that included the session (of doses preparation and artificial insemination) as random and the curvilinear velocity of fresh semen (VCL) or average path velocity (VAP) as numerical effects. However, the session is the effect that mostly influences the fertility obtained. As this is an environmental effect including many factors and it is not easily controllable, finding a lab assay whose results highly correlate with the in vivo fertility is difficult.

Keywords: fertility; in vitro quality; CASA system; correlation.

RESPUESTA A UN ESTRÉS OXIDATIVO DE ESPERMATOZOIDES DE CAPRINO TRAS LA CONSERVACIÓN A 4°C DE DOSIS SEMINALES

Sadeghi¹, S., García-Colomer¹, B., Santolaria², P., Peris³, C., Pérez-Baena³, I., Gómez⁴, E.A., Yaniz², J. y Silvestre¹, M.A.

¹Universitat de València, ²Universidad de Zaragoza, ³Universitat Politècnica de València, ⁴Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias; miguel.silvestre@uv.es

INTRODUCCIÓN

La detección de machos infértiles es un parámetro muy importante para los centros de Inseminación Artificial o las explotaciones ganaderas. La movilidad espermática es uno de los parámetros más importantes y se correlaciona positivamente con la fertilidad. Sin embargo, no parece que un solo parámetro sea suficiente y el uso de modelos con múltiples parámetros es necesario para mejorar la predicción de la fertilidad o al menos para detectar los machos sub-fértiles (Yániz et al., 2018). Por otro lado, la citometría de flujo es una herramienta muy poderosa que nos permite evaluar diversos parámetros como viabilidad, despolarización de la membrana mitocondrial, fragmentación del ADN o peroxidación lipídica en miles de espermatozoides en un tiempo relativamente breve (Peña et al. 2018). Un nivel de oxidación excesiva de los espermatozoides estaría correlacionado negativa con la fertilidad (Chen et al., 2013). Sin embargo, recientemente, se ha observado en vacuno y equino, que la respuesta de los espermatozoides a la exposición de peróxido de hidrógeno (como factor oxidativo) estaba correlacionada positivamente con la fertilidad (r^2 : 0,24; Sellem et al., 2015, Barrier-Battut et al., 2016). El principio se basa en el hecho de que una oxidación moderada estaría implicada en el proceso de capacitación y su capacidad para fecundar (Sellem et al., 2015; Barrier-Battut et al., 2016). En caprino, no se ha estudiado como se comporta este parámetro y si tiene cierta relación con la fertilidad, o con otros parámetros más estudiados. Las pruebas de fertilidad in vivo tienen un coste elevado y se prolongan en el tiempo. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo consistirá en estudiar como afecta la conservación de las dosis seminales conservadas a 4°C a los parámetros de movilidad y la tasa de oxidación tras someterlos a un tratamiento de H₂O₂.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras de semen: Los eyaculados se obtuvieron de 5 machos de la raza Murciano-Granadina mediante vagina artificial. Una vez en el laboratorio se evaluó la movilidad espermática y el estado de oxidación e integridad de membrana de los espermatozoides. Se conservaron a 4°C las muestras diluidas en medio compuesto por leche desnatada suplementado con glucosa durante 24 y 48h.

Movilidad espermática: Las muestras espermáticas se diluyeron en Tris-BSA-cítrico-glucosa a una concentración de 15-20 × 10⁶ espermatozoa/mL y se evaluó la movilidad utilizando el sistema CASA-mot (ISAS® v1.2, Proiser). Para este estudio se registró el % de espermatozoides móviles totales y de progresivos.

Oxidación y viabilidad de los espermatozoides (Sellem et al., 2015): El nivel de ROS intracelular se midió con el Easykit 3 (Ref. 025157; IMV Technologies). Unas muestras espermáticas incubaron en 200 µl de PBS en la placa con los fluorocromos durante 20 min a 37°C. Respuesta a un estrés oxidativo: Tras la incubación se suplementó con 2 µl de H₂O₂ a 39 mM y se incubó durante 10 minutos a 37°C, después se centrifugaron durante 5 minutos a 300 g, se resuspendió el pellet y se analizó el nivel de especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelular. El nivel de ROS y la prueba de integridad de la membrana se evaluaron utilizando un citómetro de flujo BD LSRFortessa en el SCSIE (Universitat de València). Contiene 3 láseres: amarillo-verdoso 561 nm, amarillo 586/15 nm y verde 530/30 nm. Los resultados se expresaron en 4 grupos: espermatozoides con ROS elevada o no (ROS+ o ROS-), y espermatozoides con la membrana intacta o dañada (viables o no viables). Se evaluaron un mínimo de 3000 células / réplica y grupo.

Análisis estadísticos: Los resultados tanto de movilidad como el nivel de ROS se analizaron utilizando un GLM binomial con un modelo con 1 factor (tiempo de conservación a 5°C: 0h, 24h y 48h) (SPSS). Una probabilidad de p <0,01 se consideró estadísticamente diferente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como era de esperar, se observa un descenso en los parámetros de motilidad total de los espermatozoides conforme se incrementaba el tiempo de conservación refrigerada ya desde las primeras 24h (%Spz Mvl; Tabla 1). Sin embargo, los espermatozoides móviles conservan la progresividad durante más tiempo. También se observa de manera similar un descenso de la viabilidad a lo largo de la conservación refrigerado. Respecto al parámetro que queríamos estudiar, observamos que la disminución se producía de forma similar a la movilidad y a la viabilidad de los espermatozoides. Para distinguir el efecto del estrés oxidativo del descenso de la viabilidad, calculamos el % de los ROS+ sobre los espermatozoides viables observando que también que los espermatozoides viables frescos tenían valores más elevados de ROS+ que los espermatozoides viables conservados tanto a 24h como a 48h (83% vs. 67-58% para %Spz Vi-Ros+/vi a 0h y 24-48h de conservación; Tabla 1; $P < 0,01$). Es muy difícil encontrar un solo parámetro que explique suficiente variación de la fertilidad, lo habitual es encontrar un modelo con diversos parámetros implicados. Por lo tanto, el parámetro de respuesta a la oxidación puede ser un parámetro que nos dé información adicional a los parámetros que hasta la fecha se venían estudiando en espermatozoides de caprino. En futuros trabajos habría que estudiar su correlación con la fertilidad in vivo.

Tabla 1. Efecto de la conservación a 5°C sobre la movilidad total, progresiva, viabilidad y respuesta un estrés oxidativo en espermatozoides de caprino.

TIEMPO	%Spz Mvl	%Spz Progr	%Spz Progr/Mvl	%Spz Vi	%Spz Vi-Ros+	%Spz Vi-Ros+/vi
0 h	69 ± 0,8 ^a	65 ± 0,8 ^a	94 ± 0,5 ^a	72 ± 0,5 ^a	59 ± 0,3 ^a	83 ± 0,3 ^a
24 h	38 ± 0,9 ^b	35 ± 0,9 ^b	92 ± 0,8 ^a	48 ± 0,5 ^b	32 ± 0,3 ^b	67 ± 0,4 ^b
48 h	13 ± 0,6 ^c	11 ± 0,6 ^c	81 ± 2,1 ^b	29 ± 0,5 ^c	17 ± 0,2 ^c	58 ± 0,6 ^c

%Spz Mvl.: Tasa de espermatozoides móviles respecto al total. %Spz Progr.: Tasa de espermatozoides móviles respecto al total. %Spz Progr/Mvl: Tasa de espermatozoides progresivos respecto a los móviles. %Spz Vi: Tasa de espermatozoides viables respecto al total. %Spz Vi-Ros+: Tasa de espermatozoides viables con elevado ROS respecto a los totales. %Spz Vi-Ros+/vi: Tasa de espermatozoides viables con elevado ROS respecto a los viables

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barrier-Battut et al., 2016. Development of a new fertility prediction model for stallion semen, including flow cytometry. *Theriogenology* 86: 1447-1454.
- Chen et al., 2013. Influence of reactive oxygen species on human sperm functions and fertilizing capacity including therapeutical approaches. *Arch Gynecol Obstet* 288:191-199
- Peña et al. 2018. Flow cytometry analysis of spermatozoa: Is it time for flow spermetry?. *Reprod Domest Anim* 53 Suppl 2: 37-45.
- Sellem et al., 2015. Use of combinations of in vitro quality assessments to predict fertility of bovine semen. *Theriogenology* 84: 1447-1454.
- Yániz et al., 2018. CASA-Mot in mammals: an update. *Reprod Fertil Dev* 30:799-809.

Agradecimientos: Financiado por RTA2013-00107-C03-03 y AGL2017-85030-R.

RESPONSE TO OXIDATIVE STRESS OF GOAT SPERMATOZOA STORED AT 4°C

ABSTRACT: The detection of infertile males is a very important point for AI centers or livestock industries. Recently, it was observed in cattle and horses, that the response of spermatozoa to exposure of hydrogen peroxide was positively correlated with fertility. No information about this parameter was found in goat species. The objective of this work was to study the effect of the storage of goat seminal doses at 4°C on several parameters such as sperm motility and oxidation rate after submitting the sample to treatment with H₂O₂. It was observed viable sperm at 0h had higher ROS+ values than viable sperm preserved at both 24 and 48 h after exposure of hydrogen peroxide.

Keywords: oxidative stress, motility, spermatozoa, goat

EFFECTO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO RECOMBINANTE DE CONEJO (rr β NGF) EN LA DOSIS SEMINAL SOBRE LA RESPUESTA HIPOFISARIA Y REPRODUCTIVA EN CONEJAS NULÍPARAS

Sánchez-Almánzar, V.¹ Sánchez-Rodríguez, A.², Velasco, B.¹, Arias-Álvarez, M.³, Millán, P.², Cediel R.⁴, Lorenzo P.L., García-García, R.M.², Rebollar, P.G.¹

¹Dpto. Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, ²Dpto. Fisiología, Facultad de Veterinaria, UCM.³Dpto. Producción Animal, Facultad de Veterinaria, UCM, ⁴Dpto. de Medicina Animal, Facultad de Veterinaria, UCM
pilar.grebollar@upm.es

INTRODUCCIÓN

El conejo es una especie de ovulación inducida, en la que los estímulos sensoriales y neuroendocrinos parecen actuar en conjunto para inducir una oleada preovulatoria de LH (Barbe et al., 1973). En el caso de conejas inseminadas artificialmente (IA), la ovulación se suele inducir con una inyección intramuscular de análogos de GnRH (Rebollar et al., 1997). La tendencia, en la actualidad, es reducir todo lo posible la manipulación de la hembra y el gasto de consumibles (agujas y jeringuillas) en el momento de la IA. Una alternativa para esto podría ser la utilización de la neurotrofina β -NGF, que actúa como factor inductor de ovulación en camélidos (Ratto et al., 2013), incluida en la dosis seminal. Dado que recientemente hemos sintetizado la proteína recombinante de conejo (rr β NGF) (Sánchez-Rodríguez, 2018), el objetivo del presente trabajo ha sido evaluar el efecto de este factor incluido en la dosis seminal, sobre la liberación de LH hipofisaria y la fertilidad en conejas nulíparas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Inicialmente se recolectó semen con vagina artificial de machos propios de la granja experimental de la E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Se hizo un *pool* con los mejores eyaculados y se diluyó a una concentración de 1:5 en un diluyente comercial (Inserbo S.L, Huesca, España). Los animales utilizados fueron 25 conejas nulíparas (Nueva Zelanda x California) con un peso promedio de 4 kg, que se alojaron en jaulas individuales mantenidas bajo un fotoperíodo constante de 16 h luz / 8 h oscuridad, 20–22° C de temperatura y una humedad relativa entre 60–75%.

Las hembras fueron seleccionadas al azar e inseminadas por vía intravaginal con cánulas de vidrio de un solo uso, distribuyéndose en 3 grupos experimentales: 1) grupo SA+NGF (n=9), sedadas vía i.m (0,15 ml de medetomidina + 0,4 ml de ketamina + 0,15 ml de midazolam) y anestesiadas vía epidural (1 ml de lidocaína al 2%) para eliminar el estímulo mecánico, e inseminadas con una concentración de 1 μ g/ml de rr β NGF en la dosis seminal, 2) grupo NGF (n=8), hembras que fueron inseminadas con la misma concentración de rr β NGF en la dosis seminal pero sin sedación ni anestesia, y 3) grupo SD (n=8), inseminadas sin rr β NGF en la dosis seminal, y sin sedación ni anestesia.

Se tomaron 5 muestras de sangre de la arteria central de la oreja, a las 0h (momento de la inseminación), 1, 2, 3 y 4h post-inseminación en tubos con EDTA, que se centrifugaron (3.500 r.p.m., 10 minutos), y el plasma obtenido se congeló a -20° C. Las concentraciones de LH plasmáticas se analizaron mediante un ELISA de competición (Rebollar et al., 2012). El día 10 post-IA se diagnosticó la gestación con una palpación abdominal y el día del parto se controló el número de nacidos vivos y muertos, así como el peso de los gazapos. El experimento se realizó cumpliendo la normativa sobre el empleo de animales de experimentación de la Comunidad de Madrid (PROEX 302/15) según el DR53/2013.

Los resultados de fertilidad fueron analizados con una χ^2 (proc CATMOD), la prolificidad y el peso de los gazapos al nacimiento se sometieron a un análisis de varianza (proc GLM) considerando el tratamiento con rr β NGF como efecto principal. Las concentraciones plasmáticas de LH se analizaron en las conejas preñadas con un análisis de medidas repetidas (proc MIXED) considerando el efecto del tratamiento, el tiempo (0, 1, 2, 3 y 4h) y su interacción, (SAS, 2009). Las medias se compararon con un test *t* y se consideraron estadísticamente diferentes cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sólo se observó respuesta hipofisaria en las conejas de los grupos NGF y SD (figura 1), en los cuales las concentraciones plasmáticas de LH fueron similares para las hembras que ovularon de ambos grupos ($P=0,6890$). No obstante, el pico preovulatorio de LH se retrasó, ya que según Rebollar et al. (2012), este pico en conejas se alcanza a los 60 minutos post-IA e inyección de GnRH, mientras que en este experimento, se alcanzó a los 120 minutos de la IA. Estos datos concuerdan con los observados en camélidos por Adams et al. (2016), donde el pico de LH también se retrasó a 180 minutos post-IA, pero se desconoce la causa, ya que el mecanismo de acción del NGF aún no se ha sido completamente determinado.

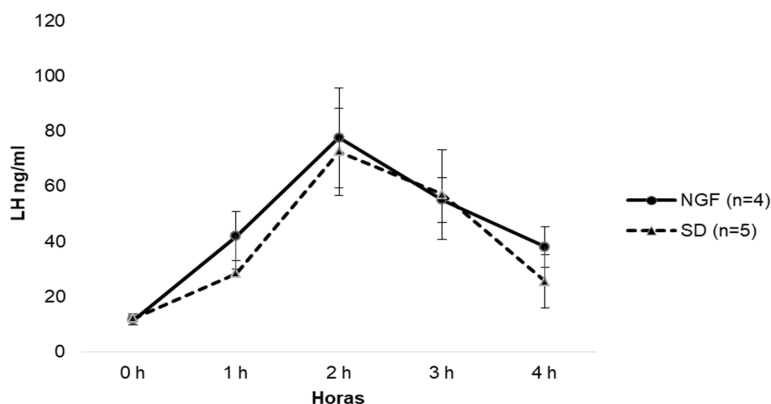


Figura 1. Resultados (media \pm error estándar) de las concentraciones plasmáticas de LH de conejas inseminadas con $rr\beta$ NGF incluido (NGF) o no (SD) en la dosis seminal.

Como podemos observar en la tabla 1, en el grupo SA+NGF, no se detectó gestación alguna tras la palpación, y en los otros dos grupos la fertilidad fue estadísticamente similar ($P>0,05$). Sin embargo, las conejas del grupo NGF parieron 2 gazapos nacidos vivos más que las del grupo SD, ($P=0,0446$), y esto se debe a que una hembra de este último grupo perdió casi la totalidad de la camada en el momento del parto. En cambio, el número de nacidos muertos y el peso medio de los gazapos no resultó diferente estadísticamente ($P>0,05$). Sería necesario aumentar el tamaño de la muestra e incluir hembras de diferentes edades o número de partos para comprobar estos resultados, ya que en este caso se trata de hembras nulíparas en las que los problemas en torno al parto son más comunes y, al azar, se han podido concentrar en uno de los grupos.

Tabla 1. Resultados reproductivos (media \pm error estándar) de conejas inseminadas con $1\mu\text{g/ml}$ de $rr\beta$ NGF en la dosis seminal, previa sedación y anestesia (SA+NGF), sin previa sedación ni anestesia (NGF), y con semen diluido sin $rr\beta$ NGF (SD).

Parámetros	SA+NGF ¹	NGF	SD	Valor de P
n	9	8	8	
Fertilidad (%)	-	50	62,5	0,6115
Nacidos vivos	-	11,5 \pm 0,5	9,2 \pm 0,71	0,0446
Nacidos muertos	-	0,25 \pm 0,25	1,6 \pm 1,1	0,3307
Peso gazapo (g)	-	63,3 \pm 5,35	65,2 \pm 8,0	0,8567

¹En este grupo no quedó ninguna hembra preñada

Los porcentajes de fertilidad obtenidos concuerdan con los publicados por Maranesi et al. (2018), que obtuvieron un 66,7% de conejas ovuladas que atribuyen, en su caso parcialmente,

al NGF incluido en el plasma del semen puro con el que las conejas fueron inseminadas. Asimismo, el porcentaje de ovulación en el presente trabajo es mayor que el obtenido con NGF de origen murino por vía i.m. (17%) (García-García et al., 2018).

En nuestro caso, el hecho de que la respuesta hipofisaria y reproductiva fueran similares en el grupo inseminado con rr β NGF y en el que sólo se inseminó con el semen diluido, no nos permite atribuir un efecto claro de la dosis empleada de rr β NGF en este experimento (1 μ g/ml) sobre la ovulación. También es conveniente indicar que las conejas de estos grupos, que no se sedaron ni anestesiaron, estuvieron sometidas a una manipulación para la extracción de sangre cada hora durante 4h, y además, eran animales jóvenes no habituados a este manejo continuado.

Por otro lado, en el grupo de conejas sedadas y anestesiadas por vía epidural no se observó respuesta, a diferencia de las conejas que solo se anestesiaron vía epidural por Maranesi et al. (2018), las cuales ovularon en un 16,7%. Esto puede ser debido a que el sistema nervioso de las conejas de nuestro estudio se bloqueó completamente debido a la sedación previa y se inhibió el posible efecto del rr β NGF por vía nerviosa, lo que indicaría también que el factor no estaría llevando a cabo un efecto por vía local.

En conclusión, es necesario realizar más experimentos, ya que no se puede distinguir el efecto del rr β NGF aplicado en la dosis seminal sobre la respuesta hipofisaria, del estrés causado a los animales en la toma de muestras, en las que se prevé realizar un análisis de cortisol y corticosterona.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams G.P., et al., 2016. *Reprod Domest. Anim. Suppl* 2: 4-17
- Barbe D.L., et al., 1973. *Endocrinology*. 92:1318-1321.
- García-García R.M., et al., 2018. *Italian Journal of Animal Science*, 17:2, 442-453.
- Maranesi M., et al., 2018. *Biol Reprod* 98,634-643
- Ratto et al., 2012. *Proc. Nat. Acad. Sc. USA* 109: 15042-15047
- Rebollar P.G., et al. 1997. *Rev Esp Fisiol*. 53:205–210.
- Rebollar P.G. et al. 2012. *Theriogenology*. 292-298.
- Sánchez-Rodríguez A. 2018. Tesis Doctoral. UCM.

Agradecimientos: Proyecto CICYT AGL-2015 65572.

EFFECT OF RABBIT RECOMBINANT NERVE GROWTH FACTOR (RRBNGF) IN THE SEMINAL DOSE ON THE PITUITARY RESPONSE AND FERTILITY IN NULLIPAROUS RABBIT DOES

ABSTRACT: In this study the effect of the recombinant neurological growth factor was evaluated studying the pituitary and reproductive response of inseminated rabbit does. Plasma LH concentration and reproductive parameters (fertility and prolificacy) of the females were analyzed. Twenty-five nulliparous does were divided into 3 groups: 1) SA + NGF group (n=9), sedated, anesthetized (epidural), and inseminated with rr β NGF in the seminal dose, 2) NGF group (n=8), inseminated with rr β NGF included in the seminal dose, and 3) SD group (n=8), were inseminated with only diluted semen. In the group SA + NGF, none of the animals resulted pregnant, unlike the other two groups that resulted in around 50%. There were no statistically significant differences between NGF and SD groups in the LH pre-ovulatory surge, stillbirths and body weight of the live born rabbits. In contrast, there was a difference in the number of live born, having the NGF group the best results. The effect on the pituitary response of the rr β NGF added in the seminal dose can not be distinguished from the possible stress caused to the animals in the sampling. In conclusion, further studies with a more representative sample size should be performed in order to verify these results.

Keywords: *reproduction, ngf, rabbits, ovulation.*

RELACIÓN ENTRE LOS DATOS OBTENIDOS POR ECOGRAFÍA TESTICULAR Y LA CALIDAD SEMINAL EN SEMENTALES OVINOS: RESULTADOS PRELIMINARES

Carvajal-Serna¹, M., Santorromán, M.J.¹, Barale, J.¹, Macías, A.^{1,3}, Quintín, F.⁴, Abecia, J.A.², Casao, A.¹ y Pérez-Pé, R.¹.

¹Dpto. Bioquímica y Biología Molecular y Celular y ²Dpto. PACA (grupo BIOFITER), Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Facultad de Veterinaria, Zaragoza. España.

³Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de Raza Rasa Aragonesa (ANGRA). Cabañera Real s/n 50800 Zuera (Zaragoza).

⁴Centro de Transferencia Agroalimentaria
Email: melissac@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La ecografía testicular se ha revelado como una valiosa técnica no invasiva para evaluar el parénquima testicular, así como posibles patologías genitales en varias especies domésticas de interés veterinario, incluida la especie ovina (Gouletsou *et al.*, 2003). El tejido testicular presenta una alta actividad metabólica y por tanto es muy sensible a la disminución de su suministro nutritivo, que es aportado, principalmente, por medio de la arteria testicular. Varios investigadores han demostrado una asociación entre el flujo sanguíneo testicular y la calidad seminal en varias especies (Batissaco *et al.*, 2013; Hedia *et al.*, 2018). Como parte de un proyecto de investigación vigente, nos planteamos evaluar el potencial de la ecografía testicular junto con el análisis de imágenes con un software específico (Ecotext) para analizar cambios en el parénquima de los sementales ovinos sin necesidad de biopsia o análisis postmortem de los animales. Como primera aproximación se planteó el análisis ecográfico de un número suficiente de moruecos para establecer si los valores de referencia de la casa comercial del Ecotext eran válidos para la especie ovina. Además, se incluyeron en el estudio los datos relativos al flujo sanguíneo de la arteria testicular proporcionados por el ecógrafo en modo Dópler. Se obtuvieron muestras seminales y se estudió la relación de los parámetros proporcionados por el Ecotext y por el eco-dópler con determinados parámetros de calidad seminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron ecografías testiculares y eco-dópler de las arterias testiculares utilizando un ecógrafo Exago y una sonda de 7,5 MHz, a un total de 22 moruecos, de edades comprendidas entre 1 y 10 años, pertenecientes a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de Raza Rasa Aragonesa (ANGRA). Parte de ellos estaban estabulados en la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, y parte en el CENSYRA de Movera. Para la valoración de la estructura testicular se utilizó el software Ecotext (de Humeco) que consigue medir estructuras microscópicas y proporciona valores de 6 parámetros: 3 de ellos relacionados con la luz de los túbulos seminíferos (% área, diámetro medio en μm y densidad) y los otros 3 con el número de pixels negros (ECOTEXT 1, Ec1), blancos (ECOTEXT 2, Ec2) o grises (ECOTEXT 3, Ec3). Mediante eco-dópler se obtuvieron los índices de pulsatilidad (IP) y de resistencia (IR).

Se obtuvo semen de 12 de los machos del estudio estabulados en la facultad de Veterinaria mediante vagina artificial el mismo día de las ecografías, 1 vez al mes durante 4 meses durante la estación reproductiva. Se analizó la concentración por recuento en cámara de Neubauer, la motilidad total (MT) y progresiva (MP) usando un sistema CASA (PROISER) y la viabilidad mediante la doble tinción de fluorescencia con CFDA y yoduro de propidio (PI) y citometría de flujo. El estudio morfométrico (tinción eosina-nigrosina) incluyó la valoración de espermatozoides normales, con cabeza suelta, cola enrollada o doblada y presencia de gota citoplásmica proximal o distal. La valoración del estado de capacitación se llevó a cabo mediante la tinción con clorotetraciclina (CTC) (Gillan *et al.*, 1997). El daño en el DNA se estudió mediante la técnica TUNEL (Li y Darzynkiewicz, 1995) usando el kit "In situ cell death detection kit, fluorescein" (Roche) mediante citometría de flujo. La inversión de fosfaditilserina (PS) en la cara externa de la membrana espermática se evaluó usando anexina, junto con yoduro de propidio para diferenciar espermatozoides vivos y muertos con o sin inversión de PS.

Los niveles de especies oxígeno reactivas (ROS) en los espermatozoides se determinaron por tinción con H₂DCFDA y PI (Guthrie, 2006) mediante citometría de flujo, diferenciando entre vivos y muertos con altos o bajos niveles de ROS.

La relación entre los parámetros de calidad seminal y los valores ecográficos se analizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson usando el software SPSS 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos proporcionados por el software Ecotext tras las ecografías testiculares y los índices de pulsatilidad y resistencia del eco-dópler correspondientes a los 22 machos evaluados se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores de los parámetros proporcionados por el software Ecotext tras ecografía testicular y valores de eco-dópler. Comparación con los valores publicados para otras especies (Humeco, Manual de uso de Ecotext)

Valores ecógrafo	Valores obtenidos (n=96)				Límites de referencia publicados para otras especies (Ecotext)
	MEDIA	S.E.M.	mínimo	máximo	
% área	8,67	0,25	4,00	14,80	6-15
Diámetro medio (µm)	106,0	1,46	79,95	149,4	90-150
Densidad	144,9	1,78	92,54	176,1	Min 155
Ecotext 1 (Ec1)	22,79	2,11	0,0	103,0	Min 1
Ecotext 2 (Ec2)	165,70	15,41	5,0	597,0	Max 30
Ecotext 3 (Ec3)	100,20	0,82	78,88	116,0	70-100
Valores Ecodópler					
Índice Pulsatilidad (IP)	0,84	0,02	0,16	2,27	
Índice Resistencia (IR)	0,54	0,00	0,14	0,99	

Los valores de referencia publicados en el manual de uso de Ecotext son cifras orientativas sobre el rango en el que debe estar situado un resultado ECOTEXT para ser considerado dentro de lo normal o fisiológico. Fuera de estos rangos, el valor puede estar indicando una anomalía de la función espermatogénica, mayor cuantos más parámetros están fuera de rango. Si atendemos a estos valores de referencia, de los 22 moruecos analizados, todos ellos presentan al menos algún valor fuera de rango para los 2 testículos: 10 de ellos, 1 valor fuera; 7, 2 valores fuera y 5, 3 valores fuera. Los parámetros se encuentran fuera de rango son Ec2 (para 17 machos), densidad (para 15) y Ec3 (para 7). Dado que los valores de referencia fueron obtenidos tras el análisis testicular de verracos, es posible que estas cifras no sean válidas para la especie ovina, especialmente Ec2, con valores mucho más altos, y la densidad de los túbulos seminíferos, con valores inferiores.

Los valores mínimos de IP e IR coinciden con los publicados por Hedia *et al.* (2019) para moruecos, aunque los máximos del presente estudio son ligeramente mayores.

Al analizar estadísticamente la relación entre los parámetros proporcionados por el software Ecotext y la calidad seminal, se encontraron algunas correlaciones significativas que se recogen en la Tabla 2.

La densidad de túbulos en el testículo correlacionó negativamente con el porcentaje de espermatozoides que presentan translocación de PS en su membrana (parámetro que suele relacionarse con un proceso apoptótico) y con gota citoplásmica proximal. Contrariamente, el área tubular y Ec3 mostraron una correlación positiva con anomalías morfológicas, en este caso, existencia de cabezas sueltas. Otros trabajos basados en análisis de imágenes ecográficas han relacionado la heterogeneidad de los píxeles con anomalías morfológicas en ovino (Ahmadi *et al.*, 2012). Ec2 correlacionó positivamente con la concentración, así como con el porcentaje de espermatozoides no capacitados, y con altos niveles de ROS. Además, es interesante señalar que la densidad mostró una correlación significativa con la edad de los animales. En cuanto a los valores del eco-dópler, IP e IR correlacionaron positivamente con el área ($r=0,43$ y $0,44$, respectivamente, $P < 0,01$) y la densidad de los túbulos ($r = 0,45$ y $0,46$,

respectivamente, $P < 0,01$) pero no se halló ninguna correlación con los valores de calidad seminal.

Tabla 2. Coeficiente de correlación de Pearson (y significación) entre parámetros proporcionados por el software Ecotext tras ecografía testicular con la edad y algunos parámetros de calidad seminal ($n=30$).

	Edad (años)	Conc. (10 ⁹ cel/mL)	M.P.	Viables /ann – (%)	Ann + (%)	ROS + (%)	NC (%)	C (%)	RA (%)	Cab. suelta (%)	Gota prox (%)
Densidad	,419 (,074)		,272 (,094)		-,348 (,032)						-,543 (,002)
% área									,395 (,014)	,445 (,014)	
Ecotext 2		,334 (,038)				,384 (,016)	,385 (,017)	-,348 (,032)			
Ecotext 3		,371 (,020)		-,354 (,029)						,647 (,000)	

M.P: motilidad progresiva; ann: anexina; NC: no capacitados; C: capacitados y RA: reaccionados.

A la vista de estos resultados preliminares se hace necesario un estudio con mayor número de animales para establecer unos valores de referencia válidos para sementales ovinos en relación con la calidad seminal y la fertilidad obtenida con las dosis seminales de esos sementales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Ahmadi, B. et al, 2012. Exp. Biol. Med. 237: 186-193 • Batissaco, L. et al., 2013. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 50:384-395 • Gillan, L. et al., 1997. Rep. Fertil. Dev. 9:481-487. • Gouletsou P.G. et al., 2003. Theriogenology 59:1959-1972. • Guthrie, H.D. & Welch, G.R., 2006. J. Anim. Sci. 84:2089-2100. • Hedia, M.G. et al., 2018. Theriogenology 123: 68-73. • Li X & Darzynkiewicz Z., 1995. Cell Prolif. 28:571-579. • **Agradecimientos: AGL2017-83799-R, DGA-A07_17R y IUCA.**

RELATIONSHIP BETWEEN TESTICULAR ULTRASONOGRAPHY DATA AND SPERM QUALITY IN RAMS: PRELIMINARY RESULTS

ABSTRACT: Ultrasonography has proved to be a non-invasive technique for evaluating testicular parenchyma in several domestic species, including ovine. The aim of this study was evaluated the potential of ultrasonography along with specific software for image analysis (Ecotext), to follow changes in the parenchyma without a biopsy or postmortem analysis. As a first approximation, a sufficient number of rams were subjected to ultrasonography to establish if the reference values provided by the Ecotext supplier were valid for rams. In addition, data related to the blood flow of the testicular artery provided by Doppler-mode were included in the study. Fresh semen samples were obtained, and the relationship of the Ecotext parameters and testicular blood flow with sperm quality parameters was studied. The obtained values of Ec2 and density of seminiferous tubules were out of range for all the animals analyzed. Taking into account that these are preliminary results, we found that some of the ultrasonography parameters correlated with morphological alterations, capacitation status, ROS levels or the age of the animals. A study with a larger number of animals is necessary to establish valid reference values for rams in relation to the sperm quality and the fertility obtained with the seminal doses.

Keywords: Blood flow, Doppler, Ecotext, Testicular tissue.

EFFECTO DE LA L-CARNITINA EN UN DILUYENTE A BASE DE LECHE DESNATADA EN LA PRESERVACIÓN DE MEMBRANAS Y DE LA ACTIVIDAD CINÉTICA DE ESPERMATOZOIDES DE MORUECO EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN

Galarza^{1,2}, D.A., López-Sebastián², A., y Santiago-Moreno¹, J.

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca. Avd. 12 de Octubre y Menéndez y Pelayo. EC010201. Cuenca. Ecuador. ² Dpto. Reproducción Animal, INIA. Avd. Puerta de Hierro s/n. Km 5,9. 28040. Madrid. España. dgalarza@uclm.es

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) cervical en ovejas con semen refrigerado es la tecnología reproductiva más común usada actualmente en programas de mejora genética ovina. Estudios anteriores sugieren que los diluyentes a base de leche desnatada (UHT) y yema de huevo proporcionan una mejor protección y supervivencia espermática cuando el semen de morueco es almacenado en frío hasta por 72 h. Sin embargo, según se incrementa el tiempo de almacenamiento, disminuye el vigor cinético, la integridad de las membranas espermáticas (O'Hara et al., 2010) y la fertilidad (Gil et al., 2011). En este sentido, son requeridos nuevos aditivos para mejorar la supervivencia espermática y el vigor cinético en condiciones de refrigeración. La L-carnitina (LC) es un aminoácido que se encuentra concentrado dentro del epidídimo y espermatozoides, así como en el fluido seminal del eyaculado (Bøhmer et al., 1978). Varios estudios *in vitro* han evidenciado que la LC potencia la motilidad de espermatozoides humanos y además posee un efecto crioprotector. Por otro lado, reportes previos realizados en humanos y animales (por ejemplo, toro, caballo y cerdo) han sugerido que la LC desempeña un papel protector contra las especies reactivas de oxígeno (ROS) al ejercer propiedades antioxidantes. Por lo tanto, esta investigación se centró en evaluar el efecto de diferentes concentraciones de LC sobre el vigor cinético e integridad de membranas de espermatozoides de morueco almacenados refrigeración por un largo período.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un diluyente de base no sintética (UHT) fue elaborado añadiendo leche desnatada, antibióticos (100000 UI penicilina sódica y 100 mg de dihidroestreptomycin/100ml) y yema de huevo 6% (v/v) para la evaluación de semen de morueco almacenado en refrigeración. El diluyente UHT (289-310 mOsm/Kg y 7,2 pH) fue centrifugado a 4000 X g por 30 min y filtrado (tamaño poro 0,45 μ m). El diluyente UHT fue suplementado con 5 dosis crecientes de L-carnitina (8.40092, Sigma): 1mM (UHT-LC1), 2,5mM (UHT-LC2,5), 5mM (UHT-LC5), 7,5mM (UHT-LC7,5) y 10mM (UHT-LC10).

Este experimento incluyó doce carneros Merinos españoles (3 a 9 años de edad), alojados en el Departamento de Reproducción Animal (Madrid, España, 40°25'N) bajo las mismas condiciones de manejo y alimentación. Los animales fueron manipulados de acuerdo a los procedimientos aprobados por el comité de Ética de INIA y la política española de protección animal (RD53/2013). Treinta y seis eyaculaciones de semen (tres eyaculados por carnero, colectados semanalmente) fueron recogidos mediante vagina artificial y agrupados mezclando 3 eyaculados (pools) designados al azar. Después de su evaluación inicial, cada agrupación de eyaculado (n=12 cada una) fue dividido en 6 alícuotas suficientes para ser diluidas con UHT (control) y con las cinco dosis de LC a una concentración de 200×10^6 céls/ml. Las muestras fueron almacenadas a 5°C hasta por 96 h y evaluadas sus parámetros cinéticos mediante sistema CASA (SCA, Microptic S.L., Barcelona, España) e integridad de las membranas espermáticas (plasmática / acrosomal / mitocondrial) mediante la triple asociación de sondas fluorescentes (IP/FITC-PNA/Mitotracker Green). Los resultados fueron expresados como promedios y error estándar de la media y analizados mediante un ANOVA de una vía y la prueba Bonferroni de comparación múltiple.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra que los valores obtenidos de motilidad total (MT,%), velocidad lineal (VSL, μ m/s) y el total espermatozoides con membranas plasmática y acrosomal íntegras y alta función mitocondrial (IPIAHM, %) fueron mayores (P<0,05) con todas las dosis LC (1mM a 10mM) que el grupo control. Se observó una disminución progresiva de las diferentes

variables espermáticas estudiadas según se incrementaba el tiempo de almacenamiento en refrigeración; no obstante, la suplementación de LC al diluyente UHT mostró valores más altos en esos parámetros a las 48 h ($P<0,01$) y 96 h ($P<0,001$) de almacenamiento con respecto al grupo control. Además, el grupo UHT-LC5 mostró un porcentaje de MT más alto ($P<0,05$) que el control y UHT-LC10 a las 96 h, y un porcentaje de MP más alto que el grupo control a las 48 y 96 h de almacenamiento. El grupo UHT-LC7,5 mostró una VSL superior ($P<0,05$) que el resto de grupos de LC a las 96 h de almacenamiento.

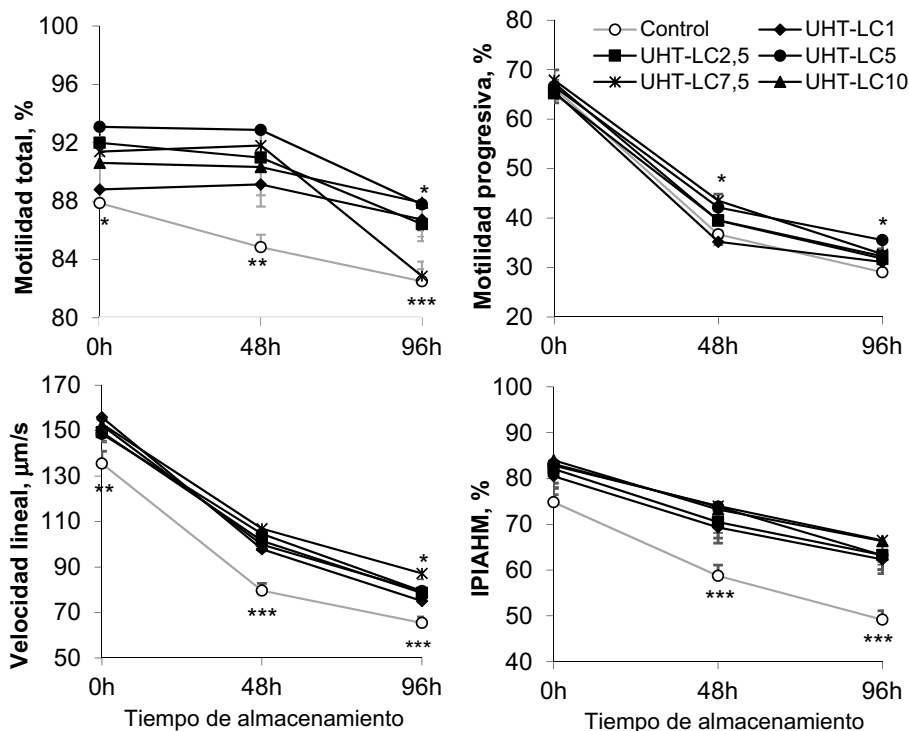


Figura 1. Motilidad total (%) y progresiva (%), velocidad lineal ($\mu\text{m/s}$) e integridad de las membranas plasmáticas / acrosomal / mitocondrial (IPIAHM,%) de espermatozoides de carnero diluidos en leche desnatada UHT (adicionada yema de huevo 6%) y suplementada con dosis de L-carnitina.

La L-carnitina desempeña un importante papel en el transporte de ácidos grasos de cadena larga a las mitocondrias para la β oxidación que produce la energía (ATP) necesaria para que las células funcionen correctamente. De esta manera la LC proporciona energía fácilmente disponible para su uso, que afecta positivamente la motilidad espermática, maduración y espermatogénesis. Reportes previos han demostrado que la LC provocó un aumento significativo en el porcentaje de motilidad en espermatozoides de ratón (Aliabad et al., 2010) y de toro (Hufana-Durán et al., 2017). Asimismo, la LC facilitó el almacenamiento de los espermatozoides de caballo a temperatura ambiente hasta por 72 h al apoyar la producción mitocondrial de ATP, al tiempo que minimiza el agotamiento de ATP y los efectos dañinos de los subproductos metabólicos como los radicales libres (Gibb et al., 2015). Los resultados del presente estudio sugieren que una suplementación de LC a una concentración de 5mM al diluyente a base de leche desnatada, proporciona un efecto sinérgico sobre la motilidad y velocidad rectilínea a las 96 h de almacenamiento, que podría estar determinado por una

mayor producción de ATP. Estas características son deseables y requeridas en una IA cervical para cruzar la barrera cervical.

El efecto antioxidante de la LC se atribuye a su acción contra la producción de ROS como resultado de un mecanismo de reparación mediante el cual se elimina la acetil-coenzima A (acetil-CoA) tóxica intracelular elevada y/o se reemplazan los ácidos grasos en los fosfolípidos de membrana (Vicari y Calogero, 2001). La suplementación con L-carnitina al diluyente de semen de búfalo mejoró significativamente sus características y protegió su membrana plasmática y la integridad funcional mitocondrial (El-Raey et al., 2016). Los resultados sugieren que la mayor integridad de las membranas plasmática, acrosomal y mitocondrial, cuando el semen es refrigerado por 48 y 96 h, podría ser determinado por el efecto antioxidante de la LC que disminuiría el proceso de peroxidación de membranas. En conclusión, la L-carnitina mejora el vigor cinético y proporciona un efecto protector antioxidante a las membranas de los espermatozoides de morueco almacenados en condiciones de refrigeración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aliabadi, E., Soleimani, M., Borzoei, Z., Talaei-Khozani, T., Mirkhani, H. & Tabesh, H. 2012. Iran J Reprod Med. 10(2):77-82.
- Bøhmer, T., Hoel, P., Purvis, K. & Hansson, V. 1978. Archives of Andrology. 1(1):53-59.
- Gibb, Z., Lambourne, S.R., Quadrelli, J., Smith, N.D. & Aitken, R.J. 2015. Biology of Reproduction. 93(4):1-9.
- El-Raey, M., Badr, M.R., Assi, M.M. & Rawsah, Z.M. 2016. Assiut Vet. Med. J. 62(149):163-173.
- Gil, J., Fierro, S., Betancur, O. & Olivera-Muzante, J. 2011. Reprod Dom Anim. 46:503-507.
- Hufana-Duran, D., Duran, P.G., Monson, R. & Parrish, J. 2017. J. ISSAAS. 23(1):56-67.
- Maxwell, W.M.C. & Salamon, S. 1993. Reprod. Fertil. Dev. 5:613-638.
- O'Hara, L., Hanrahan, J.P., Richardson, L., Donovan, A., Fair, S., Evans, A.C. & Lonergan, P. 2010. Theriogenology. 74:541-549.
- Vicari, E. & Calogero, A.E. 2001. Hum Reprod. 16:2338-2342.

Agradecimientos: esta investigación fue financiada por el proyecto europeo 677353 IMAGE-HORIZON 2020 y la beca pre-doctoral ARSEQ-BEC-008856-2016 SENESCYT, Ecuador.

EFFECT OF L-CARNITINE ON A SKIMMED MILK BASED-DILUENT IN MEMBRANES PRESERVATION AND KINETIC ACTIVITY OF RAM SPERM UNDER CHILLED CONDITIONS.

ABSTRACT: The synergic effect of L-carnitine (LC) and skimmed milk base-extender (UHT) on the kinetic parameters and membranes integrity of cold-stored ram sperm was evaluated. For this purpose, twelve pools of thirty-six semen ejaculates that were collected with artificial vagina from twelve Merino rams were used. After initial evaluation, the semen was divided into 6 aliquots enough to diluted with UHT-extender (control) and 1mM (UHT-LC1), 2,5mM (UHT-LC2,5), 5mM (UHT-LC5), 7,5mM (UHT-LC7,5) and 10mM (UHT-LC10) of LC, respectively, at 200×10^6 cells/ml concentration. Semen samples were cold-stored (5°C) up to 96 h. Kinetic variables and membranes integrity were assessed by CASA system (SCA) and triple fluorescence association test (IP/PNA-FITC/Mitotracker green). An ANOVA-one way and Bonferroni's test were used to evaluated effects of LC doses. Overall, the total motility (TM, %), straight line velocity (VSL, $\mu\text{m/s}$) and total sperm with plasma and acrosome membranes integrity and high mitochondrial function (IPIAHM, %) were greater with all doses of LC (1 to 10 mM) than control group. Also, the UHT-LC5 group provided better values than others LC groups according to motilities. In conclusion, LC improves kinetic vigor and provides an antioxidant protective effect to sperm membranes of cold-stored ram when added to skimmed milk based-diluent.

Keywords: L-carnitine, Chilled, Skimmed milk, ram.

EFFECTO DE LAS HORMONAS ESTEROIDEAS EN LA LOCALIZACIÓN Y LOS NIVELES DE CALCIO INTRACELULAR DURANTE LA CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA OVINA

Gimeno-Martos, S., Miguel-Jiménez, S., Casao, A., Cebrián-Pérez, JA., Muño-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.

Email: 711778@unizar.es

INTRODUCCIÓN

El calcio intracelular (Ca^{2+}) juega un papel muy importante en la regulación de la capacitación espermática y la reacción acrosómica (RA) (rev. en Breitbart (2000)). Durante la capacitación espermática, se ha observado un incremento del Ca^{2+} intracelular en la mayoría de las especies (Baldi et al., 1991; White et al., 1989; Colas et al., 2010), que puede ser debido a la entrada de calcio desde el exterior o a la salida del mismo desde los reservorios intracelulares. La capacitación tiene lugar en el tracto reproductor femenino, donde el espermatozoide está expuesto a diferentes hormonas, entre las que se encuentran las hormonas esteroideas progesterona (P_4) y $17\text{-}\beta$ estradiol (E_2). Nuestro grupo de investigación ha estudiado la acción de estas hormonas sobre la capacitación del espermatozoide ovino, donde, entre otras acciones, provocan un incremento de los espermatozoides reaccionados (Gimeno-Martos et al., 2017). En cuanto a su relación con el calcio, se ha descrito que la P_4 produce cambios en su distribución durante la capacitación y la RA en espermatozoides humanos y de ratón (Harper et al., 2004; Romarowski et al., 2016) mientras que E_2 lo aumenta ligeramente (Luconi et al., 1999). Hasta la fecha, no hay estudios sobre el efecto de estas hormonas sobre el Ca^{2+} durante la capacitación espermática ovina. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el posible efecto regulador de la progesterona y $17\text{-}\beta$ estradiol sobre los niveles y la localización del calcio intracelular en los espermatozoides ovinos durante la capacitación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El semen utilizado se obtuvo mediante vagina artificial a partir de moruecos pertenecientes a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de 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 $1,6 \times 10^8$ céls/ml obtenidas tras *swim-up* se diluyeron en medio TALP (control) (Parrish et al. 1988) con una mezcla de sustancias (*cocktail*, *ck*) con capacidad de inducir la capacitación *in vitro* de los espermatozoides ovinos (Colas et al. 2008), y se mantuvieron a 39°C , 5% de CO_2 y 100% de humedad relativa durante 3 horas. Para determinar el efecto de las hormonas esteroideas durante la capacitación, a las muestras *cocktail* se les añadió P_4 y E_2 a concentraciones 100 pM y 1 μM . Además, a las muestras control y *cocktail* se les añadió DMSO a la misma concentración utilizada para diluir las hormonas (1/1000). Para evaluar el proceso de capacitación, las muestras se tiñeron con clorotetraciclina (CTC) y se diferenciaron tres subtipos de espermatozoides bajo el microscopio de fluorescencia (no capacitados, capacitados y los que han sufrido la RA) (Grasa et al., 2006). Se analizaron los niveles de calcio intracelular por citometría de flujo tras tinción con Fluo-4-AM (sonda con gran afinidad por Ca^{2+}) y IP (yoduro de propidio) (Gee et al., 2000). Además se estudió su localización en los distintos reservorios intracelulares mediante microscopía de fluorescencia usando Rhod-5N-AM (sonda con baja afinidad por Ca^{2+}). El análisis estadístico se llevó a cabo con el software Gradpad InStat (5.01, San Diego, CA, EEUU).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como era esperable, la presencia del *cocktail* de sustancias que inducen la capacitación aumentó significativamente el porcentaje de espermatozoides capacitados en comparación con la muestra control (incubada en TALP en las mismas condiciones) ($P < 0,001$, Fig 1). Este incremento fue concomitante con un incremento de Ca^{2+} intracelular ($P < 0,001$, Fig. 2A). La inclusión de ambas hormonas a las dos concentraciones ensayadas dio lugar a un aumento

significativo de los espermatozoides reaccionados en comparación con la muestra *cocktail* ($P < 0,01$, Fig 1), pero sólo la P_4 a $1\mu\text{M}$ provocó un incremento significativo en los niveles de Ca^{2+} intracelular (Fig 2A; $P < 0,05$). Este resultado coincidiría con estudios previos realizados en otras especies como el cerdo (Yeste et al., 2015) y el macaco (Sumigama et al., 2015). Por otro lado, el uso de Rhod-5N-AM permitió identificar diferentes patrones de tinción en el espermatozoide ovino en función de la localización del Ca^{2+} en distintos compartimentos intracelulares. En las muestras control antes de la capacitación (*swim-up*) se observó un alto porcentaje de la subpoblación de espermatozoides que presentaban solamente un punto de intensa fluorescencia al final de la pieza intermedia, subpoblación que disminuyó significativamente en las muestras capacitadas control, llegando casi a desaparecer en las muestras *cocktail* ($P < 0,001$, Fig. 2B). En estas últimas, la subpoblación predominante fue la que presentaba marcaje conjunto en cuello y en pieza intermedia ($43,86 \pm 4,53\%$). Sin embargo, la incubación con hormonas esteroideas disminuyó significativamente este porcentaje ($36,5 \pm 7,31$, $32,0 \pm 6,75$ y $28,5 \pm 6,12\%$; $P < 0,05$ para P_4 $1\mu\text{M}$ y $P < 0,001$ para 100 pM y $1\mu\text{M}$ E_2). Además, la presencia de P_4 a ambas concentraciones provocó un aumento del porcentaje de espermatozoides marcados en la zona acrosomal respecto a la muestra *cocktail* ($P < 0,001$, Fig 2B). La incubación con E_2 no tuvo ningún efecto significativo sobre la localización del Ca^{2+} en esa zona, pero incrementó el marcaje irregular en la zona intermedia (E_2 100 pM, $P < 0,001$, Fig 2B). Estos resultados revelan que, a pesar de que tanto como la P_4 como el E_2 dan lugar a un incremento en el porcentaje de espermatozoides reaccionados según la tinción de CTC, sólo la P_4 provoca un aumento en los niveles intracelulares de Ca^{2+} y una movilización de este ión hacia el acrosoma durante la capacitación.

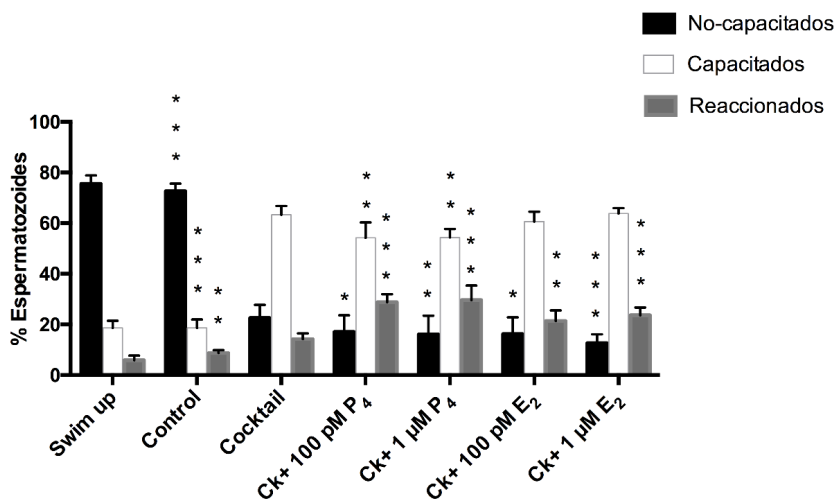


Figura 1. Porcentaje de espermatozoides según el estado de capacitación evaluado por tinción con clorotetraciclina (CTC) (No capacitados ■; Capacitados □; Acrosoma reaccionado ▒) en muestras seleccionadas por swim-up y muestras incubadas en condiciones capacitantes en medio TALP (control), TALP + sustancias capacitantes (cocktail, ck) con y sin progesterona y $17\text{-}\beta$ estradiol. Valores medios \pm SEM ($n=4$). ** ($P < 0,001$) y *** ($P < 0,0001$):diferencias significativas respecto a la muestra cocktail sin hormonas.

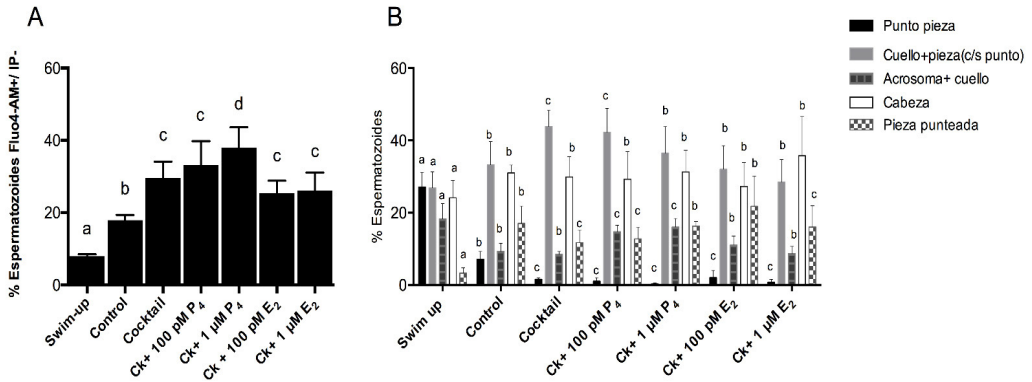


Figura 2. Porcentaje de espermatozoides vivos con alta concentración de Ca²⁺ intracelular (Fluo-4AM+/IP-), evaluados por citometría de flujo (panel A) y porcentaje de los diferentes patrones de distribución de Ca²⁺ (Rhod-5N-AM) por microscopía de fluorescencia (panel B) en muestras seleccionadas por swim-up y incubadas en condiciones capacitantes en medio TALP (control), TALP + sustancias capacitantes (cocktail, ck) con y sin progesterona y 17-β estradiol. Valores medios ± SEM (n=4). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0,005).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Baldi, E., et al.1991. J. Androl.12:323-330. • Breitbar H., 2002. Mol. Cell Endocrinol. 187:139-144. • Colas, C., et al. 2008. Reprod. Fert. Dev. 20:649-658. • Colas, C., et al. 2010. Int. J. Androl. 33:187-197. • Garcia-Lopez, N., et al.1996. Theriogenology 46: 141-151. • Gee, KR., et al. 2000. Cell Calcium 27:97-106 • Gimeno-Martos, S., et al. 2017. Reproduction 154:469-481. • Grasa, P., et al. 2006. Reproduction. 132:721-732. • Harper, CV., et al. 2004. 279:46315-46325 • Luconi, M., et al. 1999. J. Clin. Endocrinol. Metab. 84:1670-1678 • Ollero, M., et al. 1996. Int. J. Androl. 19:287-292. • Parrish, J., et al. 1988. Biol. Reprod. 38:1171-1180. • Romarowski, A., et al. 2016. Biol. Reprod. 94:63. • Sumigama, S., et al. 2015 Biol. Reprod. 96:130 • White, DR., et al.1989. Gamete Res. 22:163-177. • Yeste, M., et al. 2015 Andrology 3:729-747 •

Agradecimientos: AGL2014-57863-R, DGA-A26, BES-2015-072034.

EFFECT OF STEROID HORMONES IN THE LOCALIZATION AND LEVELS OF INTRACELLULAR CALCIUM DURING RAM SPERM CAPACITATION

ABSTRACT: Progesterone (P₄) and 17-β estradiol (E₂) are hormones that are present in the female genital tract, and also regulate sperm capacitation. The aim of this study was to evaluate the effect of these hormones on intracellular calcium levels and distribution during ovine sperm capacitation. Ram spermatozoa were selected by swim-up, diluted in a high-cAMP medium (cocktail) and incubated in capacitating conditions during 3 hours with or without 100 pM or 1 μM of P₄ or E₂. After capacitation, calcium levels were analyzed with Fluo-4AM and PI by flow cytometry, whereas the location of intracellular calcium were analysed with Rhod-5N-AM by fluorescence microscopy. Our results revealed that, although both P₄ and E₂ gave rise to an increase in the percentage of spermatozoa reacted according to CTC staining, only P₄ led an increase in intracellular Ca²⁺ levels and a mobilization of this ion to the acrosome during ram sperm capacitation.

Keywords: Spermatozoa, intracellular calcium, steroid hormones, capacitation.

RESPUESTA DE CONEJAS NULÍPARAS Y MULTÍPARAS A LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA CON CORIFOLITROPINA ALFA Y SU EFECTO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO TRAS LA CRIOPRESERVACIÓN

Juarez, J.D.¹, García-Domínguez, X.¹, Talaván, A. M.¹, Vicente, J.S.¹, Marco-Jiménez, F.¹, Viudes de Castro, M.P.²

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia

²Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Segorbe (Castellón).
viudes_mar@gva.es

INTRODUCCIÓN

La crioconservación permite el establecimiento de bancos de recursos genéticos para facilitar la difusión, preservar y mantener la variabilidad genética. Si bien, el establecimiento de estos bancos, y más concretamente de los de embriones, dependen de la optimización de la recuperación de los embriones, su crioconservación y su posterior transferencia para generar descendencia. Así, y como primer paso, la utilización de la superovulación permite maximizar el número de embriones transferibles por donante, ya sea para apoyar los programas de mejora genética, la conservación *ex situ* o bien para optimizar otras biotecnologías. En este sentido, aumentar el número de embriones por donante permite mejorar la eficiencia de la difusión genética (Takeo y Nagata, 2015) y reducir el número de animales utilizados. No obstante, la efectividad de los tratamientos de superovulación con eCG y FSH hipofisarias o recombinantes depende de si son capaces de sostener el desarrollo antral de los folículos y reducir los procesos de atresia derivados del mismo. Sin embargo, en muchas ocasiones la calidad de los óvulos y embriones se ve afectada, ya que los tratamientos con una u otra gonadotropina no son capaces de mimetizar las necesidades de este proceso. De estas gonadotropinas, la FSH es la más eficiente, pero su corta vida media y la rápida eliminación metabólica conllevan una aplicación cada doce horas o su administración con polímeros como coadyuvantes para incrementar ligeramente su biodisponibilidad, lo que supone un aumento del manejo de las donantes, así como la posibilidad de errores en la administración de los tratamientos. La introducción de la corifolitropina alfa, una FSH recombinante de acción prolongada, permite simplificar los protocolos de superovulación, reduciendo el número de inyecciones y, en consecuencia, mejorando el manejo de las donantes (Duijkers et al., 2002; Devroey et al., 2004). Por otra parte, uno de los factores intrínsecos que más puede contribuir a la variabilidad de la respuesta superovulatoria es la hembra donante. El efecto de la edad de la donante sobre la respuesta a la superovulación es un aspecto que casi siempre se ignora, pero que sin embargo podría contribuir en gran medida a la variación en la respuesta superovulatoria entre animales dentro del mismo grupo. En caprino y ovino se ha observado que las hembras jóvenes tienen una menor respuesta a la superovulación que las hembras adultas (Rangel-Santos et al., 1991; Lehloeny y Greyling, 2010), mientras que la respuesta superovulatoria no se ve afectada en vacuno (Lima et al., 2007). En conejo se ha demostrado que la utilización de corifolitropina alfa en una única dosis 60h antes de inducir la ovulación proporciona respuesta superovulatoria en conejas nulíparas sin merma de la viabilidad embrionaria (Viudes de Castro et al., 2017; Vicente et al., 2018). No obstante, en muchas ocasiones es necesario incorporar al banco embriones de conejas multíparas al finalizar el proceso de selección, por lo que sería necesario estudiar la respuesta superovulatoria y la viabilidad de los embriones obtenidos de este tipo de hembras. El objetivo específico de este estudio fue determinar la respuesta superovulatoria de hembras nulíparas y multíparas a un tratamiento de corifolitropina alfa y evaluar el desarrollo de los embriones tras un proceso de crioconservación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron dos tipos de hembras, 25 nulíparas de 19-20 semanas de edad y 25 multíparas (con seis partos). Todas ellas de origen neozelandés, seleccionadas por tamaño de camada al destete. Las conejas se alojaron en jaulas tipo flat-deck, recibieron una dieta estándar *ad libitum* y tenían acceso libre al agua. A lo largo de todo el experimento se utilizó un ciclo lumínico que alternaba 16 h de luz y 8 h de oscuridad. La estimulación ovárica se indujo

subcutáneamente con 3 µg de corifolitropina alfa (Elonva, Merck Sharp & Dohme S.A.; España). Transcurridas 60 h desde su aplicación, todas las hembras fueron inseminadas con 1 mL de una mezcla heteroespérmica proveniente de machos de probada fertilidad de la misma línea genética que las hembras y la ovulación fue inducida con 1 µg de acetato de buserelina (Suprefact; Hoechst Marion Roussel, S.A., Madrid, España) aplicado intramuscularmente. A las 72 h tras la inseminación, las hembras fueron eutanasiadas con una inyección intravenosa de 0,6 g de pentobarbital sódico (Dolethal; Vetoquinol, Madrid, España). Los embriones fueron recuperados mediante perfusión de los cuernos uterinos con 10 mL de DPBS (tampón fosfato salino Dulbecco) suplementado con 0.2% de albúmina sérica bovina (AMRESCO; Solon, EEUU), 0,133 g/L CaCl₂, 0,100 g/L MgCl₂ y antibióticos (100 UI/mL Penicilina y 0,01 mg/mL estreptomina, Sigma-Aldrich Química S.A., España). Sólo aquellos embriones en estadio de mórula o blastocisto temprano, que presentaban una masa celular homogénea y esférica y que estaban recubiertos por una capa de mucina y una zona pelúcida intactas fueron catalogados como embriones normales, siguiendo los criterios morfológicos de clasificación de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS). Los embriones fueron vitrificados y desvitrificados siguiendo la metodología descrita por Vicente et al. (1999). Tras la desvitrificación, los embriones fueron cultivados durante 48 h en TCM 199 suplementado con un 10% de suero fetal bovino, 100 IU/mL Penicilina y 0,01 mg/mL de Streptomina (Sigma-Aldrich Química S.A., España) a 38,5°C, 5% de CO₂ y con atmósfera saturada de humedad. Se registró la capacidad de alcanzar el estadio de blastocisto expandido y escapado de los embriones. La tasa de ovulación, el número de embriones recuperados, el número de embriones normales y anormales fueron analizados mediante un ANOVA, con el tipo de hembra (nulípara o múltipara) como factor fijo. La inducción de la ovulación, la tasa de blastocistos expandidos y la tasa de blastocistos escapados fueron analizadas mediante una función probit link con distribución binomial del error, con el tipo de hembra (nulípara o múltipara) como factor fijo. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa SPSS (SPSS 21.0 software package; SPSS Inc., 2002, Chicago, IL, EEUU).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento de estimulación ovárica con corifolitropina alfa tuvo una respuesta superovulatoria en todas las hembras que fueron inducidas a ovular. Los resultados del tipo de hembra (nulípara o múltipara) sobre las variables de recuperación obtenidos se muestran en la Tabla 1. Se observó que el tipo de hembra no afectaba a la inducción a la ovulación, no obstante, los valores obtenidos de tasa de ovulación, número de embriones recuperados y número de embriones normales fueron significativamente superiores en el grupo de hembras nulíparas, resultados que contrastan con lo observado por Rangel-Santos et al. (1991) en ovino y Lehloenya y Greyling (2010) en caprino, sin embargo hay que tener en cuenta que en esos trabajos se utilizan hembras prepúberes, por lo que es muy posible que el número de folículos sensibles a la LH presentes en los ovarios de esas hembras sea menor que en las hembras adultas. En nuestro caso, las conejas nulíparas utilizadas son reproductivamente maduras, por lo que sus ovarios son capaces de responder al tratamiento de estimulación ovárica.

Tabla 1. Efecto del tipo de hembra sobre las variables de recuperación (media cuadrática ± error estándar).

Grupo	N	Inducción ovulación	Tasa ovulación	Embriones recuperados	Embriones normales	Embriones anormales
Múltiparas	25	0,96±0,064	39,3±2,99 ^a	23,0±2,93 ^a	20,7±3,35 ^a	3,4±1,10
Nulíparas	25	0,80±0,064	48,6±3,27 ^b	39,7±3,21 ^b	33,95±3,60 ^b	5,8±1,15

^{a,b} Valores en la misma columna con diferente letra difieren estadísticamente (P<0,05).

En la Tabla 2 se muestran los resultados del desarrollo *in vitro* de los embriones tras el cultivo. En el caso de los embriones frescos, la tasa de blastocistos expandidos fue similar en ambos grupos de hembras (nulíparas o múltiparas), mientras que la tasa de blastocistos escapados fue significativamente superior en los embriones procedentes de hembras nulíparas. No

obstante, cuando los embriones eran sometidos a un proceso de crioconservación, la tasa de blastocistos expandidos era significativamente más baja para los embriones que procedían de hembras múltiparas, mientras que no se observaron diferencias significativas en la tasa de blastocistos escapados.

Tabla 2. Efecto del tipo de hembra sobre el desarrollo in vitro (media cuadrática \pm error estándar).

	Embriones Frescos			Embriones desvitrificados		
	Nº	Tasa de blastocistos expandidos	Tasa de blastocistos escapados	Nº	Tasa de blastocistos expandidos	Tasa de blastocistos escapados
Múltiparas	104	0,89 \pm 0,027	0,11 \pm 0,039 ^a	74	0,73 \pm 0,045 ^a	0,18 \pm 0,047
Nulíparas	99	0,94 \pm 0,028	0,33 \pm 0,040 ^b	76	0,90 \pm 0,044 ^b	0,24 \pm 0,047

^{a,b} Valores en la misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ($P < 0,05$).

Estos resultados indican que, en conejo, las hembras nulíparas responden mejor que las múltiparas al tratamiento con corifolitropina alfa, obteniéndose un mayor número de embriones por hembra y con un mejor potencial de desarrollo tras un proceso de crioconservación. No obstante, las hembras múltiparas al final de su proceso de selección pueden ser utilizadas para completar el banco de embriones, pero teniendo en cuenta que su potencial de desarrollo es inferior.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Duijkers I.J. et al., 2002. Hum Reprod;17(8):1987-93.
- Devroey P. et al., 2004. J Clin Endocrinol Metab. 89:2062-70.
- Driancourt, M.A. & Avdi, M., 1993. Anim. Reprod. Sci. 32, 227-236.
- Lehloenya K.C. & Greyling J.P.C., 2010. S Afr J Anim Sci. 40 (1):65-69.
- Lima W.M. et al., 2007. Anim Reprod Sci. 100(3-4):364-370.
- Rangel-Santos R. et al., 1991. Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. 51:139-142.
- Takeo T. & Nakagata N., 2015. PLoS One 10, e0128330.
- Vicente J.S. et al., 1999 Reprod Nutr Dev. ;39(5-6):657-62.
- Vicente J.S. et al., 2018. Anim Reprod Sci. 192:321-327.
- Viudes de Castro M.P. et al., 2017 Theriogenology. 98:68-74.

Agradecimientos: Financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad: AGL2017-85162-C2-1-R y AGL2016-81890-REDT.

RESPONSE OF NULLIPAROUS AND MULTIPAROUS DOE RABBITS TO OVARIAN STIMULATION WITH CORIFOLLITROPIN ALPHA AND ITS EFFECT ON EMBRYO DEVELOPMENT AFTER CRYOPRESERVATION

ABSTRACT: Superovulation in animals is used to produce a maximum number of transferable embryos per donor. Embryo cryopreservation enables the establishment of genome cryobanking and saving embryos for an unlimited time. The introduction of corifollitropin alpha, a long-acting recombinant FSH, allows simplify superstimulation protocols. On the other hand, results of superovulation treatments vary, and donor is an important factor than affect superovulatory response. The aim of our study was to evaluate the effect of female category (nulliparous or multiparous) on ovarian stimulation with corifollitropin alpha and its effect on embryo development after cryopreservation. Our outcomes showed that the ovulation rate and normal embryos were significantly higher for nulliparous does. Expanded blastocyst rate from fresh embryos was similar in nulliparous and multiparous groups. However, in vitro development of devitrified embryos was significantly affected by female category. Expanded blastocyst rate from vitrified embryos was higher in nulliparous females.

Keywords: superovulation, corifollitropin alpha, vitrification, rabbit.

ESTIMULACIÓN CON rFSH-CTP Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PARA LA REFUNDACIÓN DE UNA LÍNEA DE CONEJO SELECCIONADA POR VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

Juarez, J.D.¹, Talaván, A. M.¹, García-Domínguez, X.¹, García-Valero, L.¹, Viudes de Castro, M.P.², Marco-Jiménez, F.¹, Vicente, J.S.¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia

²Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Segorbe (Castellón).
jvicent@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

La obtención, crioconservación y transferencia de embriones son herramientas fundamentales en la difusión, conservación y en la rederivación de recursos genéticos animales. Sin embargo, es frecuente que protocolos, optimizados para una línea, estirpe o raza, den lugar a resultados inesperados cuando se utilizan sobre otras. En el conejo puede observarse que tanto la respuesta a la superovulación, a la crioconservación y la viabilidad post-transferencia de los embriones dependen de la línea genética (Kauffman et al., 1998; Vicente et al., 2003; Mehaisen et al., 2005; Salvetti et al, 2007; Vicente et al., 2013; Naturil-Alfonso et al., 2016). La línea sintética R proviene de la fusión de dos líneas paternas, una fundada en 1976 con conejos de origen California criados por agricultores valencianos y otra fundada en 1981 con conejos pertenecientes a líneas paternas especializadas (Estany et al., 1992). La línea R es seleccionada por ganancia media diaria durante el engorde desde hace 30 años. En la actualidad tras más de 40 generaciones en las instalaciones de la Universitat Politècnica de València evidencia una baja eficiencia reproductiva, baja fertilidad y prolificidad al parto, a pesar de tener tasas de ovulación y tasas de fecundación similares a líneas seleccionadas por tamaño de camada. En estudios previos se ha comprobado que las conejas de esta línea muestran fallos de inducción de la ovulación, patrones esteroidogénicos anormales durante la gestación, niveles de IGF-I elevados, deficiencias en receptores para IGF-II e incluso un patrón de movilización metabólica de los recursos diferente al de las líneas maternas, todo ello podría ser la causa de su baja eficiencia reproductiva (Llobat et al., 2012; Vicente et al. 2012; Arnau-Bonachera et al., 2018). Como consecuencia de esta baja eficiencia reproductiva, la presión de selección sobre esta línea ha tenido que reducirse. No obstante, varios núcleos de selección asociados disponen de poblaciones de esta línea en la que es posible recuperar tanto orígenes genéticos como parte de la presión de selección perdida. Una vía para re-integrar estos animales es la obtención de embriones de los genotipos de interés y transferirlos sobre una de las líneas maternas de nuestro núcleo, con el fin de expandir la población de la línea R para su selección y estudio. En los últimos años, se ha aplicado con éxito un tratamiento de superovulación basado en la utilización de una FSH recombinante de larga duración denominada Coriofolitropina alfa (rFSH-CTP). Este tratamiento presenta ventajas sobre el tratamiento de superovulación con eCG o FSH hipofisarias, ésta última todavía se usa comúnmente en el conejo ya que muestra una respuesta superior a la eCG y una calidad embrionaria similar a los tratamientos secuenciales con FSH hipofisaria porcina o recombinante humana (Tsiligianni, et al., 2004; Mehaisen et al., 2005 y 2006; Salvetti et al, 2007 y 2011; Viudes et al., 2015,2017 y 2019). Sin embargo, la respuesta o la viabilidad de los embriones obtenidos debe ser evaluada en cada línea, estirpe o raza, ya que los problemas derivados de la aplicación de los tratamientos de superovulación subsisten a nivel de predicción de la respuesta, fecundidad de los óvulos anormales y en ocasiones sobre el desarrollo embrionario e incluso sobre su tolerancia a los métodos de crioconservación (Kauffman et al, 1998; Mehaisen et al., 2006, Salvetti et al, 2011). El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilización del tratamiento de rFSH-CTP en la línea R con la finalidad de incrementar el número de orígenes en el núcleo de selección UPV a partir de la descendencia de los genotipos seleccionados en centros asociados.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha realizado de acuerdo con la Directiva 2010/63/UE CEE relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos (centro usuario ES462500001091 y protocolo registrado con el número 2018/VSC/PEA/0116). Un total de 44 conejas adultas de la línea R

fueron inseminadas con machos fértiles de 20 orígenes diferentes cuya ganancia media diaria durante el periodo de engorde se situó en torno a 60g/día ($61,2 \pm 0,45\text{g/día}$). Diecinueve de las hembras fueron sometidas a un tratamiento de superovulación con la hormona corifoliotropina alfa (rFSH-CTP; Elonva®, 150 µg/mL, Merck Sharp & Dohme, S.A.; Spain) en una única dosis de 3µg/hembra por vía subcutánea. Las otras veinticinco hembras se utilizaron como control, y tan sólo se estimuló su receptividad con 20UI de eCG. Las conejas fueron montadas con machos asignados, evitando que los donantes tuvieran abuelos comunes. Tras la monta, las conejas recibieron una inyección intramuscular de 1 µg de acetato de buserelina (Suprefact; Hoechst Marion Roussel, S.A., Madrid, Spain) para reforzar el estímulo de la ovulación. Las conejas fueron sacrificadas 72-74 horas después de la inseminación mediante la administración intravenosa de 1 mL/kg de pentobarbital sódico (Dolethal, Vetoquinol especialidades veterinarias, S.A., Vétoquinol, Madrid, Spain). Después, se les extirpó el aparato reproductor para llevar a cabo la recuperación de embriones mediante la perfusión de cada uno de los oviductos con 10 mL de tampón fosfato salino (Dulbecco's phosphate buffer serum, DPBS, Sigma, St. Louis, MO, USA) que fue suplementado con 0,2% (v/w) de BSA (albúmina de suero bovino, Sigma, St. Louis, MO, USA), 0,132 g/L de CaCl₂, y antibióticos (penicilina G sódica 300.000 UI, penicilina G procaína 700.000 UI y sulfato de dihidrostreptomina 1250 mg/L, Penivet 1, Divasa Farmavic, Barcelona, España), y atemperado a 37°C. Tras realizar el lavado con el medio de perfusión, los embriones se clasificaron atendiendo a sus características morfológicas, considerando embriones normales a aquellos en el estadio de mórula o blastocisto temprano con una masa homogénea de células, sin irregularidades y con la zona pelúcida y la capa de mucina intacta. Los embriones fueron introducidos en una pajuela de 0,125 ml (L'Áigle, France), identificados y conservados a 16°C hasta su utilización. La transferencia se realizó en el núcleo de la UPV 4-6 horas después de la obtención de los embriones. Las hembras receptoras, conejas multiparas de la línea maternal A (origen Neozelándes y seleccionadas por índice familiar durante 48 generaciones) fueron inducidas a ovular 72 horas antes de la transferencia con 1 µg de acetato de buserelina (Hoechst, Marion Roussel, Madrid, Spain) vía intramuscular. Se anestesió a las receptoras con 16mg/kg de hidrocloruro de xilacina (Xilagesic, Calier), 35mg/kg de hidrocloruro de ketamidor (Ketamidol, Richter Pharma) y 0.01mg/kg de buprenorfina (Bupaq 0.3%, Richter Pharma). Se transfirieron un total de 463 embriones a los oviductos de 46 receptoras mediante laparoscopia. El número de embriones recuperados normales por coneja fue analizado mediante un análisis de la varianza, utilizando como factor fijo el tratamiento de estimulación (control-20UI de eCG y rFSH-CTP). Los porcentajes de donantes de embriones normales respecto del total de conejas, orígenes macho con descendencia respecto del total y, los nacidos totales y nacidos vivos en relación con el número de embriones transferidos entre tratamientos de estimulación se analizaron con una Chi-cuadrado con corrección de Yate's. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa SPSS (SPSS 21.0 software package; SPSS Inc., 2002, Chicago, IL, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento de estimulación ovárica con 3µg de rFSH-CTP tuvo una respuesta superovulatoria en todas las hembras, aunque sólo del 78,9% de ellas se obtuvieron embriones clasificados como normales y por tanto transferibles. Este porcentaje fue similar al obtenido en las conejas no estimuladas con rFSH-CTP aunque el número de embriones por coneja fue inferior (8,7 embriones frente a 19,1 por coneja, tabla 1). No obstante, la viabilidad de los embriones procedentes de las hembras tratadas con rFSH-CTP fue significativamente inferior a la obtenida con los embriones procedentes de hembras control (tabla 1). Estos resultados contrastan con los obtenidos anteriormente en una línea maternal (seleccionada por tamaño de camada), ya que la utilización de la rFSH-CTP con o sin suplementar con LH o hCG determinó una tasa de ovulación entre 42 y 52,9 y entre 28 y 41 embriones transferibles por coneja (Viudes et al., 2017 y 2019), resultados muy superiores a los obtenidos en el presente trabajo. No obstante, la viabilidad al nacimiento pos-transferencia de los embriones obtenidos con rFSH-CTP, si bien no fueron significativamente diferentes al control, registraron valores inferiores al mismo (53% frente al 75%; Viudes de Castro et al., 2017) al igual que sucede en el presente trabajo. Es probable que el tratamiento de estimulación realizado sea insuficiente para esta línea de crecimiento, ya que son animales con un mayor peso corporal, con baja actividad sexual, dificultades para ser inducidas a ovular por monta y que presentan

un patrón diferente de movilización metabólica de los recursos (Vicente et al. 2012; Arnau-Bonachera et al., 2017), por lo que será necesario ajustar la cantidad de gonadotropina recombinante utilizada y considerar el periodo de actuación de la misma en este tipo de animales. En relación con el objetivo para re-incorporar orígenes de esta línea al núcleo de selección, cabe reseñar que a pesar de los bajos resultados de viabilidad obtenidos en las hembras R estimuladas con rFSH-CTP, se han obtenido un total de 189 conejos de 19 orígenes macho, número de familias de machos superior al que sería necesario para la conservación de genoma de esta línea, asegurar su reproducción y continuar con el programa de selección.

Tabla 1. Embriones recuperados, viabilidad al parto y orígenes macho re-introducidos en el núcleo de selección

Grupo	Conejas	Origen macho	ER mediatas	Donantes (%)	ET	NT (%)	NV (%)	Origen macho* (%)
Control	25	14	8,7 2,32 ^a	20 (80,0)	192	120 (62,5) ^a	100 (52,1) ^a	11 (78,5)
CTP-FSH	19	12	19,1 2,67 ^b	15 (78,9)	341	105 (30,8) ^b	89 (26,1) ^b	8 (67,7)
Total	44	26	13,2 1,77	35 (79,5)	533	225 (41,4)	189 (34,8)	19 (73,1)

ER: embriones recuperados; ET: embriones totales; NT: nacidos totales; NV: nacidos vivos; ^{a,b} Valores en la misma columna con diferente letra difieren estadísticamente (P<0.05).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Arnau-Bonachera, A. et al 2018. *Animal* 12(9):1867-1876. •Estany, J. et al., 1992. *Gen. Sel. Evol.* 24: 527–537. •Kauffman, R.D. et al., 1998. *Theriogenology* 50:1081-1092. •Llobat et al., 2012. *Reprod. Domes. Anim.* 47: 281–287. 2012. •Mehaisen, G.M.K. et al., 2005. *Anim Reprod Sci* 90(1-2): 175–184. •Naturil-Alfonso et al., *Animal* 2016. 24:47-53. •Mehaisen, G.M.K. et al., 2006. *Theriogenology* 65(7): 1279–1291. •Salvetti, P. et al., 2007. *Theriogenology* 67: 1185–1193. •Tsiligianni, T. et al., 2004 *Theriogenology*, 61(6): 989–995. •Vicente, J.S. et al., 2003. *Reprod. Nutr. Dev.* 43: 137–143. •Vicente J.S. et al., 2012. *Theriogenology* 77: 81–8. •Vicente, J.S. et al., 2013. *Cryobiology* 67(3): 321–326. •Viudes-de-Castro, M.P. et al., 2015 *Theriogenology* 84(3):446–451. •Viudes de Castro, M.P. et al., 2017. *Theriogenology* 98:68-74.

(1 línea en blanco)

Agradecimientos: Financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad: AGL2017-85162-C2-1-R y AGL2016-81890-REDT.

STIMULATION WITH rFSH-CTP AND EMBRYO TRANSFER TO RE-ESTABLISHMENT OF RABBIT GROWTH LINE

ABSTRACT: The use of coriofolitropin alfa (rFSH-CTP) in a paternal line (R line) selected for growth rate (daily mean gain) to increase the quantity of family origin through a superovulatory treatment was done. Forty four does belonging to the synthetic line R, were inseminated with bucks from 20 different family origin, 19 does were superovulated with CTP (3 µg/female) and 25 does used as control treatment were increase the receptivity with 20UI of eCG. Embryos were recovered 72-74 hours after insemination, scored by morphological characteristics and normal embryos stored in a 0,125 mL straw at 16°C 4-6 hours after embryo recovery. A total of 463 embryos were transferred into oviducts of 46 synchronized recipient does belonging to maternal line. Seventy nine percent of does respond to superovulatory treatment but the embryo viability at birth was less than control group (30.8 vs 62.5%, respectively). Despite the low viability results, a total of 189 rabbits from 19 male family origins were obtained, rabbit enough to assure the re-establishment of line and will allow progress in selection program.

Keywords: Coriofolitropin alfa, growth rabbit, embryo viability.

DISEÑO DE UN ENSAYO DE PENETRACIÓN HOMÓLOGA EN OVINO USANDO OVOCITOS INMADUROS Y MADURADOS *IN VITRO*

Munuera C.D., Morató R., Osuagwuh U. y Palomo M.J

Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

mariajesus.palomo@uab.cat

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la conservación de recursos genéticos ganaderos está siendo muy significativa (FAO, 2010), desarrollándose bancos de semen de numerosas especies y razas, algunas en peligro de extinción. Por este motivo, la predicción de la capacidad fecundante de los espermatozoides congelados es de gran interés para la viabilidad de los programas de conservación y mejora de las distintas razas. Muchos de los avances tecnológicos han permitido realizar un análisis más fiable, reproducible y objetivo de las diferentes características de los espermatozoides (Graham, 2001). Ahora, para disponer de un análisis completo del semen descongelado es necesario probar su fertilidad realizando estudios *in vivo* e *in vitro*. Sin embargo, ambos sistemas presentan grandes inconvenientes. Por un lado, la inseminación artificial intrauterina profunda en la oveja supone un alto coste económico y gran especialización, mientras que el principal problema en la fecundación *in vitro* en ovino reside en el uso de suero de oveja en estro (SOE) para la maduración ovocitaria, lo que supone una fuente de variación y un alto riesgo de contaminación (Van der Valk et al., 2010; Hajarjan et al., 2017). Actualmente, no se encuentran estudios en oveja, pero en otras especies como el cerdo, el ensayo de penetración homóloga *in vitro* con ovocitos inmaduros se usa ampliamente y tiene una correlación demostrada con la fertilidad del semen (Martínez et al., 1993). Por lo tanto, nuestro objetivo es diseñar un ensayo de penetración homóloga *in vitro* en ovino con ovocitos inmaduros o madurados *in vitro* mediante medios comerciales libres de suero para conseguir un análisis de la viabilidad del semen descongelado lo más simple, fiable, seguro y reproducible posible.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para ello, se recogieron ovarios de corderas en un matadero comercial cercano, los cuales fueron transportados en PBS suplementado con antibióticos y antimicóticos entre 35.5-38.5°C hasta el laboratorio en la UAB. Seguidamente, se obtuvieron los complejos cúmulus-ovocito (CCOs) mediante la técnica de *slicing* y una vez seleccionados fueron sometidos a 3 tratamientos distintos: **Grupo 1:** los CCOs fueron incubados directamente en grupos de 15 a 20 con espermatozoides ovinos descongelados seleccionados por gradiente de densidad con *Bovipure*® (Nidacon, Suecia) en microgotas de 100 µL de medio de fecundación *BO-IVF*® (IVF Bioscience, UK) suplementado al 2% con SOE a una concentración final de 2×10^6 espermatozoides /mL, cubiertas con aceite mineral a 38.5°C y un 5% de CO₂. A las 17 horas del co-cultivo de los gametos, los CCOs se fijaron para su posterior análisis. **Grupo 2:** los CCOs se incubaron también en grupos de 15-20 en gotas de 100 µL de medio de maduración *BO-IVM*® (IVF Bioscience, UK) durante 24 horas. A continuación, una muestra de los ovocitos se fijó para evaluar su progresión nuclear. Seguidamente, el resto de los CCOs se inseminaron bajo las mismas condiciones que los del grupo 1. **Grupo 3:** los CCOs seleccionados se incubaron en las mismas condiciones que los del grupo 2, a excepción del medio de cultivo, el cual (*BO-IVM*®) fue suplementado con un 10% de SOE. Transcurridas 24h, la toma de muestras para evaluar la progresión nuclear, así como la inseminación de los CCOs se realizó siguiendo la misma metodología que la descrita en los grupos anteriores. Los CCOs de las muestras recogidas tras MIV y FIV en los diferentes tratamientos fueron decumulados mecánicamente y fijados en paraformaldehído al 4% (v/v) durante 1 hora. Posteriormente fueron teñidos con Hoechst 3342 durante 15 min. en la oscuridad a 4°C y colocados en portaobjetos para su observación bajo microscopio de epifluorescencia (ZEISS Axioskop 40, Alemania). La maduración nuclear de los ovocitos

fue evaluada como tal cuando los cromosomas se disponían en la placa metafásica y el primer corpúsculo polar estaba extrusionado. Por otro lado, los parámetros evaluados tras la FIV fueron: tasa de penetración (número de ovocitos penetrados por al menos un espermatozoide del total de ovocitos inseminados), tasa de monospermia (número de ovocitos penetrados por un único espermatozoide del total de ovocitos inseminados) y el número medio de espermatozoides unidos a la zona pelúcida (ZP) por ovocito penetrado. Los datos se presentaron como media \pm desviación estándar (media \pm DE) y se analizaron mediante un análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos tras el análisis de la MIV mostraron que únicamente el 5% de los ovocitos incubados (grupo 2; n=43) durante 24h en el medio comercial *BO-IVM*® maduraron nuclearmente, por lo que este sistema no parece cumplir satisfactoriamente las expectativas indicadas por el fabricante como para ser utilizado en esta especie. Este medio comercial está formulado libre de suero y con concentraciones de hormonas gonadotrópicas que desconocemos, por lo que se añadió SOE (10%) al sistema para mejorar los resultados, obteniendo alrededor de una tasa de maduración del 54% (grupo 3; n=60). No obstante, la eficacia de nuestro sistema siguió siendo insuficiente comparada con otros descritos por Cognié et al. (2003) o Palmerini et al. (2014), quienes obtuvieron un 75% y 95,1%, respectivamente, de tasa de maduración de ovocitos también procedentes de animales prepúberes. Esta baja incidencia de maduración en nuestro estudio podría ser debida al suero utilizado, ya que como hemos citado anteriormente el SOE es una fuente de variación muy importante en los resultados (Van der Valk et al., 2010), de ahí que nuestro objetivo sea intentar diseñar un sistema de maduración libre de suero.

Por otro lado, los parámetros de fertilidad evaluados no mostraron ningún efecto significativo del tratamiento de los ovocitos utilizado en el porcentaje de penetración, a pesar de observarse un incremento al suplementar el medio de maduración con SOE (Tabla 1). No obstante, si se encontraron diferencias significativas en la tasa de monospermia en los ovocitos que fueron inseminados inmediatamente después de ser seleccionados sin previa incubación en ningún medio de MIV (grupo 1), lo que puede indicar una falta madurativa de los ovocitos, probablemente de la ZP, ya que en condiciones *in vivo* es la mayor barrera selectiva que el espermatozoide debe atravesar (Waberski et al., 2005). También se observaron diferencias en el número de espermatozoides unidos a la ZP de los ovocitos penetrados, siendo significativamente mayor en aquellos ovocitos que habían sido supuestamente madurados en el medio comercial *BO-IVF*® libre de suero. Se desconoce la causa de esta diferencia, ya que no se han encontrado estudios de FIV con ovocitos inmaduros de oveja. En conclusión, este estudio preliminar para diseñar un ensayo de penetración homóloga a partir de ovocitos inmaduros o supuestamente maduros en medios comerciales libres de suero parece indicar su utilidad potencial para evaluar la viabilidad de los bancos de semen. Sin embargo, se requieren de más estudios para asegurar su uso como una herramienta de análisis fiable, sencilla, rápida y reproducible.

Tabla 1. Efecto del sistema de maduración de los ovocitos en un ensayo de penetración homóloga en ovino

Tipo de maduración de los ovocitos	N	Tasa de Penetración	Tasa de Monospermia	% Spz-ZP/oo
Grupo 1	55	67,4 ± 4,3	19,9 ± 3,6 ^a	0,5 ± 0,1 ^a
Grupo 2	107	60,8 ± 25,2	55,5 ± 4,2 ^b	3,5 ± 1,1 ^b
Grupo 3	128	82,6 ± 6,7	48,3 ± 3,3 ^b	1,1 ± 0,2 ^a

Grupo 1: Ovocitos inmaduros sin incubación previa a la inseminación; Grupo 2: Ovocitos incubados 24h en medio BO-IVM; Grupo 3: Ovocitos incubados 24h en medio BO-IVM suplementado con SOE; Spz-ZP/oo: número medio de espermatozoides (Spz) unidos a la zona pelúcida (ZP) por ovocito (oo) penetrado.

^{a,b}. Diferentes letras en la misma columna denotan diferencias significativas ($p < 0.05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cognié, Y., Baril, G., Poulin, N., Mermillod, P. 2003. *Theriogenology* 59: 171-188.
- FAO. Programas de conservación. Roma, 2010.
- Graham, J.K. 2001. *Anim Reprod* 68: 239-247.
- Hajarian, H., Aghaz, F., Karami, H.S. 2017. *Theriogenology* 92: 144-148.
- Martínez, E., Vázquez, J.M., Matas, C., Roca, J., Coy, P., Gadea, J. 1993. *Theriogenology* 40: 547-557
- Palmerini MG, Nottola SA, Leoni GG, Succu S, Borshi X, Berlinguer F, Naitana S, Bekmukhambetov Y, Macchiarelli G. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2014; 12: 115-128.
- Van der Valk, J., Brunner, D., De Smet, K., Svenningsen, Å.F., Honegger, P., Knudsen, L.E., Lindl, T., Noraberg, J., Price, A., Scarino, M.L., Gstraunthaler, G. 2010. *Toxicology* 24: 1053-1063.
- Waberski, D., Magnus, F., Mendonca, F.F., Petrunkina, A.M., Weitze, K.F., Töpfer-Peterson, E. 2005. *Theriogenology* 63: 470-484.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el INIA (RZP2014-00001-00-00).

DESIGN OF A HOMOLOGOUS IN VITRO PENETRATION ASSAY IN SHEEP USING IMMATURE AND IN VITRO MATURED OOCYTES

ABSTRACT: To design a reliable system to evaluate *in vitro* fertilizing ability of cryopreserved ram sperm, a homologous penetration test with immature and *in vitro* matured sheep oocytes using commercial serum free media was studied. Oocytes collected from prepubertal ewe were selected. Then, 55 oocytes were co-cultured immediately with thawed sperm, while 107 oocytes were incubated for 24 h in a free serum IVM media and 128 were incubated in the same media plus estrous sheep serum (ESS, 10%). Afterwards, a sample of oocytes were fixed to assess their nuclear status. Then, immature and presumptive matured oocytes were inseminated in an IVF media with 2% ESS at a final concentration of 2×10^6 sperm/mL. After 17 h of co-culture, fertility parameters were evaluated. Only 5% of the oocytes incubated in the IVM media ($n=43$) were matured, while the 54% of the oocytes cultured in IVM media with EES ($n=60$) reached nuclear maturation. However, no significant differences were found regarding *in vitro* oocyte penetration, except for monospermy rate and the mean number of sperms attached to the zona pellucida depending on oocyte treatment. In conclusion, more studies are needed to achieve a sperm fertilizing ability assay for ram semen banks.

Keywords: homologous; *in vitro* penetration; sheep oocytes; serum free media

RECOGIDA DE EMBRIONES DEL OVIDUCTO DE CERDAS SACRIFICADAS AL FINAL DE SU ETAPA PRODUCTIVA

Gadea^{1,2}, J., Crespo¹, S., García-Vazquez^{1,2}, F.A., Navarro-Serna^{1,2}, S., Romero-Aguirregomezcorta^{1,2}, J., Cánovas^{1,2}, S. y Romar^{1,2}, R.

¹Dept. Fisiología. Universidad de Murcia. Murcia 30.100 ²IMIB-Arixaca; jgadea@um.es

INTRODUCCIÓN

La producción de cerdos modificados genéticamente mediante el empleo de técnicas Crispr-Cas puede realizarse mediante la inyección de sgARN en el citoplasma de embriones en estadio de 1 célula (zigoto) (Wang et al. 2015). Estos cigotos, que deben ser inyectados, pueden obtenerse mediante sistemas in vitro de producción de embriones (Whitworth et al. 2014), o bien ser recogidos in vivo del oviducto de cerdas previamente inseminadas, por procedimientos quirúrgicos o tras el sacrificio del animal en el matadero (Gadea et al. 2018; Petersen et al. 2016).

El uso de hembras sanas, con óptimo historial reproductivo, que se encuentran al final de su etapa productiva y son enviadas a matadero, por razones estratégicas o productivas de las empresas, pueden ser una fuente económica y eficiente de obtener embriones de buena calidad, minimizando los problemas éticos y legales que conlleva el uso de animales de experimentación. El objetivo del presente estudio fue estimar el rendimiento en la recogida de embriones en estadio de cigoto a partir de cerdas reproductoras de estas características inseminadas en granja tras un celo natural y sacrificadas en matadero 1-2 días post-inseminación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total 62 cerdas reproductoras de raza híbrida comercial, de 7-9 partos, procedentes de explotaciones de la Región de Murcia y repartidas 10 lotes diferentes. Se seleccionaron animales sanos, con buen historial reproductivo y destinados a matadero por razones estratégicas o productivas. Los animales, tras su último periodo de lactación, fueron destetados y salieron en celo de manera natural a los 3-4 días post-destete. Las cerdas en celo fueron inseminadas artificialmente con una única dosis de inseminación procedente de verracos de fertilidad probada y sacrificadas 24-48 horas después en el matadero.

Los tractos reproductivos de las hembras fueron recogidos en la cadena de faenado del matadero y los ovarios y oviductos se transportaron al laboratorio en una estufa a 38,5 °C en menos de una hora desde el sacrificio. En el laboratorio se mantuvo todo el material a 38,5 °C, se registró el estado del ovario contabilizando los cuerpos hemorrágicos presentes en el mismo, se procedió a la disección del oviducto y su posterior lavado con medio atemperado TL-HEPES-PVA (Funahashi et al. 2000). Bajo el estereomicroscopio se evaluó la presencia de embriones en el lavado y se determinó su estadio de desarrollo como cigotos (presencia de dos corpúsculos polares extruidos) y embriones de 2-4 células. Los ovocitos con un único corpúsculo polar visible en el espacio perivitelino se clasificaron como ovocitos no fecundados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectó actividad ovárica en un total de 55 de las 62 cerdas estudiadas (88,71%), observándose 23,24±0,85 cuerpos hemorrágicos recientes por animal, correspondientes a puntos de ovulación, con una distribución similar entre ambos ovarios 11,58±0,54 vs. 11,65±0,48, p>0,05. Estos resultados se sitúan dentro de los rangos normales para las líneas hiperprolíficas que se producen comercialmente en la actualidad (Foxcroft et al. 2009, Kraeling & Weibel 2015). Del total de 55 cerdas con puntos de ovulación, se obtuvieron embriones en 48 de ellas (87,27%), con una media de 16,23±1,20 embriones totales/animal, por lo que la tasa de recogida media de embriones fue del 70,62%. Mientras que 4 cerdas con puntos de ovulación no se pudieron recoger embriones (7,27%) y en las 3 restantes se recogieron ovocitos no fecundados (5,45%).

En cuanto al estadio de desarrollo de los embriones obtenidos por animal la distribución fue de 11,42±1,23 cigotos, 4,35±1,18 embriones de 2-4 células y 0,46±0,23 correspondieron a embriones degenerados o rotos.

La recogida y uso de embriones producidos in vivo aporta la ventaja, frente a los producidos in vitro, de presentar una mejor calidad en términos de tasa de desarrollo embrionario, número

medio de células por blastocisto y diferente patrón epigenético (Cánovas et al. 2017). Además, la obtención de embriones producidos in vivo requiere de equipamiento y técnicas más sencillas que en la producción in vitro, y permite conocer el origen paterno y materno del embrión. Por el contrario, la obtención de embriones in vivo requiere de una buena coordinación con las granjas, la correcta identificación de los animales de interés para su seguimiento en la cadena de faenado del matadero y un menor número de embriones recogidos por sesión de trabajo. Así pues, en una sesión de trabajo con material in vivo se pueden recoger embriones de 6 animales que podrían producir 60-70 cigotos, mientras que en una única sesión de fecundación in vitro se pueden inseminar fácilmente hasta 600 ovocitos que pueden producir unos 150-200 cigotos viables (Ver comunicación Navarro-Serna et al).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cánovas et al. 2017. DNA methylation and gene expression changes derived from assisted reproductive technologies can be decreased by reproductive fluids. *eLife* 6, e23670 • Foxcroft G et al 2009 Prenatal programming of postnatal development in the pig. *Soc Reprod Fertil Suppl* 66 213-231. • Funahashi et al. 2000. Zona reaction in porcine oocytes fertilized in vivo and in vitro as seen with scanning electron microscopy. *Biol Reprod* 63 1437-1442. • Gadea et al. 2018. Generation of TPC2 knock out pig embryos by CRISPR-Cas technology. • *Reprod Dom Anim* 53 87-88. Kraeling & Webel 2015 Current strategies for reproductive management of gilts and sows in North America. *J Anim Sci Biotechnol* 6 3. Petersen et al. 2016 Efficient production of biallelic GGTA1 knockout pigs by cytoplasmic microinjection of CRISPR/Cas9 into zygotes. *Xenotransplantation* 23 338-346. • Wang et al. 2015. Efficient CRISPR/Cas9-mediated biallelic gene disruption and site-specific knockin after rapid selection of highly active sgRNAs in pigs. *Sci Rep* 5 13348. • Whitworth et al. 2014. Use of the CRISPR/Cas9 system to produce genetically engineered pigs from in vitro-derived oocytes and embryos. *Biol Reprod* 91 78.

Agradecimientos: Proyectos MINECO AGL2015- 66341-R y Fundación Seneca Región de Murcia 20040/GERM/16.

EMBRYO RECOVERY FROM THE OVIDUCT OF SOWS SLAUGHTERED AT THE END OF THEIR PRODUCTION STAGE

Porcine zygotes necessary to produce transgenic animals by Cripsr-Cas technology can be obtained from healthy animals with an optimal reproductive background which are discarded for market reasons at the end of their productive life. Here it is estimated the performance in the collection of zygotes from sows with the afore mentioned characteristics. Sixty-two sows (commercial hybrid), with 7-9 farrowing were selected. Animals showing heat at 3-4 days post-weaning were inseminated with a single dose and slaughtered 24-28h post-insemination. The ovaries-oviducts from each animal were collected and transported to the laboratory at 38.5 °C within one hour. Hemorrhagic points in each ovary were recorded and oviduct flushed with tempered TL-HEPES-PVA medium. Under the stereomicroscope, the embryos were collected and classified as nonfertilized oocytes (one polar body), zygotes (two polar bodies extruded) and 2-4 cell embryo. Results showed that 88.71% of sows had ovulated presenting 23.24 hemorrhagic points/animal and similar distribution per ovary (11.58 vs. 11.65). Embryos were recovered in 87.27% of animals with 16.23 embryo/animal (11.42 zygotes, 4.35 2-4 cell embryo and 0.46 degenerated or broken) and 70.62% recovery rate. In 7.27% of sows with ovulation activity no embryos were collected and 5.45% had non fertilized oocytes.

Keywords: ovulation, embryo, recovery, efficiency, pig

SISTEMA OPTIMIZADO PARA LA PRODUCCIÓN IN VITRO DE EMBRIONES PORCINOS Y EFECTO DE LA MICROINYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA EN SU RENDIMIENTO

Navarro-Serna^{1,2}, S., París-Oller^{1,2}, E., Gadea^{1,2}, J. y Romar^{1,2}, R.

¹Dept. Fisiología. Universidad de Murcia. Murcia 30.100 ²MIB-Arrixaca; romar@um.es

INTRODUCCIÓN

La aplicación de técnicas avanzadas en la generación de cerdos modificados genéticamente requiere de la producción y manipulación de un número elevado de embriones porcinos en estadio de cigoto de alta calidad. Estos embriones pueden producirse *in vivo*, y recogerse del oviducto mediante técnicas quirúrgicas o tras el sacrificio del animal (Gadea et al. 2018 y este número), o bien *in vitro* a partir de ovocitos recogidos de ovarios de animales procedentes de matadero, madurados y fecundados *in vitro* (revisado por Romar et al. 2016). Estos sistemas *in vitro* precisan de una optimización con el objetivo de incrementar su rendimiento y obtener un mayor número de cigotos con un mejor potencial de desarrollo embrionario. Estas mejoras pasan por aproximar las condiciones *in vitro* a las que los gametos encuentran *in vivo* lo que implica reducir sensiblemente las concentraciones de oxígeno (García-Martínez et al. 2018), seleccionar los espermatozoides mediante un sistema de swim-up, para reducir el daño espermático, y emplear semen congelado en lugar de refrigerado ya que aumenta notablemente la repetitividad de resultados al evitar la variabilidad generada por la distinta calidad seminal presente entre verracos e incluso entre eyaculados del mismo individuo.

La viabilidad de un sistema con estas características en la producción de embriones transgénicos se puede valorar inyectando en el citoplasma de los cigotos sgARN y Cas9 (en forma de RNA o proteína) mediante el uso de un equipo de micromanipulación similar al que se usa en la técnica ICSI, y posteriormente cultivando los embriones hasta el momento de su estudio o transferencia a cerdas receptoras.

En este trabajo se analizó la eficiencia de un sistema de producción *in vitro* de cigotos y embriones con condiciones optimizadas durante la maduración (MIV), fecundación (FIV) y cultivo embrionario (CE) y se valoró el posible efecto dañino que la inyección de los presuntos cigotos con PBS puede tener en el ulterior desarrollo embrionario.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los complejos cúmulus-ovocito (COCs) porcinos fueron obtenidos de ovarios procedentes de matadero y sometidos a MIV en medio NCSU-37 durante 40-44h (Cánovas et al. 2017). Tras la MIV, los COCs fueron parcialmente desnudados e inseminados en medio TALP con semen eyaculado congelado seleccionado mediante la técnica de swim-up empleando medio NaturARTs-PIG sperm swim-up (EmbryoCloud, Murcia, Spain) a una concentración entre 30.000-40.000 espermatozoides/ml.

A las 10-12h post-inseminación, todos los cigotos se transfirieron a PBS, la mitad de ellos fueron microinyectados con PBS y la otra mitad no se microinyectó (grupo control). A continuación todos los cigotos continuaron el cultivo en TALP hasta las 18-20 h post-inseminación. En este punto, una alícuota de los presuntos cigotos de cada grupo se seleccionó de forma aleatoria para ser fijados en glutaraldehído, teñidos con Hoechst y evaluados mediante microscopía de fluorescencia para determinar los resultados de la FIV (Cánovas et al. 2017) obteniéndose datos de porcentaje de penetración, número de espermatozoides por ovocito, número de pronúcleos masculinos, tasa de monospermia y rendimiento de la FIV. El resto de los presuntos cigotos fueron cultivados en medio NCSU-23 (Petters y Wells, 1993) suplementado con lactato y piruvato durante 24h tras las cuales se evaluó el porcentaje de embriones en 2-4 células (% cleavage). Los embriones divididos se cultivaron en medio NCSU-23, reemplazando el lactato-piruvato por glucosa, durante 6 días más tras los que se evaluó el porcentaje de blastocistos obtenidos. Las condiciones de cultivo durante la MIV, FIV y CE fueron 38,5°C, 5% CO₂ y 7% O₂ (García-Martínez et al. 2018). Se compararon las tasas de cleavage y formación de blastocistos entre grupos mediante el test de chi cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de penetración evaluada en 515 ovocitos fue del 83,3%, con una tasa de monospermia del 42,0%, lo que arroja un porcentaje de presuntos cigotos (rendimiento de FIV) del 35,0%. Los ovocitos presentaron una media de $2,1 \pm 0,1$ espermatozoides/ovocito de los que $1,3 \pm 0,1$ eran pronúcleos masculinos.

Tras el proceso de inyección, el porcentaje de división temprana (cleavage %) fue de 63,2% (246/389) siendo similar al del grupo control (67,4%, 285/423; $p=0,23$). Sin embargo, la tasa de formación de blastocistos fue sensiblemente inferior con valores de 30,1% vs. 40,4% ($p=0,014$) blastocistos/cleavage y 19,0% vs. 27,2% ($p=0,006$) blastocistos/zigotos respectivamente para cigotos microinyectados y control (no microinyectados).

Los rendimientos obtenidos en el proceso de producción de embriones son superiores a los descritos en la bibliografía (revisado por Romar et al. 2016). La optimización de todo el sistema de MIV-FIV-CE con una adecuación de los valores de O_2 y CO_2 a niveles fisiológicos detectados *in vivo* en el oviducto y útero de cerdas (García-Martínez et al., 2018) permite mejorar tanto las tasas de cleavage como de formación de blastocistos. Por otra parte, el uso de semen congelado en un sistema de swim-up facilita la estandarización del sistema y reduce notablemente la variabilidad entre replicados.

El efecto lesivo del proceso de inyección observado sobre el cigoto puede estar relacionado con los cambios de temperatura y condiciones de cultivo al transportar los cigotos desde el incubador hasta el microscopio donde serán inyectados, la iluminación de los mismos necesaria para su observación (Martínez Soto et al. 2008), el efecto mecánico de la sujeción del cigoto con una pipeta donde se ejerce un vacío y la rotura de la zona pelúcida y el olema con la aguja de microinyección, como previamente se ha evidenciado en el uso de la técnica ICSI en la especie porcina (revisado por García-Roselló et al. 2009).

La posibilidad de obtener cerca de un 20% de blastocistos de los cigotos inyectados con este sistema optimizado permite generar un elevado número de embriones modificados genéticamente en una sesión de trabajo, en la que se pueden manejar fácilmente hasta 600 ovocitos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cánovas S, Ivanova E, Romar R, García-Martínez S, Soriano-Úbeda C, García-Vázquez FA, Saadeh H, Andrews S, Kelsey G & Coy P. 2017. DNA methylation and gene expression changes derived from assisted reproductive technologies can be decreased by reproductive fluids. *Elife* 6:e23670. • Gadea J, García-Vázquez FA, Hachem A, Bassett A, Romero-Aguirregomezcorta J, Cánovas S, Romar R & Parrington J. 2018. Generation of TPC2 knock out pig embryos by CRISPR-Cas technology. *Reprod Animals* 53: 87-88. • García-Martínez S, Sánchez Hurtado MA, Gutiérrez H, et al. 2018. Mimicking physiological O_2 tension in the female reproductive tract improves assisted reproduction outcomes in pig. *MHR Basic Sci Reprod Med* 24:260-270. • García-Rosello E, García-Mengual E, Coy P, Alfonso J & Silvestre MA. 2009. Intracytoplasmic sperm injection in livestock species: an update. *Reprod Domest Anim* 44 143-151. • Martínez-Soto JC, Amoroch B, Lopez D, Landeras J & Gadea J. 2008. Light exposure and sperm nuclear DNA damage in ICSI procedures. *Fertil Steril* 90: S411-S412. • Romar R, Funahashi H & Coy P. 2016. In vitro fertilization in pigs: New molecules and protocols to consider in the forthcoming years. *Theriogenology* 85: 125-134.

Agradecimientos: Proyectos MINECO AGL2015- 66341-R, Fundación Seneca Región de Murcia 20040/GERM/16 y Ministerio de Educación, Cultura y Deporte por las ayudas para la Formación de Profesorado Universitario.

OPTIMIZED SYSTEM FOR THE IN VITRO PRODUCTION OF PORCINE EMBRYOS AND EFFECT OF INTRACITOPLASMIC MICROINJECTION ON ITS FINAL PERFORMANCE

ABSTRACT. Genetically modified pig generation requires a high number of zygotes with high quality. To achieve this goal it is necessary to optimize the current in vitro systems by reducing the oxygen tension and using frozen-thawed semen separated by swim-up method. In this work, the viability of such a system was assessed by injecting PBS within the ooplasm of porcine zygotes. Porcine cumulus-oocyte complexes were matured (NCSU-37, 40-44h), partially denuded and inseminated (TALP) with frozen ejaculated semen selected by the swim-up technique (NaturARTs-PIG sperm swim-up medium) at $3-4 \times 10^4$ spermatozoa/ml. At 10-12h post-insemination (hpi), putative zygotes were transferred to PBS, half microinjected with PBS and half not (control) and cultured until 18-20hpi to assess fertilization results in an aliquot. Remaining zygotes were transferred to NCSU-23 to assess cleavage (48hpi) and blastocyst (168hpi) rates. Conditions during all steps were 38.5°C, 5% CO₂ and 7% O₂. Penetration rate was 83.3%, with 42.0% monospermy rate and 35.0% fertilization yield. After microinjection, cleavage rate was similar to control group (63.2% vs. 67.4%). However, blastocyst formation rate was lower: 30.1% vs. 40.4% blastocysts/cleavage and 19.0% vs. 27.2% blastocysts/zygotes, respectively for microinjected and control group. The yield of this system is higher than the described in the literature.

Keywords: embryo, swim-up, oxygen tension, pig.

Genética

ESTIMACIÓN DE LA VARIANZA ADITIVA Y DE DOMINANCIA EMPLEANDO INFORMACIÓN GENÓMICA PARA CARACTERES DE CRECIMIENTO EN UNA POBLACIÓN DE BOVINOS DE CARNE

García-Baccino¹, C.A., Lourenco², D., Miller³, S., Cantet^{1,4}, R. J.C. y Vitezica⁵, Z. G.
¹ Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. ² Department of Animal and Dairy Science, University of Georgia, Athens, 30602, USA. ³ Angus Genetics Inc., St. Joseph, Missouri, USA. ⁴ INPA, UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina. ⁵ INP ENSAT, UMR 1388 GenPhySE, 31326 Castanet-Tolosan, France. bcagarci@agro.uba.ar

INTRODUCCIÓN

El fenotipo de ciertos caracteres de interés económico puede verse influenciado por efectos genéticos no aditivos tales como la dominancia. Incluirlos en los modelos de evaluación genómica puede tener ventajas como el aumento en la precisión de los valores de cría predichos y resultar útil a la hora de definir apareamientos que permitan maximizar la performance productiva de los animales de la próxima generación, entre otros (Toro y Varona, 2010). Dadas estas ventajas y, sumado al hecho de contar con crecientes volúmenes de información molecular, en los últimos años se renovó el interés por considerar los efectos no aditivos dentro de los modelos de evaluación genética (Toro y Varona, 2010; Su et al., 2012; Vitezica et al., 2013). El objetivo de este trabajo es estimar la varianza aditiva y de dominancia (varianza de las desviaciones de dominancia) en la población americana de Angus para caracteres de crecimiento y evaluar los beneficios potenciales de incluir efectos de desviaciones de dominancia en las evaluaciones genómicas de bovinos de carne.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos empleados en el análisis fueron proporcionados por la American Angus Association. Se emplearon registros fenotípicos de tres caracteres de crecimiento: peso al nacer (PN), peso al destete (PD) y ganancia de peso post-destete (GPD) de un total de 19.375 animales, todos machos con información fenotípica para al menos uno de los tres caracteres. Los animales fueron genotipados con el panel *BovineSNP50k v2 BeadChip* (Illumina) de 54.609 marcadores, de los cuales 39.245 pasaron un control de calidad estándar empleando el software preGSf90 (Aguilar et al., 2014) y fueron empleados para construir las matrices de relaciones genómicas aditivas y de dominancia (**G** y **D**, respectivamente).

Los fenotipos fueron analizados empleando un modelo GBLUP univariado. Los componentes de varianza se estimaron empleando dos modelos: 1) MG: sólo con efectos aditivos y 2) MGD: con efectos aditivos y de dominancia. Los modelos son:

$$\text{MG: } \mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{f}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{e} \quad \text{y} \quad \text{MGD: } \mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{f}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{Z}\mathbf{v} + \mathbf{e},$$

donde **y** es un vector que contiene a los fenotipos observados para cada animal y para cada carácter, **X** es una matriz de diseño que relaciona los fenotipos con los efectos fijos, **β** es un vector de efectos fijos (grupos de contemporáneos), el vector **f** contiene los coeficientes de consanguinidad genómicos de los animales calculados como la proporción de loci homocigotas (Sillio et al., 2013; Xiang et al., 2016). Por su parte, **b** es el parámetro de la depresión consanguínea, **Z** es una matriz de incidencia que relaciona el fenotipo con los valores de cría y las desviaciones de dominancia, **u** es un vector con los valores de cría, **v** es un vector de desviaciones de dominancia y **e** es un vector de residuos. Los efectos maternos se encontraban completamente confundidos con el residuo del modelo, motivo por el cual no fueron incluidos en el análisis de PN y PD. La matriz **G** fue calculada siguiendo a VanRaden (2008) y **D** fue construida siguiendo a Vitezica et al. (2013).

La estimación de componentes de varianza se llevó a cabo empleando un muestreo de Gibbs y REML, empleando software GIBBS2F90 y REMLF90 (Misztal et al., 2014). Para cada carácter se generaron 200.000 muestreos bajo el enfoque bayesiano de los que se descartaron los 10.000 iniciales como *burn-in*. Se almacenó una de cada 10 muestras de las 190.000 restantes. La convergencia se verificó empleando un análisis visual de las cadenas y su variabilidad. Los parámetros iniciales de REML se obtuvieron a partir de las estimaciones del muestreo de Gibbs. Los resultados finales fueron similares bajo ambos enfoques.

Como criterio de bondad de ajuste se empleó, el test de cociente de verosimilitudes y el criterio Akaike (AIC) para evaluar y comparar la bondad de ajuste de los modelos MG y MGD. Para

la primera prueba, los valores χ^2 se calcularon como $\chi^2 = -2\log L_{MG} + 2\log L_{MGD}$, donde el primer término involucra a la verosimilitud del modelo MG y el segundo, la del modelo MGD. Los valores p se obtuvieron de una distribución χ^2 mixta de cero y un grado de libertad, tal como fue propuesto por Visscher (2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las estimaciones de los componentes de varianza obtenidos para cada uno de los tres caracteres de crecimiento empleando los modelos MG y MGD. La varianza de las desviaciones de dominancia (σ_D^2) no superó el 10% (variando dentro de un rango comprendido entre el 3 al 8 %) del valor de la varianza genética aditiva para todos los caracteres analizados. Estos resultados permiten suponer que existe una reducida variación genética no aditiva debida a la dominancia para los caracteres de crecimiento en la población bajo estudio. Por su parte, las estimaciones obtenidas para la varianza genética aditiva (σ_A^2) de cada carácter fueron consistentes con otros valores previamente calculados para la misma población (Lourenco et al., 2015). Además, la estimación de la varianza genética aditiva no se vio afectada por la inclusión de la dominancia en el modelo (MGD) lo cual empíricamente muestra la partición ortogonal de la varianza genética (propiedad que asume EHW y LE).

Tabla 1. Estimaciones (desvío estándar) de los componentes de varianza para cada uno de los caracteres de crecimiento empleando dos modelos: MG y MGD.

Carácter	PN		PD		GPD	
	MG	MGD	MG	MGD	MG	MGD
σ_A^2	6,27 (0,33)	6,28 (0,33)	222,75 (14,61)	223,55 (14,82)	270,76 (20,42)	270,30 (21,94)
σ_D^2	-	0,18 (0,15)	-	10,02 (4,98)	-	21,68 (10,95)
h_A^2	0,25	0,25	0,16	0,16	0,16	0,16
h_D^2	-	0,01	-	0,01	-	0,01
σ_D^2/σ_A^2	-	0,03	-	0,04	-	0,08
σ_e^2	18,82 (0,24)	18,65 (0,28)	1186,28 (14,26)	1176,88 (14,86)	1388,81 (19,87)	1369,01 (26,00)

El modelo con mejor ajuste fue el MG para los tres caracteres de crecimiento (Tabla 2). Es decir que incluir la dominancia en el modelo no mejora el ajuste de los datos. Similares resultados se obtuvieron al evaluar los modelos empleando el Criterio de Información de Akaike (AIC), los valores se presentan la Tabla 2. Los valores negativos del estadístico χ^2 para PD y GPD pueden deberse al empleo de aproximaciones (redondeo numérico) ya que la distribución χ^2 toma únicamente valores no negativos

Se obtuvieron también estimaciones de la depresión consanguínea expresadas en términos del cambio en la media fenotípica para cada carácter por cada 10% de incremento en la consanguinidad. Es así que para el caso del carácter PN se espera una reducción de 0,5 kg en la media del carácter por cada 10% de incremento en la consanguinidad. Para PD y GPD se espera una reducción de aproximadamente 10,2 kg y 10,7 kg respectivamente.

Los resultados muestran que, el beneficio de incluir los efectos no aditivos (desviación de dominancia) en el modelo de evaluación, es limitado para caracteres de crecimiento en el ganado de carne Angus.

Tabla 2. Bondad de ajuste y valores de AIC para los modelos MG y MGD y prueba de bondad de ajuste (valor χ^2 y p valor) entre los modelos MG y MGD para cada uno de los tres caracteres de crecimiento (PN, PD y GPD).

Carácter	-2 logL				AIC	
	MG	MGD	χ^2	P-valor	MG	MGD
PN	127.529,78	127.527,76	2,02	0,08	127.533,78	127.533,75
PD	203.515,41	203.515,89	-0,49	1,00	203.519,41	203.521,89
GPD	163.439,91	163.441,62	-1,71	1,00	163.443,91	163.447,62

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Aguilar, I., Misztal, I., Tsuruta, S., Legarra, A. & Wang, H. 2014. Proc. 10th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod. • Lourenco, D. A. L., Tsuruta, S., Fragomeni, B. O., Masuda, Y., Aguilar, I., Legarra, A., Bertrand, J. K., Amen, T. S., Wang, L., Moser, D. W. & Misztal, I. 2015. J. Anim. Sci. 93(6), 2653-2662. • Misztal, I., Tsuruta, S., Lourenco, D.A.L., Masuda, Y., Aguilar, I., Legarra, A. et al. 2014. Manual for BLUPF90 family of programs. • Silió, L., Rodríguez, M. C., Fernández, A., Barragán, C., Benítez, R., Óvilo, C. & Fernández, A. I. 2013. J. Anim. Breed. Genet. 130(5): 349-360. • Su, G., Christensen, O. F., Ostersen, T., Henryon, M. & Lund, M. S. 2012. PLoS ONE 7:e45293. • Toro, M. A. & Varona, L. 2010. GSE. 42: 33. • VanRaden, P. M. 2008. J. Dairy Sci. 91: 4414-23. • Visscher, P. M. 2006. Twin Res Hum. Genet. 9:490-495. • Vitezica, Z. G., Varona, L. & Legarra, A. 2013. Genetics 195: 1223-1230. • Xiang, T., Christensen, O. F., Vitezica, Z. G. & Legarra, A. 2016. GSE 48:92.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos INRA-SELGEN EpiNet, UBACyT 5015/2016 y el Programa de Becas Saint-Exupéry 2015-2016 (MinCyT Argentina – Embajada de Francia). Los autores agradecen a la American Angus Association la disponibilidad de los datos genotípicos y fenotípicos. Los análisis fueron realizados en la plataforma Genotoul Bioinformatics Toulouse Midi-Pyrenees.

ESTIMATING DOMINANCE GENETIC VARIANCES FOR GROWTH TRAITS IN AMERICAN ANGUS CATTLE USING GENOMIC MODELS

ABSTRACT: The potential benefits of including non-additive genetic effects in the model and the increasing availability of large genomic data sets had recently renewed the interest in including non-additive genetic effects in genomic evaluation models. Data from 19,375 genotyped American Angus animals was used to estimate additive and dominant variance components for three growth traits: birth weight, weaning weight and post-weaning gain, and to evaluate the benefit of including dominance effects in beef cattle genomic evaluations. Two models were used: one including only additive effects (MG) and other including both additive and dominant effects (MGD). Dominance deviation variance ranged from 3% to 8% of the additive variance for all three traits. Gibbs sampling and REML estimates showed good concordance. Goodness of fit was assessed by a likelihood ratio test and AIC. For all traits, MG fitted the data better than MGD. There is little evidence of non-additive genetic variation for growth traits in the American Angus population as only a small proportion of genetic variation was explained by non-additive effects. A genomic model that includes the dominance effect may not be of superior fit compared to only additive effect. Consequently, the potential benefit of including non-additive effects in genomic evaluation models is limited for growth traits in beef cattle.

Keywords: genomic selection, dominance, beef cattle, growth traits

BENEFICIO DE LA EVALUACIÓN GENÓMICA DENTRO DE FAMILIAS EN ESQUEMAS DE ACUICULTURA CON TAMAÑOS FAMILIARES REDUCIDOS

García-Ballesteros¹, S., Fernández¹, J. y Villanueva¹, B.

¹ Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra de La Coruña km 7.5, 28040 Madrid, España.; silvia.garciab@inia.es

INTRODUCCIÓN

Muchos caracteres de relevancia económica en los programas de selección de acuicultura tales como resistencia a enfermedades no pueden medirse directamente en los candidatos a la selección. Para estos caracteres, el fenotipo se obtiene típicamente en los hermanos de los candidatos y la selección se aplica solamente entre familias. Por tanto, la variación dentro de familias es ignorada en el proceso de selección cuando se utilizan estimas de valores mejorantes obtenidas con BLUP. En contraste, cuando aplicamos evaluación genómica, la selección permite tener en cuenta tanto la variación entre como dentro de familias y así aumentar la precisión de la evaluación y la respuesta a la selección (Meuwissen et al., 2001; Nielsen et al., 2009). Sin embargo, dado el gran número de candidatos y de individuos medidos en los programas de mejora en acuicultura, la aplicación de evaluación genómica conlleva un alto coste, particularmente si se tiene en cuenta el bajo valor económico del pez seleccionado.

Con el objetivo de reducir los costes de genotipado en estos programas, Lillehammer et al. (2013) propuso la evaluación genómica dentro de familias (WFGE). Con este método, sólo el componente dentro de familias del valor mejorante es estimado utilizando la genómica. Dado que los niveles de desequilibrio de ligamiento dentro de familias son altos, la densidad de marcadores y por tanto el coste de genotipado puede reducirse y obtener todavía una mayor precisión que con BLUP.

A través de un estudio de simulación de programas de mejora del salmón con gran tamaño familiar (200 peces por familia), se obtuvo hasta un 15% mayor ganancia genética y un 15% menor consanguinidad con WFGE (usando 50 o 100 SNPs por Morgan) que con BLUP. Sin embargo, dado que la evaluación genómica se aplica sólo dentro de familias, la precisión de este método puede depender del tamaño familiar, que es bastante menor en otras especies acuícolas.

El objetivo de este estudio fue predecir la precisión y la consanguinidad de la WFGE en esquemas de acuicultura con un tamaño familiar reducido. Dos caracteres (crecimiento y resistencia a enfermedades), fueron incluidos en el objetivo de selección.

MATERIAL Y MÉTODOS

Modelos genético y poblacional

El genoma simulado se compuso de 20 cromosomas y el tamaño total del genoma fue 15 Morgans. Este tamaño se aproxima al de especies tales como rodaballo, lubina y dorada. Cada cromosoma contenía 10.000 loci bialélicos espaciados uniformemente que incluían 10, 50 o 100 SNPs por Morgan. Todos los marcadores fueron espaciados uniformemente dentro de cada cromosoma. La frecuencia inicial para todos los loci fue 0,5.

La población base se creó en dos etapas. Primero, se generó una población en equilibrio mutación-deriva seleccionando aleatoriamente 500 machos y 500 hembras a lo largo de 4.000 generaciones discretas. La tasa de mutación por locus y generación fue $2,5 \times 10^{-3}$ para todos los loci. Las mutaciones se distribuyeron al azar entre individuos, cromosomas y loci. Al generar los gametos, el número de recombinaciones por cromosoma se extrajo de una distribución de Poisson con una media igual a la longitud del genoma. Al final de este proceso la heterocigosis esperada de la población ya había alcanzado un valor de equilibrio. En ese punto, 200 machos y 100 hembras por réplica (100 réplicas) fueron muestreados y apareados al azar (cada hembra fue apareada con dos machos) para crear la población base.

Caracteres y fenotipos

Dos caracteres (crecimiento y resistencia a enfermedades) no correlacionados fueron simulados. Cada carácter estuvo controlado por 1.000 loci muestreados al azar de todos los loci simulados, en la generación cero. La varianza fenotípica inicial fue 1 para ambos caracteres y las heredabilidades fueron 0,4 y 0,2 para crecimiento y resistencia, respectivamente. Los valores fenotípicos se obtuvieron añadiendo al valor genético un efecto ambiental obtenido de una distribución normal de media 0 y varianza V_E .

Todos los candidatos a la selección fueron medidos para crecimiento pero no para resistencia. Este último carácter fue medido en los hermanos de los candidatos. El número de hermanos medidos varió en los distintos escenarios (5, 10, 20 o 40 peces por familia). El número total de peces creados por generación fue 6.000 (candidatos a la selección) más 1.000, 2.000, 4.000 u 8.000 peces medidos para resistencia.

Métodos de evaluación

Se consideraron dos métodos de evaluación: BLUP y WFGE. En los esquemas WFGE, los valores mejorantes estimados (EBV) son combinaciones de la estima del componente familiar y la estima del componente dentro de familias. En particular, el EBV para un individuo i de la familia l es $EBV_{il} = \frac{1}{2} EBV_{si} + \frac{1}{2} EBV_{di} + w_{il}$, donde $(\frac{1}{2} EBV_{si} + \frac{1}{2} EBV_{di})$ es el EBV promedio de la familia l obtenido con BLUP y w_{il} es la estima del componente intrafamiliar obtenida con evaluación genómica (método SNP-BLUP), utilizando solo información de la familia l (genotipos y fenotipos). La densidad de los marcadores utilizados en WFGE fue 10, 50 y 100 SNPs per Morgan. El software GS3 (Legarra et al., 2011) fue usado para ambos tipos de evaluación (BLUP y genómica).

Selección

Los EBV para crecimiento y resistencia se combinaron en un índice de selección en que el mismo peso económico fue dado a ambos caracteres. En cada generación se seleccionaron los 200 machos y las 100 hembras con el mayor valor del índice y cada hembra se cruzó con dos machos para formar 200 familias de hermanos completos. Cada cruce produjo 30 peces candidatos a la selección (un total de 6.000 por generación en todos los escenarios simulados). La selección se realizó durante 3 generaciones discretas.

Se simularon un total de 100 réplicas y los resultados presentados son promedios de todas las réplicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra la precisión de los valores mejorantes obtenida para ambos caracteres con BLUP y WFGE. Como era esperado, la precisión para crecimiento fue mayor con WFGE que con BLUP y aumentó con el número de SNPs utilizados en WFGE. La precisión para resistencia fue mayor con BLUP que con WFGE cuando sólo 5 o 10 hermanos por familia fueron fenotipados. Al menos 20 hermanos medidos para resistencia fueron necesarios para obtener una precisión similar con WFGE que con BLUP. Con 40 hermanos fenotipados, la precisión con WFGE fue hasta un 4% mayor que con BLUP cuando 100 SNPs por Morgan fueron utilizados.

El coeficiente de consanguinidad promedio en la última generación ($t = 3$) con ambos métodos de evaluación y diferentes densidades de marcadores e individuos fenotipados para resistencia se muestran en la tabla 2. Apreciamos una clara ventaja de WFGE sobre BLUP en todos los escenarios. El coeficiente de consanguinidad fue hasta un 21% menor con WFGE que con BLUP. La reducción en la consanguinidad fue mayor con mayor densidad de SNPs.

Tabla 1. Precisión de los valores mejorantes en $t = 1$ para ambos caracteres con BLUP y WFGE utilizando diferente número de SNPs por Morgan (n_{SNP}), en escenarios con diferente número de hermanos medidos para resistencia por familia (n_{ts}).

n_{ts}	BLUP	WFGE		
		$n_{SNP} = 10$	$n_{SNP} = 50$	$n_{SNP} = 100$
<i>Crecimiento</i>				
	0,768	0,770	0,779	0,788
<i>Resistencia</i>				
5	0,452	0,144	0,202	0,194
10	0,513	0,436	0,486	0,478
20	0,589	0,562	0,592	0,594
40	0,635	0,622	0,652	0,661

Tabla 2. Coeficiente de consanguinidad promedio en $t = 3$ con BLUP y WFGE utilizando diferente número de SNPs por Morgan (n_{SNP}), en escenarios con diferente número de hermanos medidos para resistencia por familia (n_{ts}).

n_{ts}	BLUP	WFGE		
		$n_{SNP} = 10$	$n_{SNP} = 50$	$n_{SNP} = 100$
5	0,052	0,046	0,044	0,041
10	0,051	0,047	0,045	0,045
20	0,052	0,048	0,047	0,045
40	0,056	0,048	0,046	0,045

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Legarra, A., Ricardi, A. & Filangi, O. 2011. Available at: <http://genoweb.toulouse.inra.fr/~alegarra>.
- Lillehammer, M., Meuwissen, T.H.E. & Sonesson, A.K. 2013. *Genet. Select. Evol.* 45: 39.
- Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J. & Goddard, M.E. 2001. *Genetics* 157: 1819-29.
- Nielsen, H.M., Sonesson, A.K., Yazdi, H. & Meuwissen, T.H.E. 2009. *Aquaculture* 289: 259-64.

Agradecimientos: Este trabajo se ha llevado a cabo con financiación procedente del European Union's Seventh Framework Programme (KBBE.2013.1.2-659 10) bajo concesión de la subvención n° 613611 y del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, España (CGL2016-75904-C2-2-P).

BENEFITS FROM WITHIN-FAMILY GENOMIC EVALUATION IN AQUACULTURE SCHEMES WITH SMALL FAMILY SIZES

ABSTRACT: Many economically important traits in aquaculture programmes cannot be recorded on selection candidates. For these traits, recording is performed on sibs of the candidates and selection is applied only between families. Genomic evaluation can take into account both between and within family variation and thus can increase the accuracy of evaluation and the response to selection. A particular cost-efficient genomic approach is within-family genomic evaluation (WFGE), as the levels of linkage disequilibrium within families are high and the number of markers required are reduced. Given that the genomic evaluation is performed only within families the accuracy of WFGE would depend on the family size. The aim of this study was to predict the benefit of WFGE from BLUP when using different marker densities in schemes with small family sizes. Selection was for two uncorrelated traits including a candidate (growth) and a sib (disease resistance) trait with the same economic weight in the selection index. Results showed that at least 20 sibs need to be phenotyped for the sib trait and 50 SNPs per Morgan need to be used in WFGE to obtain similar accuracies than with BLUP. Inbreeding was reduced by up to 21% with WFGE when compared to BLUP.

Keywords: within-family genomic evaluation, aquaculture, family size, marker density

PONDERANDO PANELES DE SNP PARA PREDICCIÓN GENÓMICA POR SIMULATED ANNEALING

Martín de Hijas-Villalba¹, M., Varona², L., Noguera³, J.L., Ibáñez-Escriche⁴, N., Rosas⁵, J.P., y Casellas¹, J.

¹Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona). ²Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza. ³Genètica i Millora Animal, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, 25198 Lleida. ⁴Departament de Ciència Animal, Universitat Politècnica de València, 46071 València. ⁵Programa de Mejora Genética "Castúa", INGA FOOD SA, 06200 Almendralejo, España.; Melani.MartinDeHijas@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Los programas de selección son una herramienta esencial para el incremento de la producción de alimentos y habitualmente utilizan toda la información disponible (ej., fenotipos, genealogía e incluso datos genómicos) para calcular los valores mejorantes de los candidatos a la reproducción. En este contexto, varios estudios han demostrado que los programas de selección basados en datos genómicos son más precisos al predecir dichos valores mejorantes (**GEBV**) que los métodos convencionales basados únicamente en el fenotipo y la genealogía (Schaeffer, 2006; Legarra et al., 2008). Por esta razón, los modelos de predicción genómica han sido implementados en programas de selección de animales y plantas en todo el mundo (Meuwissen et al., 2001; Gianola, 2013).

Actualmente, el método para evaluación genética se basa principalmente en gBLUP (*genomic Best Linear Unbiased Prediction*, Henderson, 1973; Gianola et al., 2003). El gBLUP utiliza una matriz de relaciones genómicas (**G**), que se calcula a partir de la información de miles de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), cada uno de ellos con el mismo nivel de importancia. Sin embargo, estudios previos han obtenido mejoras en predicción genómica cuando no todos los SNPs tienen el mismo peso en la construcción de **G**. En modelos Bayesianos, el modelo BayesRC de MacLeod et al. (2016) que incorpora conocimiento biológico previo al modelo sería un ejemplo. En él, las diferentes regiones de DNA se distribuyen en diferentes clases dependiendo de sus probabilidades de contener genes causales del carácter bajo estudio. En cuanto a modelos basados en gBLUP, el modelo iterativo WssgBLUP de Wang et al. (2012) propone ponderar los SNPs a partir de los GEBV obtenidos tras un ssgBLUP previo tradicional. Pero el presente estudio está basado en un modelo previo de Casellas (2012) que utilizó *simulated annealing* (SA) para decidir qué SNPs debían contribuir en la creación de **G** (ponderación 1) y cuáles no (ponderación 0). En él, se obtuvieron resultados positivos, pero la eliminación de SNPs puede conllevar la pérdida de información, y por ello, en este estudio se propone un nuevo mecanismo para la construcción de **G**, donde todos los SNPs pueden participar en ella, pero con diferente ponderación. En el nuevo modelo (**modelo W**), los SNPs toman valores entre 0 y 1 y su rendimiento fue comparado con el modelo estándar gBLUP (**modelo G**) en función a su precisión al calcular los valores genéticos predichos en poblaciones simuladas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos simulados utilizados pertenecieron a dos tipos de poblaciones. Ambos tipos consistían en poblaciones de individuos diploides con cromosomas autosómicos de 100 cM con 6.000 SNPs y 250 QTL (Quantitative Trait Loci) cada uno, que evolucionaron durante 1.000 generaciones ($N_e=100$) más 5 generaciones finales ($N_e=200$) no superpuestas y con apareamiento aleatorio. La diferencia entre las poblaciones consistió básicamente en el número de cromosomas. Mientras las poblaciones P1 contenían un único cromosoma autosómico, las poblaciones P2 tenían 30. Los genotipos de las generaciones descendientes fueron simulados teniendo en cuenta los fenómenos de recombinación, mutación y desequilibrio genético. Una vez creados los valores genéticos, los fenotipos se obtuvieron para cada individuo añadiendo un residuo aleatorio (Lillehammer et al., 2013) obtenido de una distribución normal y estandarizado para cada heredabilidad.

Los datos simulados fueron analizados en el contexto de la evaluación genética implementando un gBLUP bajo el modelo jerárquico:

$$y = \mu + Za + e$$

donde \mathbf{y} era el vector de observaciones (fenotipos), $\boldsymbol{\mu}$ la media poblacional, \mathbf{a} los efectos genéticos aditivos del animal, \mathbf{e} el vector de efectos residuales y \mathbf{Z} la matriz de incidencia que relacionaba los fenotipos con los efectos genéticos del animal (Mrode y Thompson, 2005). Se construyeron las ecuaciones de modelo mixto (MME, Henderson, 1950).

$$\begin{pmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\alpha \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \hat{\boldsymbol{\mu}} \\ \hat{\mathbf{a}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} X'y \\ Z'y \end{pmatrix}$$

donde \mathbf{A} era la matriz de parentescos (Wright, 1922) y \mathbf{X} un vector columna de unos, capturando la media poblacional. Como los datos simulados produjeron no solo datos fenotípicos sino también genómicos, la matriz \mathbf{A} fue generalizada a una matriz de relaciones genómicas \mathbf{G} (Legarra et al., 2009) calculada siguiendo el primer método de VanRaden (2008). Finalmente, para evitar singularidades durante la inversión de la matriz \mathbf{G} , se asumió una reparametrización estándar del modelo (Henderson, 1984), obteniendo:

$$\mathbf{y} = \boldsymbol{\mu} + \mathbf{Z}(\mathbf{G}\mathbf{i}) + \mathbf{e}$$

donde $\mathbf{i} = \mathbf{G}^{-1}\mathbf{a}$ seguía una distribución normal $N(\mathbf{0}, \mathbf{G}^{-1}\mathbf{G}\mathbf{G}^{-1}\sigma_g^2)$.

El modelo W fue resuelto por el método iterativo de Gauss-Seidel (Mrode & Thompson, 2005) bajo *simulated annealing* basado en el error cuadrático medio (MSE) de los fenotipos como parámetro estadístico de comparación. La correlación entre valores mejorantes simulados (TBV) y predichos (GEBV) fue también calculada y los resultados de ambos estadísticos se compararon con el modelo G .

En total se evaluaron 100 poblaciones $P1$ diferentes, con heredabilidades entre 0,1 y 0,5, y tres poblaciones $P2$, con heredabilidades 0,1, 0,25 y 0,4.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para evaluar el comportamiento del modelo W , los resultados fueron comparados con los valores obtenidos por el modelo tradicional G (donde todos los SNP tienen la misma ponderación). Para cada población, se obtuvo el porcentaje de mejora de correlación y MSE. Los resultados para poblaciones $P1$ (Figura 1), revelan una reducción del MSE que oscila entre un 7,7 y un 26,7%. Estos resultados sugieren además una correlación positiva con la heredabilidad, ($r = 0,827$). Cuando la heredabilidad del carácter es superior, el modelo consigue un mejor ajuste, ya que detecta mejor el efecto genético. En cuanto a la correlación entre TBV y GEBV, el modelo W consigue aumentarla entre un 4 y un 11% respecto al modelo tradicional, y aunque su relación con la heredabilidad del carácter en estudio no es tan clara, hay una tendencia a aumentar la mejora de correlación en bajas heredabilidades ($r = -0,625$). Esto puede estar relacionado con la contribución del componente genético al determinar el fenotipo. Con heredabilidades más bajas, el incremento de información que se produce al disponer de una matriz de relaciones más ajustada a la covarianza real entre los individuos emparentados proporciona un mayor incremento relativo de precisión medida como correlación entre TBV y GEBV. Hay más probabilidades de que un efecto genético pequeño ($h^2=0,1$) no sea percibido por el modelo tradicional G , y por lo tanto sea más fácil de incrementar con un mejor ajuste de los GEBV.

Las poblaciones $P2$ con 30 cromosomas muestran resultados similares. Tras tan solo 6.000 iteraciones, las 3 poblaciones muestran una reducción de MSE entre un 10% y un 15%; y un aumento en la correlación de TBV y GEBV entre un 1,5 y un 3%.

Comparando con los estudios previos, según Lourenco et al. (2017), el modelo $W_{ss}GBLUP$ sólo necesita dos iteraciones para maximizar la precisión genómica, pero tras estas iteraciones su precisión decrece en genes poligénicos. Además, se llegó a la conclusión de que el modelo $W_{ss}GBLUP$ no presenta ninguna mejora respecto al modelo $gBLUP$ cuando el número de QTL es superior a 500, mientras que el modelo propuesto en el presente estudio ha obtenido mejoras en precisión con números de QTL superiores a 1700. En cuando al modelo BayesRC, cuando los QTL están distribuidos de manera aleatoria por todo el genoma, el aumento en precisión respecto al modelo $gBLUP$ tradicional no es muy elevado. Por lo tanto, sería interesante comparar el aumento en precisión de ese modelo con el modelo W propuesto bajo esas condiciones, ya que, el hecho de disponer de suficiente información

biológica sobre posición de genes y lugares propensos a afectar a un carácter en particular puede suponer una gran limitación para utilizar el modelo BayesRC. Podemos concluir pues, que la implementación de pesos en los valores de los SNPs en el modelo *W*, para la construcción de la matriz *G*, supone una mejora en cuanto a ajuste de los valores mejorantes predichos de manera sencilla y sin causar pérdida de información.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Casellas, J. 2012. 4th International Conference on Quantitative Genetics. Edimburgh, Scotland (poster).
- Gianola, D. 2013. *Genetics* 194: 573–596.
- Gianola, D. et al. 2003. *Genetics* 163: 347-365.
- Henderson, C. R. 1950. *Annals of Mathematical Statistics* 21, 309.
- Henderson, C. R. 1973. *Proceedings of the Animal Breeding and Genetics Symposium in honor of Dr. J. L. Lush. ASAS-ADSA, Champaign, Illinois*, pp 10-41.
- Legarra, A. et al. 2008. *Journal of Dairy Science* 91: 360-366.
- Legarra, A. et al, 2009. *Journal of Dairy Science* 92: 4656–4663.
- Lourenco, D. A. L. et al. 2017. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 134: 463–471.
- MacLeod, I. M. et al. 2016. *BMC Genomics* 17: 144
- Meuwissen, T. H. E. et al. 2001. *Genetics* 157: 1819-1829.
- Mrode, R. A. et al. 2005. Wallingford, Oxfordshire, UK. CABI.
- Schaeffer, L. R. 2006. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 123: 218-223.
- Van Raden, P. M. 2008. *Journal of Dairy Science* 91: 4414–4423.
- Wang, H. et al. 2012. *Genetics Research* 94: 73–83.
- Wright, S. 1922. *American Naturalist* 56: 330–338.

Agradecimientos: Investigación encuadrada en el proyecto CGL 2016-80155-R.

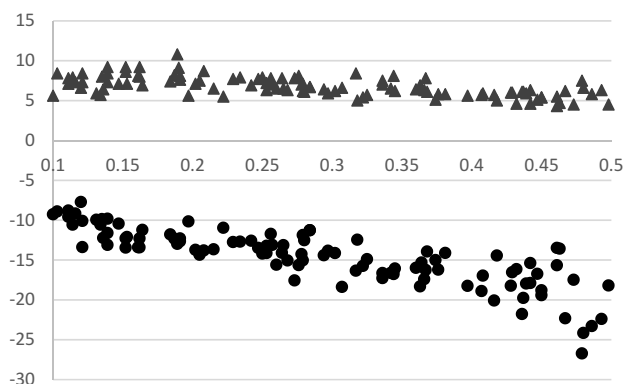


Figura 1. Diferencias entre los resultados obtenidos para MSE (círculo) y correlación entre TBV y GEBV (triángulo) en los modelos *G* y *W* en poblaciones P1.

WEIGHTING SNP PANELS FOR GENOMIC PREDICTION BY SIMULATED ANNEALING

ABSTRACT: The aim of this research was to propose a new approach for genomic evaluation where SNPs were weighted by a value ranging between 0 and 1 (**model W**) and compared against standard gBLUP models (**model G**) by analyzing simulated datasets.

Mixed model equations were solved by the iterative Gauss-Seidel procedure. The performance of model *W* was evaluated under simulated annealing (SA) based on the mean squared error (MSE). Two kinds of populations of 1000 individuals were tested; populations P1 with 1 autosomal chromosome of 100 cM (P1) and heritability ranging from 0.1 to 0.5, and populations P2 with 30 chromosomes and heritability of 0.1, 0.25 or 0.4. Model *W* with weighted SNPs have reported better fit to simulated data than Model *G* for both MSE and correlation. As expected, the implementation of weights for SNP when constructing the genomic relationship matrix provided higher accuracies than former approaches where all SNPs have the same influence (weight equal 1).

Keywords: SNP panels, valores mejorantes, programa de selección

EVALUACIÓN DE UN ESQUEMA DE SELECCIÓN GENÓMICA EN LA RAZA CAPRINA LECHERA SAANEN FRANCESA

Tadeo-Peralta^{1,2*}, E., Raoul^{2,3}, J., Palhière², I., Rodríguez-Ramilo², S. T., Ruiz-López³, F. J., Montaldo¹, H. H. y Elsen², J. M.

¹ Departamento de Genética y Bioestadística, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, Ciudad de México, México. ² INRA, UMR 1388 GenPhySE, 31326 Castanet Tolosan, France. ³ Institut de l'Élevage, F-31321 Castanet-Tolosan, France. ⁴ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ajuchitlán, Querétaro 76280, México; lizareth@comunidad.unam.mx

INTRODUCCIÓN

Un esquema de selección se basa en la organización de una población con el objetivo de mejorarla genéticamente para caracteres de interés económico (Elsen, 1988). Tradicionalmente, la selección se realizaba empleando registros genealógicos y fenotípicos. Sin embargo, en los últimos años la selección genómica ha revolucionado el modo clásico de seleccionar implementando la información que proporcionan los chips de SNP (Meuwissen et al., 2001).

La implementación de la selección genómica se realizó en primer lugar en ganado vacuno lechero (Hayes et al., 2009). En caprinos, Carrillier et al. (2013) demostraron que la implementación de la selección genómica también podría aportar beneficios. Así, en 2018 se implementó la selección genómica en el esquema de selección francés, bajo una organización elegida por CAPGENES. El objetivo del presente estudio es evaluar las implicaciones del cambio de un esquema de selección clásico a un esquema de selección genómica en la raza Saanen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se desarrolló un modelo de simulación estocástica para comparar el esquema de selección clásico y genómico similar al que existe en la raza Saanen francesa. Los genomas de los individuos se simularon usando como base genotipos reales.

Genotipos base

El grupo de genotipos reales fue obtenido de 761 machos con prueba de progenie. Estos animales fueron genotipados con el chip Illumina GoatSNP50 (Tosser-Klopp et al., 2012). Después del filtrado (Martin et al., 2016), se usaron 46810 SNP autosómicos. Las fases de los genotipos fueron inferidas con el programa Fimpute (Sargolzaei et al., 2014).

Población fundadora

Los dos cromosomas de cada autosoma fueron muestreados al azar para generar 14000 nuevos genomas. El sexo y la edad de cada individuo se asignaron a partir de las probabilidades obtenidas siguiendo la estructura demográfica de la población real caprina francesa. Los nuevos individuos generados a partir de los genomas, fueron apareados al azar durante 8 ciclos, considerando las probabilidades de fertilidad, prolificidad, sexo y sobrevivencia de la población real.

Simulación de QTL y fenotipos

Los fenotipos y QTL se generaron siguiendo a Raoul et al. (2017). Se seleccionaron al azar 1000 QTL, de entre los SNP con MAF > 0,05. Los efectos de los QTL se muestrearon de una distribución gamma y se ajustaron a una $V_G = 1,0$. El fenotipo de cada hembra con progenie y se obtuvo como $y = TBV + pe + e$, donde TBV es el valor genético aditivo, pe el efecto ambiental permanente y e el error. El efecto ambiental permanente fue obtenido de una distribución normal con media 0 y varianza $\frac{rep-h^2}{h^2}$, donde rep es la repetibilidad (0,5), y h^2 la heredabilidad (0,3), como un carácter lechero. Finalmente, el efecto del error fue obtenido a partir de una distribución normal con media 0 y varianza $\frac{1-rep}{h^2}$.

Esquemas de selección

La Figura 1 muestra los pasos de selección en los esquemas de selección clásico y genómico. El esquema clásico se basa en dos pasos de selección de machos: en el primero se selecciona a los mejores machos de 4 años de edad, con base en una prueba de progenie, y en el segundo se selecciona a los padres de machos entre los machos que tienen hasta 4 años de servicio. El esquema genómico se basa en tres pasos de selección de machos: en el primero se preselecciona a los machos que entrarán en prueba de progenie, con base en una evaluación genómica. Entre esos animales se selecciona a los mejores para padres de machos, a los 2 años de edad. El segundo paso de selección, se realiza con base a una prueba de progenie como en el esquema clásico, y en el tercer paso se selecciona a los mejores machos de hasta 2 años de servicio para ser padres de machos. Ambos esquemas seleccionan a las madres de machos con la misma tasa de selección. Tanto del escenario clásico como del genómico se realizaron 10 réplicas.

Comparación de esquemas de selección

Las distintas alternativas se evaluaron con respecto a la ganancia genética anual promedio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El modelo estocástico (esquema clásico) se validó usando una aproximación determinística basada en la metodología desarrollada por Elsen y Mocquot (1973) y Hill (1974).

En la Tabla 1 se puede ver que la ganancia genética promedio obtenida con el modelo determinístico es más elevada que la obtenida con el modelo estocástico. Sin embargo, la ganancia genética obtenida es similar a la ganancia genética real (0,18) obtenida por Virginie Clement (comunicación personal, 2018), para la cantidad de proteína en leche de la raza Saanen francesa. Además, la ganancia genética promedio es mayor cuando se implementa un esquema genómico de selección que un esquema clásico.

Los resultados indican que existe un beneficio al implementar la selección genómica en el esquema de selección caprino francés. Sin embargo, el incremento de la tasa de mejora que se alcanza con selección genómica no es tan elevado como la observada en el ganado lechero vacuno y ovino (Pryce y Daetwyler, 2012; Buisson et al., 2010). Sin embargo, es posible explorar otras alternativas que puedan incrementar los beneficios de dicho esquema de selección genómico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buisson, D. et al. 2010 Proc. 10th WCGALP.
- Carrillier, et al. 2013. J. Dairy Sci. 96: 7294-7305.
- Elsen, J. M. 1988. Eds. Korver, S. and JAM Van Arendonk. 171-181.
- Elsen, J. M. & Mocquot, J.C. 1974. Bull. Techn. Départ. Génétique animale. INRA. 17: 30-54.
- Hayes, B.J. 2009. J. Dairy Sci. 92:433-443.
- Hill, W.G. 1974. Anim. Prod. 18:117.
- Martin, P. et al. 2016. J. Dairy Sci. 99: 8891-8900.
- Meuwissen, T. H. E. et al. 2001. Genetics 157: 1819-1829.
- Pryce, J.E. & Daetwyler H.D. 2012. Anim. Proc. Sci. 52: 107-114.
- Raoul, J. et al. 2017. Genet. Sel. Evol. 49: 76.
- Sargolzaei, M. et al. 2014. BMC Genomics 15: 478.
- Tosser-Klopp, G. et al., 2012. In Plant and Animal Genome Conf., San Diego, CA. 1-14.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto metaprogram SELGEN, y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México, que asignó la beca de doctorado a Elizabeth Tadeo Peralta.

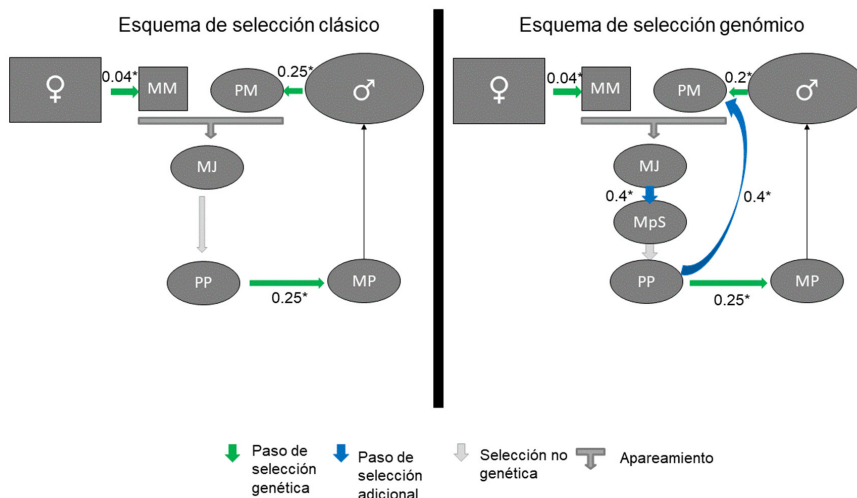


Figura 1. Pasos de selección en el esquema de selección clásico (izquierda) y genómico (derecha). * Tasa de selección genética. MM: madres de machos; PM: padres de machos; MJ: machos jóvenes; PP: machos en prueba de progenie; MP: machos probados; MpS: machos preseleccionados.

Tabla 1. Ganancia genética promedio en el esquema de selección clásico y genómico con los modelos estocástico y determinístico.

Esquema	Modelo	Ganancia Genética
Clásico	Estocástico	0,178 ± 0,006
	Determinístico	0,199
Genómico	Estocástico	0,200± 0,009

EVALUATION OF A GENOMIC SELECTION SCHEME IN THE SAANEN DAIRY GOAT

ABSTRACT: This study aims to measure the consequences of implementing genomic selection on the French Saanen dairy goat breeding scheme. A stochastic model were developed using real genotypes. The classical selection scheme, was based on progeny testing, and the genomic scheme was based on a progeny testing with a genomic preselection. The genomic scheme shows greater annual genetic gain. However the increase of annual genetic gain is not as large as in dairy cattle and dairy sheep.

Keywords: genomic selection, selection scheme, goat, stochastic simulation model.

¿TIENE SENTIDO EL CONCEPTO DE CENSO EFECTIVO CON UN MANEJO ÓPTIMO UTILIZANDO INFORMACIÓN MOLECULAR?

Toro¹, M.A., Villanueva², B., y Fernández², J.

¹Dpto. Producción Agraria, Universidad Politécnica Madrid. ² Dpto. Mejora Genética Animal, INIA, Madrid; miguel.toro@upm.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los conceptos clave en la genética de poblaciones es el censo efectivo (N_e). Aunque hay varias definiciones de N_e (Wang et al., 2016) aquí consideramos la definición de N_e como el número de individuos en una población ideal que tendría la misma tasa de consanguinidad ΔF (o parentesco, Δf) que la población considerada. Una propiedad importante de N_e es que, en una población no subdividida bajo un sistema de reproducción regular, alcanza un valor asintótico y que los censos efectivos de consanguinidad y de parentesco convergen.

Por lo general, para monitorizar los programas de conservación utilizamos los datos genealógicos a través del cálculo de la tasa de consanguinidad (ΔF_G) o, de manera equivalente, el censo efectivo (N_{eG}). En este contexto, existe un consenso de que el método óptimo para maximizar el N_{eG} es calcular la contribución de cada padre potencial (el número de descendientes que cada individuo deja para la próxima generación) cuando se minimiza el parentesco genealógico global (f_G) entre los padres potenciales ponderados por sus contribuciones (Fernández et al., 2011).

Con las técnicas de genotipado de alta densidad, es posible genotipar miles de polimorfismos (SNPs). En esta nueva situación, el método óptimo para manejar la diversidad genética seguirá siendo el mismo, pero ahora el parentesco molecular (f_m) sustituye al parentesco genealógico (de Cara et al., 2011). Sin embargo, este enfoque tiene algunas consecuencias sobre la evolución de la diversidad genética que cuestionan el significado y la utilidad del concepto de N_e . El objetivo de este estudio es comparar, mediante simulación, la evolución de la diversidad genética (y, por lo tanto, de N_e) cuando se realiza un manejo óptimo de la diversidad utilizando marcadores moleculares.

MATERIAL Y MÉTODOS

La simulación es similar a la de de Cara et al. (2011). Se simuló una población con apareamiento aleatorio de censo poblacional constante ($N = 20$ o 100 , mitad machos y mitad hembras), para 4000 generaciones discretas para crear la población base. El genoma constó de 20 cromosomas de 1 Morgan cada uno cubierto por loci bialélicos: 5000 marcadores por cromosoma que se usaron en el manejo para calcular el parentesco molecular (f_m) y 5000 loci no marcadores por cromosoma que se usaron para medir el parentesco genómico (f_M) o heterocigosidad genómica esperada ($1 - f_M$). Todos los loci estaban espaciados uniformemente en el cromosoma. Inicialmente, los alelos se asignaron aleatoriamente con una frecuencia de 0,5 siendo la tasa de mutación de 0,0025 para cualquier locus. A partir de esta población base, corrimos 30 generaciones de una población de $N = 20$ o 100 , la mitad de cada sexo, con un manejo óptimo ya sea de los padres o de la descendencia. Al actuar sobre los padres, la estrategia minimiza el parentesco promedio esperado en la descendencia. Cuando actuamos sobre la descendencia, generamos hijos ($n = 4$) de todos los padres potenciales apareados al azar y mantenemos como reproductores aquellos que minimizan el parentesco observado. En la gestión se utilizó el parentesco genealógico (f_G) o el molecular (f_m). Cuando se usa información genealógica, la estrategia basada en información de descendencia no tiene ningún significado, ya que todos los hermanos tienen las mismas relaciones de parentesco.

Durante las 30 generaciones de manejo de la población, calculamos: a) la consanguinidad (F_G) y el parentesco (f_G) genealógicos; b) la consanguinidad genómica (F_M , homocigosidad observada) y la heterocigosidad genómica esperada ($1 - f_M$) calculadas a partir de los loci no marcadores. Los resultados son promedios de 300 repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evolución temporal de la diversidad genética a corto plazo.

En la Figura 1 presentamos la evolución de la heterocigosidad genómica esperada ($1 - f_M$) durante las primeras 10 generaciones en el escenario de $N = 100$ cuando las decisiones de manejo se toman basadas ya sea en el parentesco genealógico (f_G) o en el parentesco

molecular de los marcadores (f_m) actuando sobre los genotipos de la descendencia. Es claro que, primero, cuando el manejo se basa en f_m , se mantiene más heterocigosidad que cuando el manejo se basa en f_G . En segundo lugar, bajo el manejo con f_m puede haber un aumento inicial en la heterocigosidad genómica dependiendo del número de marcadores y el tamaño de la población (resultados no mostrados). Esto implica que, en esta situación, el cálculo de N_e basado en ΔF_M o Δf_m llevaría a valores negativos.

Evolución temporal de la diversidad genética a largo plazo.

En la Figura 2 presentamos para $N = 20$ la evolución de ΔF_G y ΔF_M durante 30 generaciones cuando se lleva a cabo un manejo óptimo utilizando información genealógica (f_G). Ambos parámetros se comportan de manera similar a pesar de que los valores de F_G y F_M están en una escala diferente. Como consecuencia, los valores correspondientes de los tamaños efectivos de la población también son iguales (Figura 2). Esto es lo que se espera teóricamente y se ha demostrado empíricamente (Saura et al. 2013).

Más paradójicos son los resultados cuando el manejo óptimo se lleva a cabo utilizando información molecular (f_m). Los valores de ΔF_G y ΔF_M y los valores correspondientes de N_{eG} y N_{eM} a lo largo de las generaciones se presentan en la Figura 3 (actuando sobre la descendencia). Cuando se maneja con f_m , se mantiene una mayor diversidad, como se indicó anteriormente. El segundo punto es que la tasa de consanguinidad genealógica (ΔF_G) o genómica (ΔF_M) difiere, y esta última disminuye continuamente. Los censos de población efectivos correspondientes también difieren, y el N_{eM} aumenta sin alcanzar un valor asintótico. En resumen, aunque en general se reconoce que los datos genómicos deben usarse para un manejo eficiente de la diversidad genética, esto plantea algunas preguntas sobre el uso de los conceptos tradicionales de la genética de poblaciones, que han sido señalados por varios autores pero que queremos comentar en esta comunicación. El manejo molecular óptimo de la diversidad genética mediante la minimización del parentesco molecular de la descendencia implica algún tipo de selección dependiente de la frecuencia en los marcadores y, por lo tanto, cambios en las frecuencias genéticas que se aproximan a los valores intermedios que se desvían de la distribución original (Toro et al., 1999; Fernández et al., 2004; Saura et al., 2008). Por estas razones, creemos que, en este contexto, la "conservación asistida por marcadores" debería denominarse "selección asistida por marcadores para la diversidad genética".

Por último, el concepto clásico de N_e , que es fundamental en la genética de poblaciones, pierde su significado cuando se realiza el manejo óptimo de la diversidad genética utilizando información genómica. En algunos escenarios hay un aumento de la diversidad genética que implica una estimación negativa de N_e . Por otro lado, hemos mostrado que, a largo plazo, el censo efectivo molecular no alcanza un valor asintótico, sino que aumentar continuamente.

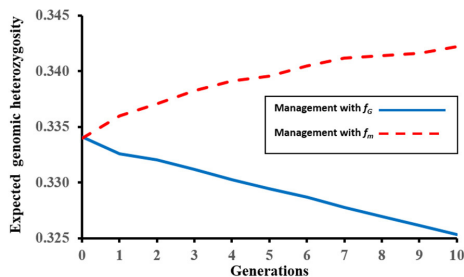


Figura 1. Evolución de la heterocigosidad genómica esperada durante las 10 primeras generaciones

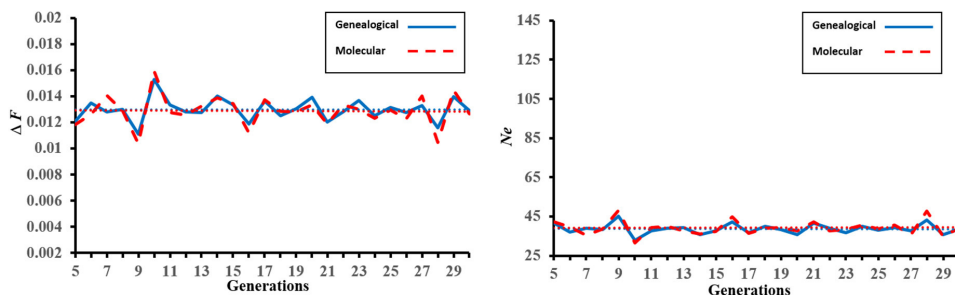


Figura 2. ΔF_G y ΔF_M , y sus correspondientes N_e , a lo largo de las generaciones, con un manejo óptimo utilizando información genealógica

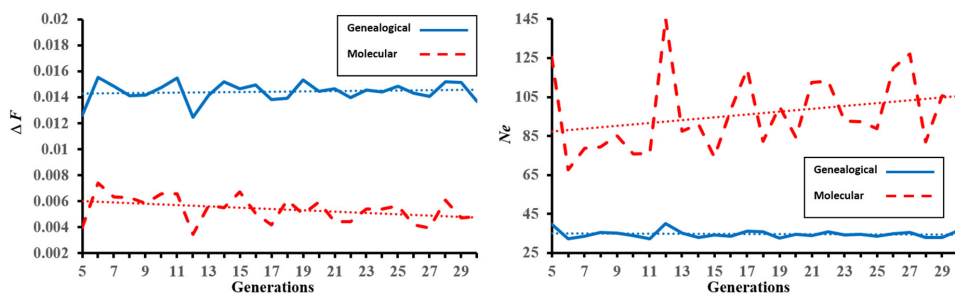


Figura 3. ΔF_G y ΔF_M , y sus correspondientes N_e , a lo largo de las generaciones, con un manejo óptimo en la descendencia utilizando información molecular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- de Cara, M.A.R. et al. 2011. J Anim. Breed Genet. 128 (6): 456-464.
- Fernández, J. et al. 2011. Animal 5 (11): 1684-1698.
- Fernández, J. et al. 2004. Conserv. Biol. 18 (5): 1358-1367.
- Fernández, J. et al. 2011. Animal 5 (11): 1684-1698.
- Saura, M. et al. 2008. Conserv. Biol. 22 (5): 1277–1287.
- Saura, M. et al. 2013. PLoS ONE 8(10): e78314.
- Toro, M. A. et al. 1999. Genet. Sel. Evol. 31 (3): 255-261.
- Wang, J. et al. 2016. Heredity 117 (4): 193-206.

DOES THE CONCEPT OF EFFECTIVE SIZE MAKE SENSE WITH OPTIMAL MANAGEMENT USING MOLECULAR INFORMATION?

ABSTRACT: Effective population size (N_e) is a key parameter in conservation genetics. In the management of conservation programs there is a consensus that the optimal method for maximizing effective population size is to calculate the contribution of each potential parent (the number of offspring that each individual leaves to the next generation) by minimizing the global coancestry between potential parents weighted by their contributions. When using genomic data the optimal method for managing genetic diversity will remain the same but now the molecular coancestry calculated from markers will substitute the genealogical coancestry. However, in this situation, the concept of effective population size loses its meaning because when optimal molecular management starts, genetic diversity increases and therefore effective population size es negative values. Furthermore, in the long term the molecular effective population size does not attain an asymptotic value but it increases continuously.

Keywords: genetic management, molecular coancestry, effective population size

ESTIMAS DE CENSO EFECTIVO HISTÓRICO EN POBLACIONES DE SALMÓN ATLÁNTICO

Saura¹, M., Caballero², A., Santiago³, E., Chtioui¹, A., Morán², P y Villanueva¹, B.
¹ INIA, Crta. La Coruña Km 7,5, 28040, Madrid. ² Universidad de Vigo, Campus As Lagoas-Marcosende 36380 Vigo. ³ Universidad de Oviedo, C/ Catedrático Valentín Andrés Álvarez s/n. 33006 Oviedo.
saura.maria@inia.es

INTRODUCCIÓN

El salmón Atlántico es objeto de una de las actividades más importantes de pesca recreativa en el mundo y constituye una de las bases principales de la industria de la acuicultura. A pesar de ello, las poblaciones naturales de esta especie sufrieron un declive generalizado a lo largo del siglo XX, como resultado de la construcción de presas, la polución y la sobrepesca. Por este motivo, se han promovido planes para conservar esta especie a nivel mundial y en particular en España, que representa el límite sur de distribución de la especie en Europa. A pesar de que en este país se han establecido diferentes programas de repoblación, su impacto sobre la variabilidad genética de las poblaciones actuales no se conoce.

El censo efectivo (N_e) constituye un parámetro fundamental para cuantificar la tasa de pérdida de la variabilidad genética de las poblaciones. Tradicionalmente, el N_e se ha estimado a partir de información genealógica, pero cuando esta información no está disponible, se puede estimar a partir de información genética (Wang et al., 2016). Dentro de los métodos genéticos, el que se basa en el desequilibrio de ligamiento (DL) tiene la ventaja principal de que permite estimar el N_e de cualquier serie temporal. Para ello, el DL se modela en función de la distancia genética entre los SNPs, de tal modo que el N_e un número determinado de generaciones en el pasado se estima a partir del DL entre SNPs separados a una distancia genética específica (Tenesa et al., 2007). Sin embargo, este método asume que la historia demográfica de la población es independiente en cada generación, lo que no es realista en poblaciones finitas. Recientemente, Santiago y Caballero (comunicación personal) han desarrollado un método que permite resolver este problema, ya que considera que los cambios demográficos dejan una huella característica en la curva que relaciona el DL entre los pares de SNPs con la distancia que los separa en el cromosoma.

En este estudio, hemos utilizado este nuevo método para estimar el N_e actual e histórico en poblaciones naturales de salmón atlántico, con el objetivo de determinar su estado genético e identificar cambios demográficos potenciales asociados a las causas anteriormente mencionadas responsables de la reducción del censo poblacional, y a la práctica de las repoblaciones. Estos resultados se han comparado con resultados simulados y empíricos obtenidos mediante el método de Tenesa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos utilizados en este estudio procedían de 250 muestras de salmón atlántico de seis ríos españoles que cubren el rango de distribución de la especie en la Península Ibérica (Miño, Ulla, Eo, Sella, Urumea, Bidasoa). Estos ríos se han sometido a repoblaciones más o menos intensas, que en algunos casos, podrían ser responsables de altas tasas de mezcla poblacional.

Las estimas de N_e se obtuvieron a partir del análisis del espectro de DL entre pares de SNPs para un amplio rango de tasas de recombinación. De acuerdo con este método, se implementó un algoritmo basado en *simulated annealing* para inferir el N_e actual y el de series históricas conforme a Santiago y Caballero (Método 1). Alternativamente, se implementó el método de Tenesa et al. 2007 (Método 2), considerando que distancias específicas en el mapa genético reflejan estimas de N_e de generaciones concretas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Utilizando el Método 1, las estimas actuales de N_e variaron entre 116 (Ulla) y 614 (Urumea), valores que se encuentran por encima del valor crítico de 50 individuos recomendado para evitar depresión consanguínea y retener variabilidad genética a corto plazo. Estos resultados

reflejan un estado genético generalizado saludable (Tabla 1). Las estimas de N_e histórico con este método evidenciaron caídas que, en general, coinciden con el descenso experimentado por todas las poblaciones de salmón españolas en los años 1950, principalmente como consecuencia de la construcción de presas asociada al desarrollo hidroeléctrico (Figura 1). Caídas secundarias más recientes se observan en otros ríos como el Ulla, que se puede explicar por vertidos contaminantes de una mina de cobre durante los 1980s; o en el río Urumea. Este río, que se consideró extinto en salmón en 1940, se repobló en su práctica totalidad con salmón del río Bidasoa, lo que explicaría los patrones similares observados en ambos.

La mezcla de poblaciones como consecuencia de las repoblaciones con salmón de diferentes orígenes podría afectar a las estimas de N_e , inesperadamente más bajas en los ríos Miño, Ulla y Eo, de acuerdo a su longitud y capacidad de carga históricamente mayores que el Sella, Urumea y Bidasoa. De hecho, bajo un escenario de mezcla poblacional, donde se combina más de un pool genético, el N_e puede estar infraestimado debido a una mayor deriva en el DL causada por un número mayor de parentales responsables de las muestras locales (Waples y England, 2011). Dado que los ríos gallegos han sufrido un manejo caracterizado por la mezcla poblacional para incrementar el número de candidatos disponibles para la reproducción, esto podría traducirse en unos valores de N_e infraestimados.

Las estimas de N_e reciente obtenidas con el Método 2 fueron de magnitud similar a las obtenidas con el Método 1 (Figura 1). Sin embargo, la generación más reciente para la cual se pudo estimar el N_e de manera precisa, fue la generación seis, ya que el número de comparaciones para las primeras cinco generaciones era muy bajo (nótese que el DL entre SNPs separados a cierta distancia d refleja el N_e hace $1/2d$ generaciones). En el caso del N_e histórico, a pesar de que mostró una caída generalizada a lo largo del tiempo en todos los ríos, esta fue en todos los casos lineal. La incapacidad para detectar cambios en el N_e con este método, se evidenció también en resultados de datos simulados bajo diferentes escenarios demográficos.

En resumen, nuestros resultados sugieren que la construcción de presas asociadas al desarrollo hidroeléctrico durante los años 1950s es la principal causa de las caídas en el N_e de los ríos españoles. Además, aunque las estimas actuales no son bajas, la caída más o menos continuada en el N_e refleja la necesidad de monitorizar estas poblaciones mediante estrategias que controlen el incremento de la consanguinidad, aumentando en lo posible el número de reproductores disponible y minimizando su parentesco. Nuestros resultados también destacan la capacidad del nuevo enfoque implementado en el Método 1 para detectar cambios demográficos ocurridos en el pasado, que representa una mejora prometedora en relación a los métodos previos para estimar el N_e a partir del DL.

Tabla 1. Estimaciones de N_e actual obtenidas con el Método 1 para cada río analizado y correspondientes intervalos de confianza al 95% (IC).

	Media	IC 95%
Miño	288	195, 608
Ulla	116	103, 132
Eo	208	162, 482
Sella	286	244, 541
Urumea	614	428, 977
Bidasoa	361	264, 441

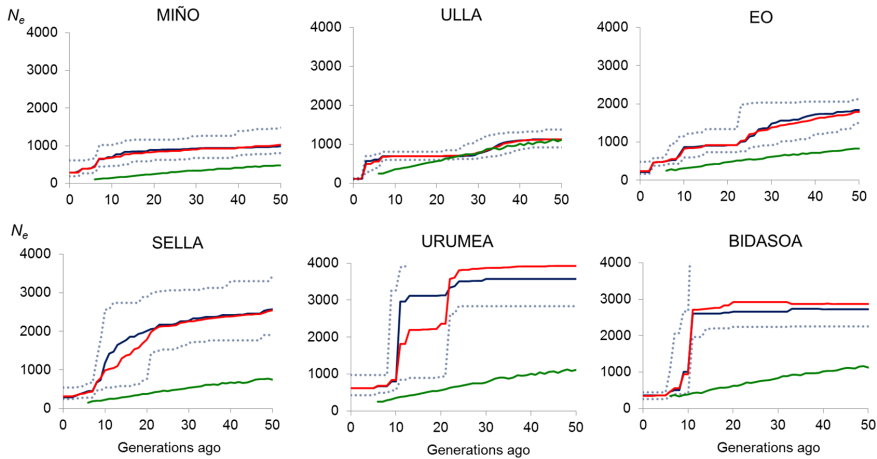


Figura 1. Estimaciones de N_e a lo largo de las generaciones en el pasado obtenidas con el Método 1 (línea azul: mediana; línea roja: media armónica, líneas azules de puntos: intervalos de confianza al 95%) y el Método 2 (línea verde).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Tenesa, A., Navarro, P., Hayes, B.J., Duffy, D.L., Clarke, G.M., Goddard, M.E. & Visscher, P.M. 2007. *Genome Res.* 17: 520–526.
- Sved, J.A. 1971. Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite populations. *Theor. Popul. Biol.* 2: 125–141.
- Wang, J., Santiago, S. & Caballero, A. 2016. *Heredity* 117: 193–206.
- Waples, R.S. & England, P.R. 2011. Estimating contemporary effective population size on the basis of linkage disequilibrium in the face of migration. *Genetics* 189: 633–644.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y la AEI, España (proyectos RZ2A12-00011-CO2-01 y CGL2016-75904-C2), Xunta de Galicia (ED431C 2016-037), Programa Horizonte 2020 (H2020-EU.3.2.3, 727315) y Fondos Feder. Queremos dar las gracias a Pablo Caballero (Xunta de Galicia), Gerónimo de la Hoz (Principado de Asturias), Iñigo Mendiola (Diputación Foral de Gipuzkoa), Javier Álvarez and Pedro Luenda (GANASA) por proporcionar las muestras para el estudio.

HISTORICAL EFFECTIVE POPULATION SIZE IN ATLANTIC SALMON POPULATIONS

ABSTRACT: Wild populations of Atlantic salmon have been seriously depleted during the 20th century, as a result of dam construction, pollution and overfishing. Although supportive breeding programmes have been established in Spain, their impact on the genetic variability of populations is unknown. In order to determine the current genetic status of these populations and to identify potential changes in demography associated to the aforementioned causes and to supportive breeding, we estimated current and historical effective population size (N_e) using a new approach based on the linkage disequilibrium method. Unlike previous approaches that assume that specific genetic distances reflect N_e at particular generations in the past, the new approach considers all genetic distances between all SNP pairs to estimate N_e in each generation. Using this method combined with high-dense genotypic information, our results reflect a generalized relatively healthy genetic status of populations. Historical estimates of N_e evidenced drops in all Spanish rivers in agreement with the hydroelectric development occurred in 1950s. Compared to previous methods based on linkage disequilibrium, our results highlight the ability of the new approach implemented to detect changes in demography occurred in the past, representing a promising improvement of previous methods to estimate N_e from linkage disequilibrium measures.

Keywords: Atlantic salmon, effective population size, linkage disequilibrium, SNP chip.

CONSANGUINIDAD Y CENSO EFECTIVO DE POBLACIÓN EN LA RAZA OVINA DE LECHE LATXA CARA NEGRA

Granado-Tajada¹, I., Rodríguez-Ramilo², S.T., Legarra², A. y Ugarte¹, E.

¹Departamento de producción animal, NEIKER-Tecnalia, Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Campus Agroalimentario de Arkaute s/n, E-01080 Arkaute, España.

²INRA, UMR 1388 GenPhySE, 31326 Castanet Tolosan, France; igranado@neiker.eus

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, dentro de los programas de mejora animal, la estima y gestión de la consanguinidad se ha realizado en base a la genealogía. El aumento de la tasa de consanguinidad por generación permite estimar el censo efectivo de la población, lo que refleja de una manera más objetiva la variabilidad presente en la población.

En el caso del ovino, en general, se cuenta con genealogías heterogéneas, con un alto porcentaje de genealogía desconocida debido al uso de la monta natural no controlada y al escaso número de test de filiaciones realizados. Como consecuencia, las estimas de consanguinidad basadas en el pedigrí suelen estar infraestimadas.

Sin embargo, los avances tecnológicos de los últimos años han permitido tener información molecular de los individuos. Dicha información puede ser utilizada para estimar coeficientes de consanguinidad, por lo que se han desarrollado diferentes métodos que, en base a dicha información, permiten evaluar la consanguinidad (Howard et al., 2017) y mejorar el manejo a nivel poblacional en base a parámetros más reales (Curik et al., 2014).

En el caso de la raza de ovino Latxa el porcentaje medio entre ecotipos de animales en genealogía con padre y madre desconocidos es del 32% y el de animales con solo madre conocida del 36%. Por ello, el objetivo del presente trabajo es estimar los coeficientes de consanguinidad y censos efectivos en dos poblaciones de Latxa Cara Negra: Latxa Cara Negra de Euskadi (LCNEUS) y Latxa Cara Negra de Navarra (LCNNAF) en base a la información molecular existente y compararla con las estimas obtenidas en base al pedigrí.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio incluyó datos genotípicos de machos de inseminación artificial genotipados con Illumina OvineSNP50 BeadChip y nacidos entre 1997 y 2016 en LCNEUS y entre 1996 y 2011 en LCNNAF. Tras el filtrado, se consideraron los SNPs autosómicos con una heredabilidad estimada del contenido génico (Forneris et al., 2015) mayor de 0.98. El pedigrí se generó con los ancestros conocidos de los individuos genotipados en cada raza. La tabla 1 muestra el número de animales y marcadores utilizados en el estudio.

La estima de consanguinidad en base al pedigrí (F_{PED}) se realizó con el programa INBUPGF90 de la familia Blupf90 (Miszta et al., 2002), con el método de Aguilar & Miszta, (2008) con 10 iteraciones, basado en la metodología propuesta por VanRaden (1992), que permite estimar los coeficientes de consanguinidad en poblaciones con genealogía faltante, atribuyendo a los ancestros desconocidos el parentesco promedio existente en la población en ese momento.

Las estimas de consanguinidad en base a la información molecular se realizaron por dos métodos: SNP a SNP (homocigosidad) y segmentos de homocigotos (runs of homozygosity: ROH). La estima de consanguinidad basada en SNPs individuales (F_{SNP}), corresponde a la proporción de loci en estado homocigoto de cada individuo (Silió et al., 2013), calculada como $F_{SNP_i} = 2(\sum_{k=1}^{n_{SNP}} (I_{11,k} + I_{12,k} + I_{21,k} + I_{22,k}))/4n_{SNP} - 1$; donde n_{SNP} es el número total de SNPs, $I_{xy,k}$ es una variable indicadora que es igual a 1 cuando un alelo del individuo y el otro alelo del mismo individuo en el SNP k son iguales y 0 si no lo son. La estima de consanguinidad basada en ROH (F_{ROH}), es la proporción del genoma que es un ROH (McQuillan et al., 2008), calculado como $F_{ROH_i} = \frac{\sum_{k=1}^{n_{ROH_i}} l_{ROH_{ik}}}{l_g}$; donde n_{ROH_i} es el número total de ROH en el individuo i , $l_{ROH_{ik}}$ es la longitud en pares de bases del ROH k en el individuo i y l_g es la longitud total en pares de bases del genoma. Los parámetros para definir un ROH fueron: longitud mínima de 4 Mb,

número mínimo de 30 SNP, densidad mínima de 1 SNP por 100 Kb, distancia máxima entre dos homocigotos consecutivos de 1 Mb, máximo de dos genotipos faltantes y un heterocigoto permitido por ROH (Rodríguez-Ramilo et al., 2019).

La tasa de incremento de consanguinidad por año se estimó como el coeficiente de regresión de la consanguinidad de cada individuo genotipado sobre su año de nacimiento. A partir del producto de esta tasa por el intervalo generacional se obtuvo la tasa de incremento de consanguinidad por generación (ΔF). El tamaño efectivo de población se estimó mediante $N_e = \frac{1}{2\Delta F}$ (Falconer & Mackay, 1996), y el intervalo de confianza a partir del error estándar del coeficiente de regresión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se puede ver como las estimas de consanguinidad media obtenidas SNP a SNP son las más elevadas debido a que este método no permite diferenciar identidad en estado de identidad por descendencia. Empleando el pedigrí y ROH se obtienen medias más bajas, siendo en ambas poblaciones superiores las estimadas utilizando ROH. El coeficiente de correlación entre las estimas de consanguinidad es elevado entre los métodos basados en información molecular (0,65 y 0,87, para LCNEUS y LCNNAF respectivamente) y moderado entre estimas basadas en pedigrí y ROH (0,41 y 0,50, para LCNEUS y LCNNAF respectivamente).

La tasa de consanguinidad por generación sigue un patrón similar a la consanguinidad media, siendo similar en base a pedigrí y ROH; y menor por SNPs. Respecto al censo efectivo, por pedigrí se estima un tamaño menor, similar al estimado por ROH. En cambio, las estimas por SNPs reportan un mayor tamaño efectivo. El censo efectivo considerando la genealogía completa relativa a toda la población dentro del programa de mejora genética es de 288 y 213, para LCNEUS y LCNNAF respectivamente, con 263306 y 68714 animales en genealogía.

Los datos muestran que, coincidiendo con lo que ocurre con el tamaño poblacional, LCNEUS tiene mayor censo efectivo que LCNNAF y son del mismo orden de magnitud de los obtenidos en razas ovinas de características similares (Rodríguez-Ramilo et al., 2019) y son menores que en otras poblaciones de ovino lechero (Chitneedi et al., 2017; Al-Mamun et al., 2015). Estos valores están en la mayoría de los casos por debajo del límite propuesto por Meuwissen (2009) para asegurar la viabilidad de la población a largo plazo ($N_e=100$). Sin embargo, debemos tener en cuenta que los análisis se han realizado con la información disponible correspondiente únicamente a los animales genotipados y estos no representan el total de la población de padres, ni el total de machos utilizados en IA. Por lo que será necesario ir completando esta información, para disponer de una muestra más representativa de la población real y estimas más precisas del censo efectivo. En todo caso, queda patente la gran diferencia existente entre el censo real y el censo efectivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, I. & Misztal, I. 2008. JDS. 91:1669-1672.
- Al-Mamun H.A. et al. 2015. GSE. 47, 90.
- Chitneedi, P. et al. 2017. Animal Genet. 48:436-446.
- Curik, I. et al. 2014. Livest. Sci. 166:26-34.
- Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. 1996. Harlow: Longman Scientific & Technical.
- Forneris, N.S. et al. 2015. Genetics. 199, 675-681.
- Howard, J.T. et al. 2017. JDS. 100:1-16.
- McQuillan et al. 2008. Am. J. Hum. Genet. 83:359-372.
- Meuwissen T. 2009. Animal Science. 59, 71-9.
- Misztal, I. et al. 2002. En: Proc. 7th WCGALP.
- Rodríguez-Ramilo, S.T. et al. 2019. JDS En prensa.
- Silió, L. et al. 2013. J. Anim. Breed. Genet. 130:349-360.
- VanRaden, P.M. 1992. JDS 75:3136-3144.

Agradecimientos: A CONFELAC, por la aportación de datos de genealogía. Al Departamento de Desarrollo Económico e Infraestructuras de Gobierno Vasco, por la ayuda de formación de jóvenes investigadores en formación y tecnólogos. A POCTEFA por la financiación del proyecto ARDI (EFA208/16) en el que se encuadra este trabajo.

Tabla 1. Número de individuos genotipados, número de marcadores, número de individuos en genealogía, número de generaciones equivalentes e intervalo generacional para Latxa Cara Negra de Euskadi (LCNEUS) y Latxa Cara Negra de Navarra (LCNNAF).

Raza	Individuo genotipados	Marcadores	Individuos en genealogía	Número de generaciones equivalentes	Intervalo generacional
LCNEUS	373	41806	1803	5,61	4,41
LCNNAF	160	41627	702	4,65	4,65

Tabla 2. Media del coeficiente de consanguinidad (F) \pm error estándar (ES), tasa de consanguinidad por generación (ΔF) \pm ES y tamaño efectivo de población (N_e) con intervalo de confianza (IC) del 95%; estimado en base al pedigrí completo (TPED); el pedigrí de los machos genotipados (PED), SNP a SNP (SNP) y segmentos de homocigotos (ROH); para Latxa Cara Negra de Euskadi (LCNEUS) y Latxa Cara Negra de Navarra (LCNNAF).

	Método	LCNEUS	LCNNAF
F media \pm ES	F _{TPED}	0,0037 \pm 0,0001	0,0063 \pm 0,0001
	F _{PED}	0,0187 \pm 0,0011	0,0177 \pm 0,0015
	F _{SNP}	0,6322 \pm 0,0005	0,6344 \pm 0,0009
	F _{ROH}	0,0331 \pm 0,0012	0,0335 \pm 0,0019
ΔF \pm ES	ΔF_{TPED}	0,0017 \pm 0,0001	0,0023 \pm 0,0001
	ΔF_{PED}	0,0078 \pm 0,0009	0,0095 \pm 0,0017
	ΔF_{SNP}	0,0018 \pm 0,0004	0,0033 \pm 0,0011
	ΔF_{ROH}	0,0058 \pm 0,0009	0,0075 \pm 0,0024
N_e (95% IC)	$N_{e\ TPED}$	288 (286 - 290)	213 (211 - 216)
	$N_{e\ PED}$	64 (53 - 82)	53 (39 - 81)
	$N_{e\ SNP}$	282 (195 - 510)	153 (92 - 454)
	$N_{e\ ROH}$	86 (65 - 126)	66 (41 - 174)

INBREEDING AND EFFECTIVE POPULATION SIZE ON THE LATXA CARA NEGRA DAIRY SHEEP BREED

ABSTRACT: Traditionally, inbreeding estimates have been estimated based on pedigree information. However, in sheep there is a considerable proportion of unknown pedigree due to natural mating and lack of filiation analysis. Therefore, there could be an under estimation of inbreeding coefficients based on pedigree. In the genomics era, genomic information can be used to estimate inbreeding. In this study, three different inbreeding estimation methods were assessed (a pedigree-based methodology, a single SNP-based approach and a ROH based method) to analyse the genetic diversity of two populations of Latxa Cara Negra breed: Latxa Cara Negra from Euskadi (LCNEUS) and from Navarre (LCNNAF). A total of 533 animals were genotyped with the Illumina OvineSNP50 BeadChip, bringing around 41700 SNPs and 2505 animals in pedigree. The results showed an effective population size below 100 in most of the evaluated cases. In addition, LCNEUS showed a higher genetic diversity than LCNNAF for each evaluated method. These results suggest that it could be interesting to consider these estimates in the management of both populations.

Keywords: Inbreeding, Effective population size, ROH, Pedigree, Sheep.

IDENTIFICACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS POR DETECCIÓN DE HUELLAS DE SELECCIÓN PARA GRASA INTRAMUSCULAR EN LÍNEAS DE CONEJO.

Sosa-Madrid¹, B.S, Varona², L., Hernandez¹, P., Ibañez-Escriche¹, N., Casto-Rebollo¹, C. y Blasco, A.¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, 46022 Valencia, España.

²Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2). Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza, España.
bosomad@posgrado.upv.es

INTRODUCCIÓN

La Universitat Politècnica de València llevó a cabo un experimento de selección divergente para grasa intramuscular (GIM). La respuesta a la selección, en la novena generación, fue de 3.1 desviaciones típicas (Martínez-Álvarez et al., 2016). Esta alta respuesta indicaría que la selección pudo generar modificaciones relevantes en regiones genómicas con alta importancia a nivel funcional del carácter. En este sentido, la información genómica procedente de poblaciones de selección divergente constituye un material de excepcional valor para el estudio de huellas de selección, ya que permite atribuir las señales detectadas a la variabilidad genética del carácter que fue objeto de selección. Hay numerosos métodos para detectar huellas de selección, que se clasifican en función de la definición de la hipótesis nula (ausencia de selección) (Oleksyk et al., 2010). Estos métodos pueden estar basados en el análisis de diversidad genética, la reducción de la variabilidad local, la modificación del espectro de frecuencias y la extensión del desequilibrio de ligamiento (Qanbari y Simianer, 2014). El propósito del actual trabajo es identificar regiones genómicas por tres métodos de detección de huella de selección basados en hipótesis distintas (F_{st} – diversidad genética, XP-CLR – modificación del espectro de frecuencias y XP-EHH – extensión del desequilibrio de ligamiento) con el objetivo final de generar una lista de genes candidatos asociados a la selección divergente por GIM.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico: Las muestras biológicas procedieron de conejos de la novena generación de selección divergente: 240 de la línea seleccionada para alta GIM y 237 de la línea para baja GIM. Además, se utilizó la información de los progenitores de la novena generación para calcular las fases haplotípicas (10 padres y 38 madres de cada línea). Estas muestras fueron genotipadas con el “Affymetrix Axiom OrcunSNP Array” (~200k SNPs). El control de calidad fue realizado utilizando el programa “*Axiom Analysis Suite v. 4.0*”. Los SNPs con un “call rate” $\geq 95\%$, menor frecuencia alélica $\geq 5\%$, y una posición conocida en el mapa genómico fueron utilizados en el estudio. Para la imputación y las fases haplotípicas se utilizó el programa *Flmpute* (Sargolzaei et al., 2014). Después del control de calidad, un total de 89,864 SNPs fueron utilizados en el análisis.

Métodos: El análisis consistió en el cálculo de tres estadísticos:

- Índice de fijación (F_{st}): se calculó el parámetro F_{st} de Wright (1951). Los valores de F_{st} fueron promediados en ventanas deslizantes de 0,5 Mb en intervalos de un SNP. Además, los valores fueron normalizados basados en el número de SNPs dentro de cada ventana.
- Coeficiente de verosimilitud compuesto entre poblaciones (XP-CLR) (Chen et al., 2010): Los valores XP-CLR fueron calculados utilizando la línea baja como población de referencia y la línea alta como objetivo. El software *XP-CLR* (http://genetics.med.harvard.edu/reich/Reich_Lab/Software.htm) fue implementado para la obtención de los valores y se seleccionó el valor obtenido en la posición más cercana a cada SNP.
- Extensión de homocigosidad haplotípica entre poblaciones (XP-EHH) (Sabeti et al., 2007): La línea alta fue utilizada para calcular el valor del numerador y la línea baja para el denominador. El cálculo de los valores se realizó mediante el software *selscan* (Szpiech y Hernandez, 2014) haciendo una normalización para los valores de XP-EHH.

Análisis de anotaciones funcionales: Los SNPs que presentaron valores por encima del percentil 0,01 en al menos dos métodos fueron considerados para este análisis. La búsqueda de los genes se realizó en regiones de +/- 250kb desde un SNP utilizando el programa

BIOMART (Ensembl Genes 95) (Aken et al., 2016). El análisis de las anotaciones funcionales fue realizado con el programa DAVID 6.8v. (Jiao et al., 2012)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

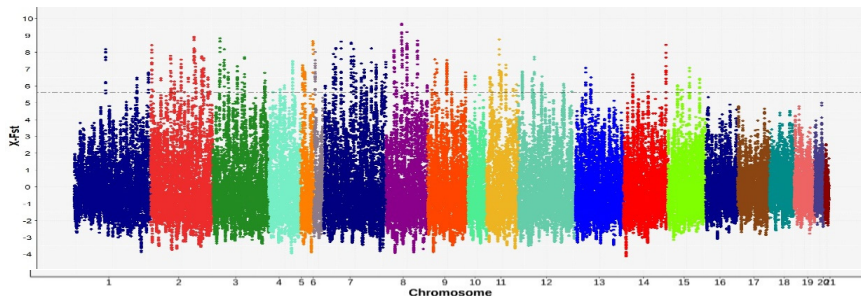
Las medias de los valores originales de F_{st} por ventanas, XP-CLR (no-normalizados) y XP-EHH (en valor absoluto) fueron 0,10, 1,55 y 0,68, respectivamente. El valor medio de F_{st} es superior a los encontrados en estudios de poblaciones de conejo europeo, $F_{st}=0,08$ (Carneiro et al., 2014), y de poblaciones de selección divergente para capacidad uterina, $F_{st} = 0,05$ (Sosa-Madrid et al., 2017). El experimento de selección divergente pudo haber generado una gran diferenciación genética entre las dos poblaciones a causa de la elevada heredabilidad de GIM (Martínez-Álvaro et al., 2016), o bien puede ser consecuencia del efecto de deriva genética. El efecto de deriva podría ser debido al reducido número de machos utilizados en las primeras generaciones (8 por línea), la estructura de apareamientos (parejas únicas no aleatorizadas) (Zomeño et al., 2013) y la duplicación de familias de macho en las últimas generaciones.

Los resultados presentados en forma de “manhattan plots” (Figura 1) sugieren que la selección por GIM no parece ser dominada por regiones genómicas específicas sino por múltiples variantes a lo largo del genoma, y además, la mayor parte de SNPs que superan el percentil 0,01 (899) no son coincidentes entre métodos. De hecho, un único SNP (OCU 13, 27,33 Mb) aparece entre los 899 SNPs seleccionados por los tres procedimientos, y solamente 79 están presentes en al menos dos de los métodos (ver Figura 2). Las regiones genómicas donde se sitúan estos 79 SNPs están localizadas en los OCU 1 (2 regiones), 2 (9), 3 (3), 5 (1), 7 (4), 8 (4), 9 (1), 11 (4), 12 (3), 13 (3), 16 (1) y 19 (2) y albergan 156 genes entre los que se encuentran algunos vinculados al metabolismo lipídico como *ADGRP5 -adhesion G protein-coupled receptor F5-* (OCU 12), *PRKAG2 -protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit gamma 2-* (OCU 13), *P2RX1 – purinergic receptor P2X 1-, G6PC -glucose-6-phosphatase catalytic subunit -* y *BRCA1 -BRCA1, DNA repair associated-* (OCU 19). Por otro lado, cuando se realizó un análisis de anotación funcional con los 156 genes, se observó que las funciones con mayor p-valor fueron: unión de trifosfato de ribonucleósido de purina (GO:0035639), organización de orgánulos simple-organismo (GO:0006996) y ruta de señalización de AMPK (hsa04152).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Aken, B.L. 2016. Database 2016. • Carneiro, M. 2014. PLoS Genet. 10. • Chen, H. 2010. Genome Res. 20: 393–402. • Jiao, X. 2012. Bioinformatics 28: 1805–1806 • Martínez-Álvaro, M. 2016. J. Anim. Sci. 94: 4993–5003. • Oleksyk, T. K. 2010. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 365: 185–205. • Qanbari, S. 2014. Livest. Sci. 166: 133–143 • Sabeti, P.C. 2007. Nature 449: 913–918. • Sargolzaei, M. 2014. BMC Genomics 15: 478. • Sosa-Madrid, B.S. 2017. XVII Jorn. Prod. Anim: 558-560. • Szpiech, Z.A. 2014. Mol. Biol. Evol. 31: 2824–2827. • Wright, S. 1951. Ann. Eugen. 15:323-354. • Zomeño, C. 2013. J. Anim. Sci. 91: 4526-4531.

Agradecimientos: B. Samuel Sosa Madrid agradece su beca FPI al Ministerio de Economía y Competitividad de España (BES-2015-074194) del proyecto AGL2014-55921-C2-1-P.



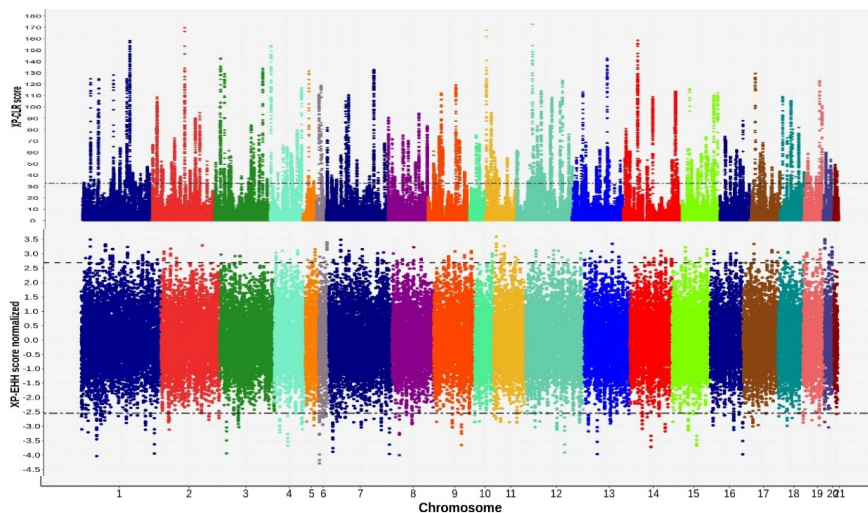


Figura 1. Manhattan Plots para F_{st} (imagen superior), XP-CLR (medio) y XP-EHH (inferior). Las líneas punteadas indican el umbral del percentil 0,01

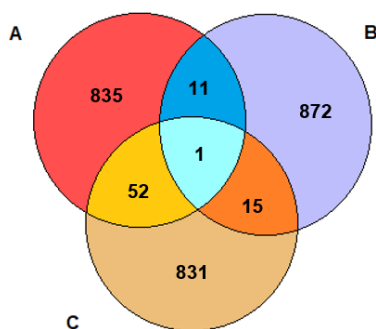


Figura 2. Diagrama de Venn para los SNPs superiores al percentil 0.01 utilizando los métodos: (A) XP-CLR, (B) XP-EHH y (C) F_{st} .

IDENTIFICATION OF GENOMIC REGIONS BY DETECTING SIGNATURES OF SELECTION FOR INTRAMUSCULAR FAT IN RABBIT LINES

ABSTRACT: A divergent selection experiment for intramuscular fat (IMF) in rabbits with a response to selection of 3.1 standard deviations was performed. The aim of this study was to identify genomic regions related to IMF through three methods of detection of signatures of selection and to generate a list of candidate genes. The genomic data came from 477 rabbits of the high and low IMF lines at 9th generation. The methods implemented in this study were: Wright's fixation index (F_{st}), cross population – composite likelihood ratio (XP-CLR) and cross population – extended haplotype homozygosity (XP-EHH). Only one SNP in rabbit chromosome (OCU) 13 showed values above the percentile 0.01 in all methods. Several genomic regions, harbouring 79 SNPs, were found in at least two methods (OCU 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 16 and 19). This suggests that either, IMF selection influenced multiple genomic regions, or the effect of genetic drift played an important role in these lines. The genes linked to fatty acid and lipid metabolic process, after pathways analysis, were *ADGRP5* (OCU 12), *PRKAG2* (OCU 13), *P2RX1*, *G6PC* and *BRCA1* (OCU 19).

Keywords: intramuscular fat, signature of selection, rabbit.

RESULTADOS DE UN PANEL DE SNP DE TRAZABILIDAD RACIAL IBÉRICO-DUROC PARA LA APLICACIÓN DE LA NORMA DE CALIDAD

Caraballo¹, C., Muñoz¹, M., Delgado-Chavero², C., González², M. y García-Casco¹, J.M.
¹INIA, Centro de I+D en Cerdo Ibérico, 06300 Zafra, ²Asociación Interprofesional del Cerdo Ibérico (ASICI), 06300 Zafra.
garcia.juan@inia.es

INTRODUCCIÓN

Los productos elaborados procedentes de cerdos Ibéricos están regulados, en su producción y comercialización, por una Norma de Calidad (BOE 2014) que se basa fundamentalmente en la trazabilidad de los sistemas de finalización del animal (*cebo*, *cebo de campo* y *bellota*) y de los tipos raciales permitidos (Ibéricos puros e Ibéricos cruzados con Duroc al 50% o al 75%, siempre a partir de madres Ibéricas puras). En este contexto, los test de ADN basados en marcadores genéticos pueden ser una herramienta muy útil para contrastar el origen racial de los animales o de los productos, contribuyendo así al cumplimiento de la Norma y a la prevención contra el fraude, como ya se ha expuesto en Muñoz et al. (2013); Barragán et al. (2015) y Caraballo et al. (2016 y 2017).

Con este objetivo, se diseñó un panel de 64 SNPs (single nucleotide polymorphism) específico para diferenciar la raza Ibérica de la raza Duroc (manuscrito en preparación). Los SNPs presentan varias ventajas sobre otro tipo de marcadores: son más abundantes y están distribuidos por todo el genoma, son fáciles de manejar e interpretar y muestran una mejor compatibilidad con la automatización del proceso de análisis. Su desventaja de ser mayoritariamente bialélicos se puede solventar genotipando un mayor número de ellos.

En este trabajo, un panel de 64 SNPs se ha empleado para estimar los porcentajes de las razas Ibérica y Duroc de muestras de cerdos de los distintos tipos raciales, tanto reproductores como cerdos de producción, procedentes de diversas ganaderías, industrias y asociaciones sectoriales. La presentación de los resultados obtenidos en estos análisis en los últimos tres años, ofrece una visión global de la situación racial en la aplicación de la citada Norma de Calidad y, por tanto, en la propia población de cerdos Ibéricos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los análisis para corroborar el origen racial se realizaron en 2491 muestras de cerdos o productos derivados, procedentes de 18 empresas diferentes, de los cuales 611 estaban considerados como Ibérico puro, 166 del 75%, 1629 del 50% y 85 eran de la raza Duroc. Se extrajo el ADN a partir de 192 biopsias auriculares, 2001 muestras de sangre y 298 muestras de tejido muscular utilizando los kits NucleoSpin Food (Macherey-Nagel), NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel) y Ron's Tissue DNA Mini Kit (Bioron), respectivamente, siguiendo las instrucciones del fabricante. Estas muestras fueron genotipadas para un panel de 64 SNPs con frecuencias extremas para Duroc e Ibérico ya que mostraron una diferencia de frecuencia para el mismo alelo entre ambas razas superior a 0.80. El genotipado se realizó a través de la plataforma OpenArray™ Genotyping de TaqMan® (Thermo Fisher Scientific) y la eficiencia del genotipado se evaluó con la herramienta de diseño de análisis Custom TaqMan®. Posteriormente, a partir de los datos de genotipado se realizó un análisis de "admixture" para discriminar entre las poblaciones, asignar su pertenencia a un grupo y estimar los niveles de mezcla de razas utilizando un método de clustering Bayesiano implementado en BAPS (Corander et al., 2013). Además, se utilizó el software STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) para verificar los resultados de BAPS y estimar intervalos de confianza al 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra el número de empresas y cerdos implicados en los análisis, en función del tipo racial, y la media del porcentaje estimado de raza Ibérica en cada uno de ellos. La Tabla 2 pormenoriza estos resultados con el número de cerdos y su porcentaje sobre el total analizado en cada tipo racial, en función de una serie de tramos establecidos según el porcentaje de Ibérico estimado.

Los **cerdos Ibéricos puros** analizados son todos reproductores o lechones sin destino definido (futuros reproductores o cerdos para sacrificio), excepto 11 muestras de cerdos de montanera. El porcentaje medio de raza Ibérica (%Ib) es del 88,5%Ib, con un 45% de los

ejemplares con porcentaje de Ibérico inferior al 90%Ib. Este resultado tiene una especial relevancia puesto que la conservación de la raza es una de las principales justificaciones de la propia Norma de Calidad. En este sentido, en el panel se incluyen SNPs de los genes *IGF2* y *MC1R*, que estaban fijados hace años para alelos exclusivos de Ibérico (Silió y García Casco, 2009) y en los cuales aparecen hoy variantes alélicas propias del Duroc, si bien a baja frecuencia. Además de las 11 muestras de cerdos de montanera de la variedad Dorado Gaditano, no reconocida aún como tal en el Libro Genealógico, que presentan un porcentaje medio de Ibérico del 81,7%Ib, se incluyeron en los análisis 65 cerdos inscritos en el Libro Genealógico de la raza Alentejana, con un porcentaje medio de Ibérico de 93,8%Ib, acorde con otros resultados presentados por Muñoz et al. (2017).

Los resultados de los **cerdos cruzados del 50%Ib** también corresponden mayoritariamente a reproductores, en este caso 1399 machos supervisados en su trazabilidad racial por ASICI. El porcentaje global de Ibérico no está muy alejado del 50%Ib, situándose un 56% de los cerdos en el tramo 45-55%Ib y sólo un 12% en el tramo por debajo del 40%Ib. Estas cifras, que mejoran año a año, invitan al optimismo respecto al cumplimiento de la Norma en la categoría racial del 75%Ib en un futuro cercano. El esfuerzo que ASICI está llevando a cabo en estos reproductores, con porcentaje medio de Ibérico de 47,5%Ib, constituye a día de hoy el único ejemplo de control racial sistemático mediante marcadores genéticos en el cumplimiento de la Norma. La composición racial del resto de los cerdos del 50%Ib (230 lechones o cerdos ya sacrificados, con media de Ibérico de 43,9%Ib), es un reflejo de los resultados encontrados en los reproductores puros expuestos en el párrafo anterior.

Los resultados de los análisis de los 166 **cerdos para el sacrificio del 75%Ib**, que tuvieron una media del porcentaje de raza Ibérico de 63,1%Ib, ponen de manifiesto la dificultad de cumplimiento estricto de la Norma en esta categoría racial. Este problema es el que está siendo abordado por ASICI, como ya se ha indicado, mediante análisis de todos los reproductores del 50%Ib con este panel de 64 SNPs. Un 45% de las muestras presentan porcentaje de Ibérico por debajo del 65%Ib, cifra que sube al 61% si se considera el 70%Ib. Incluso se observa un 21% por debajo del 50%Ib. Sin embargo, es necesario indicar que estas muestras del 75%Ib proceden de cerdos criados en los años 2015 y 2016, anteriores a los controles instaurados por ASICI.

Los resultados en **cerdos reproductores Duroc**, procedentes de compañías de genética y de una piara del denominado Duroc tradicional (cerdos adquiridos para el cruce con Ibérico a finales del siglo pasado, mantenidos desde entonces como núcleo cerrado), presentan un porcentaje medio de Ibérico de 6,9%Ib con un 64% por encima del 90% de Duroc. Los animales encontrados por debajo del 90% de Duroc corresponden en su mayoría al Duroc tradicional, lo que indicaría cierta contaminación con Ibérico a lo largo de esos años.

Los cerdos analizados en este trabajo no son una muestra planificada de la población de cerdos Ibéricos, puesto que proceden de demandas puntuales de análisis de empresas públicas y privadas, pero los resultados sí se pueden contemplar como indiciarios del estado global de dicha población respecto al cumplimiento de la Norma. Los resultados expuestos ponen en valor la utilidad de este panel de SNPs para efectuar análisis raciales que determinen el contenido en Duroc e Ibérico de cerdos vivos, muestras de matadero o de productos incluidos en la Norma de Calidad. Estos análisis podrían ser también válidos como control en muestras elegidas adecuadamente en los reproductores del Libro Genealógico de la Raza Ibérica, con el fin de evitar o al menos disminuir la presencia de alelos ajenos a esta raza, tal y como se ha expuesto en el caso de los genes *IGF2* y *MC1R*.

Tabla 1. Número de empresas en los que se han realizado análisis, animales analizados de cada tipo racial y porcentaje estimado de raza Ibérica

Tipo	Nº Empresas	Nº Cerdos	% Ibérico
Cruce 50	5	1629	47,0%
Cruce 75	2	166	63,1%
Ibérico	11	611	88,5%
Duroc	3	85	6,9%

Tabla 2. Número de animales incluidos en cada tramo de porcentaje estimado de raza Ibérica y porcentaje sobre el total de cada tipo racial

Tipo y tramos	N	%	Tipo y tramos	N	%
Cruce 50%Ib			Cruce 75%		
< 40%Ib	198	12%	< 50%	35	21%
40 - 44%Ib	337	21%	50 - 64%	40	24%
45 - 55%Ib	922	56%	65 - 69%	26	16%
56 - 60%Ib	92	6%	70 - 80 %	48	29%
> 60%Ib	80	5%	> 80%	17	10%
Ibérico 100%Ib			Duroc		
< 75%	52	8%	> 10%	31	36%
75 - 89%	226	37%	≤ 10%	54	64%
≥ 90%	333	55%			

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOE 2014. Real Decreto 4/2014, de 10 de enero.
- Corander, J. et al. 2013. BAPS: Bayesian Analysis of Population Structure. Manual v 6.0. Bioinformatics.
- Pritchard, J.K. et al. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155: 945–959
- Silió, L. & García Casco, J.M. 2019. EAAP 60th Ann. Meet., Barcelona.
- Muñoz, M. et al. 2017. 11th Int. Symp. Modern Trends in Livestock Prod., Belgrado.
- Barragán, C. et al. 2015. VIII Dry Cured Ham World Congress, Toulouse.
- Caraballo, C. et al. 2016. 9th Int. Symp. Mediterranean pig, Portalegre.
- Caraballo, C. et al 2017. 4th Fatty Pig Science Int. Conf., Badajoz.

RESULTS OF AN IBERIAN-DUROC RACIAL TRACEABILITY SNP PANEL FOR THE APPLICATION OF THE QUALITY STANDARD

ABSTRACT: A 64 SNPs panel designed to discriminate Iberian pigs from Duroc breed was used to analyse 2491 samples of live animals and derived products included in the Standard Quality of the Iberian pig breed. The average percentage of Iberian breed was 88,5%Ib for Iberian purebred pigs showing up a slight contamination with Duroc breed in an important number of breeding animals. This percentage was 47.0%Ib for 50% crossbred pigs. On the other hand, an average percentage of 63.1%Ib was observed on 75% crossbred animals. This result support the the difficulty of a strict compliance of the Quality Standard in this category. Finally the 85 Duroc purebred sires showed an average value of 6.9%Ib, being a 64% of them below to a 10%Ib. The exposed results highlight the usefulness of this 64 SPNs panel to carry out analyses that determine the Duroc and Iberian racial percentage in live pigs, slaughterhouse samples or derived products included in the Quality Standard. These analyses could also be valid as a control in samples chosen appropriately in the Iberian Breed Herdbook, in order to avoid or at least decrease the presence of foreign alleles.

Keywords: Standard Quality, racial traceability, genetic markers, SNPs.

EFEECTO DE LA SELECCIÓN POR VARIANZA AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA SOBRE LA SUPERVIVENCIA Y EL PESO PREDESTETE EN CONEJOS

Agea¹, I., Galindo¹, J., García¹, M.L., Blasco², A. y Argente¹, M.J.

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

INTRODUCCIÓN

Se está llevando a cabo un experimento de selección divergente por varianza ambiental del tamaño de la camada en conejo; tras diez generaciones de selección, las líneas mostraron una diferencia de 1,67 gazapos (4,5% de la media por generación) para la variabilidad del tamaño de camada (Blasco et al., 2017). Además, se ha producido una respuesta correlacionada en el tamaño de camada, presentado la línea homogénea 0,8 gazapos más al parto que la línea heterogénea. Se sabe que el tamaño de camada al nacimiento influye en el peso de los gazapos (Argente et al., 1999), y éste a su vez condiciona su supervivencia tanto al nacimiento (Argente et al., 1999) como al destete (Poigner et al., 2000). Por tanto, el mayor tamaño de camada de la línea homogénea podría afectar al peso del gazapo durante la lactación y su supervivencia. El objetivo de este trabajo es analizar si la selección por varianza ambiental del tamaño de camada afecta al peso de los gazapos desde el nacimiento al destete y a la supervivencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales. Las hembras de este estudio pertenecieron a la duodécima generación de un experimento de selección divergente por varianza ambiental del tamaño de la camada (más detalles en Blasco et al., 2017). La línea H es la línea seleccionada para incrementar la varianza residual del tamaño de camada y la línea L es la línea seleccionada para disminuirla. Las hembras se alojaron en las instalaciones de la Universidad Miguel Hernández de Elche 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. Durante el periodo lactación no se realizaron adopciones y las hembras tuvieron acceso libre al nidal. El destete se realizó a los 28 días tras el parto.

Supervivencia y peso desde el nacimiento hasta el destete. La tabla 1 presenta el número de datos para cada una de las líneas. La toma de datos tuvo lugar desde diciembre de 2017 hasta septiembre de 2018. El número de gazapos vivos, gazapos muertos y fetos al parto fueron contabilizados. A los 4 días de postparto y al destete los gazapos fueron contabilizados. La supervivencia al nacimiento se estimó como la relación entre los gazapos nacidos vivos y los gazapos totales, la supervivencia a los 4 días de lactación se estimó como la relación entre el número de gazapos a los 4 días postparto y el número de gazapos nacidos vivos y la supervivencia al destete como el cociente entre el número de gazapos destetados entre los gazapos a los 4 días postparto. Los gazapos fueron pesados individualmente al nacimiento y al destete y la media y la desviación típica del peso de los gazapos por camada fue calculada para los gazapos nacidos totales, los gazapos nacidos vivos y los gazapos al destete.

Análisis estadístico. Todos los caracteres se analizaron con un modelo que incluyó los efectos de la línea (línea H y línea L), el orden de parto (primer, segundo, tercer y cuarto parto), la estación del año (invierno, primavera y verano) y el efecto permanente de hembra. La desviación típica del peso de los gazapos nacidos totales y vivos además incluyó la covariable número de nacidos totales y la desviación típica del peso de los gazapos destetados incluyó la covariable número de destetados. Todos los análisis se realizaron utilizando metodología bayesiana. Se utilizaron aprioris planos acotados para todos los efectos con la excepción del efecto permanente de hembra, que se consideró distribuido de forma normal con media $\mathbf{0}$ y varianza $\mathbf{I}\sigma_p^2$. Los residuos se distribuyeron normalmente con media $\mathbf{0}$ y varianza $\mathbf{I}\sigma_e^2$. Los aprioris de las varianzas fueron también planos acotados. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron usando muestreo de Gibbs (Blasco, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las líneas presentaron similar porcentaje de fetos al nacimiento (1,6% en la línea H y 1,4% en la línea L, Tabla 1; $\chi^2=0,45$; $P=0,50$). El peso de los fetos fue 12,9 g en la línea H y 12,8 g en la línea L.

La tabla 2 presenta las diferencias entre la línea de alta y de baja variabilidad del tamaño de camada para el tamaño de camada al nacimiento y las supervivencias al nacimiento, a los 4 días postparto y al destete. Como se ha corroborado a lo largo de las generaciones de selección (Blasco et al., 2017), la línea L sigue presentando mayor tamaño de camada al nacimiento que la línea H con una muestra de la generación 12 (0,3 gazapos, $P=0,90$). Ambas líneas presentan similar supervivencia al nacimiento y a los 4 días postparto. Sin embargo, la supervivencia al destete es un 5% superior en la línea L que en la línea H ($P=0,93$). Aunque el tamaño de camada hasta el destete es mayor en la línea L, el peso medio de los gazapos totales, vivos y al destete es similar en ambas líneas.

Con respecto a la desviación típica del peso de los gazapos totales al nacimiento, es un 13% superior en la línea L que en la línea H ($P=0,99$). La desviación típica del peso de los gazapos vivos es similar en ambas líneas, mientras que al destete es un 10% inferior en la línea L que en la línea H ($P=0,94$). Por tanto, la selección para incrementar la homogeneidad el tamaño de camada al nacimiento produce camadas más homogéneas en el peso de los gazapos al destete, que podría favorecer los parámetros técnicos del cebadero.

Podemos concluir con la supervivencia y el peso de los gazapos hasta el destete está genéticamente relacionada con la variabilidad del tamaño de camada, de forma que la línea seleccionada para tener una menor variabilidad en tamaño de camada presenta una mayor supervivencia y una mayor homogeneidad del peso de los gazapos al destete que la seleccionada para una mayor heterogeneidad. Esto puede tener consecuencias positivas sobre la supervivencia en el cebadero y la uniformidad de las canales comercializadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A. & Blasco A. 1999. *Livestock Production Science* 57:159-167.
- Blasco, A. 2017. *Bayesian data analysis for animal scientists*. Springer. New York, USA.
- Blasco A., Martínez-Álvaro M., García M.L., Ibáñez-Escriche N. & Argente M.J. 2017. *Genetic Selection Evolution* 49:48.
- Poigner, J., Szendrő, Zs., Lévai, A., Radnai, I. & Biró-Németh, E. 2000. *World Rabbit Science* 8(1): 17-22.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado por el AGL2017-86083-C2-2-P.

Tabla 1. Número de datos para las líneas de alta (H) y baja (L) variabilidad del tamaño de camada.

Línea	Hembras	Camadas	Gazapos al nacimiento	Fetos
H	116	244	1924	31
L	127	261	2483	34
Total	243	505	4407	65

Tabla 2. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre ambas líneas.

	Mediana _H	Mediana _L	D _{H-L}	HPD _{95%}	P
número de nacidos totales	8,1	8,4	-0,3	-0,8; 0,2	0
supervivencia					
Al nacimiento	0,89	0,87	0,02	-0,03; 0,06	0
A 4 días postparto	0,88	0,87	0,01	-0,04; 0,05	0
Al destete	0,62	0,67	-0,05	-0,12; 0,01	0
día del peso de los gazapos por camada					
Totales al nacimiento(g)	54,6	54,4	0,2	-1,7; 2,0	0
Vivos al nacimiento(g)	55,4	55,6	-0,2	-2,0; 1,7	0
Destetados (g)	523	504	19	-17; 53	0
desviación típica del peso de los gazapos por camada					
Totales al nacimiento (g)	7,1	7,9	-0,8	-1,6; -0,1	0
Vivos al nacimiento (g)	6,4	6,7	-0,3	-0,9; 0,2	0
Destetados (g)	70,0	63,4	6,6	-1,4; 14,9	0

D_{H-L}: mediana de la diferencia entre las líneas de alta y baja variabilidad ambiental del tamaño de camada. HPD_{95%}: Región de alta densidad posterior al 95%. P: Prob (D>0) cuando D>0 y Prob (D<0) cuando D<0.

EFFECT OF SELECTION FOR ENVIRONMENTAL VARIANCE OF LITTER SIZE IN SURVIVAL AND WEIGHT BEFORE WEANING IN RABBITS

ABSTRACT: The objective of this study was to relate survival and weight between birth and weaning with litter size variability. Kits come from the 12th generation of a divergent selection experiment for litter size variability. Number of born alive, death and foetuses at birth, number of kits at 4 day postpartum and number of weaned were recorded. Survival at birth, at 4 days postpartum and at weaning was calculated. Kits were also weighted at birth and at weaning and the average and standard deviation of the weight per litter was calculated. A higher litter size at birth (0.3 kits; P=0.90) and survival at weaning (0.05; P=0.93) and a lower variability of weight at weaning (6.7 g; P=0.94) was found in the low line. Both lines, showed similar average weight of kits per litter at birth and at weaning. In conclusion, selection for reducing environmental variance of litter size at birth do not depress survival and weight at weaning.

Keywords: Litter size variability, survival, weaning, weight.

RESPUESTA CORRELACIONADA A LA SELECCIÓN POR VARIANZA AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA SOBRE LA CONDICIÓN CORPORAL DE LA CONEJA

Agea¹, I, García¹, M.L., Blasco², A. y Argente¹, M.J.

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

mj.argente@umh.es

INTRODUCCIÓN

En especies prolíficas como el conejo, la variabilidad del tamaño de camada se ha relacionado con la sensibilidad ambiental o la capacidad de la hembra a adaptarse a los cambios del ambiente (Blasco et al., 2018). Esta adaptación a menudo implica cambios en la movilización de las reservas energéticas y, por consiguiente, en la condición corporal del animal (Rauw, 2009). Existen evidencias que respaldan que la sensibilidad a los cambios ambientales puede estar bajo control genético (Blasco et al., 2017), por lo que los genes que controlan la sensibilidad ambiental también pueden controlar la condición corporal. Se ha realizado con éxito un experimento de selección divergente por variabilidad ambiental del tamaño de camada en conejos. Después de diez generaciones de selección, la línea de baja variabilidad fue un 45% más homogénea en el tamaño de la camada (Blasco et al., 2017) y mostró una menor tasa de eliminación (-12,4%) que la línea heterogénea (Argente et al., 2019). Nuestra hipótesis de trabajo es que la línea homogénea es menos sensible a los cambios ambientales que la línea heterogénea, i.e. se adapta mejor, movilizando las reservas energéticas de forma más eficiente que la línea heterogénea. El espesor de la grasa perirenal es utilizado para medir la condición corporal en conejo, pues es el principal depósito de grasa y está altamente correlacionado con los requerimientos energéticos del animal (Pascual et al., 2000).

El objetivo de este estudio fue analizar la respuesta correlacionada a la selección por variabilidad ambiental del tamaño de la camada en la condición corporal y la movilización de los depósitos grasos de la coneja.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales. Los animales procedían de la duodécima generación del experimento de selección divergente por varianza ambiental del tamaño de camada. Para este estudio, se utilizaron 63 hembras de la línea de baja (L) y 56 de la línea de alta (H) variabilidad del tamaño de camada. Todas las hembras eran primíparas. Las hembras fueron alojadas en jaulas individuales en las instalaciones de la Universidad Miguel Hernández de Elche, e iniciaron su vida productiva a las 18 semanas de vida. A los 10 días tras el parto fueron de nuevo llevadas a la monta. Las camadas no se estandarizaron. Los gazapos se destetaron a los 28 días de vida. La alimentación fue *ad libitum* con un pienso comercial.

Caracteres. Se midieron las reservas grasas en cuatro estados fisiológicos diferentes de la coneja; segunda monta, parto, a los 10 días tras el parto y destete. Se estimó el nivel de las reservas grasas del animal, a través de la medida del espesor de grasa perirenal, utilizando imágenes de ultrasonidos como describen Pascual et al. (2000).

Análisis estadísticos. El modelo para el espesor de la grasa perirenal incluyó los efectos de estación (con tres niveles: invierno, primavera y verano), presencia de gazapos lactantes en el momento de la medida (con dos niveles: presencia o ausencia), línea-estado-fisiológico (con ocho niveles: monta, parto, 10 días tras el parto y destete en la línea de baja y de alta variabilidad), y el efecto permanente de hembra. Todos los análisis se realizaron con metodología bayesiana. Se utilizaron aprioris planos acotados para todos los efectos con la excepción del efecto permanente de hembra, que se consideró distribuido de forma normal con media 0 y varianza $1\sigma_p^2$. Los residuos se distribuyeron normalmente con media 0 y varianza $1\sigma_e^2$. Los aprioris de las varianzas fueron también planos acotados. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron con muestreo de Gibbs. Se usó el programa Rabbit desarrollado por el Instituto de Ciencia Animal y Tecnología (Valencia, España). Se tomaron cadenas de 60.000 iteraciones con un periodo de quemado

de 10.000 iteraciones, y se guardó una muestra de cada 10 iteraciones. La convergencia fue testada usando el criterio Z de Geweke y los errores Monte Carlo fueron obtenidos por series temporales (Sorensen y Gianola, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra las medias para el espesor de la grasa perirenal en la línea de baja (L) y de alta (H) variabilidad para el tamaño de camada, así como los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre dichas líneas. Después de doce generaciones de selección, el espesor de grasa perirenal a la monta fue similar en ambas líneas (Tabla 1). El parto es una situación estresante para la hembra, donde la ingesta de alimentos se ve reducida los días previos y se produce una alta demanda energética (Fortun-Lamothe, 2006). Ello explica la reducción de los depósitos grasos al parto en ambas líneas. Sin embargo, esta reducción fue menor en la línea de baja que en la de alta (-0,30 mm, $P=0,99$, en la línea homogénea vs. -0,55 mm, $P=1,0$, en la línea heterogénea), a pesar de tener casi un gazapo más al parto (Blasco et al., 2017). Inmediatamente tras el parto, la producción de leche es baja y la ingestión de alimento es suficiente para cubrir las necesidades tanto de mantenimiento de la hembra como de la lactación (Feugier y Fortun-Lamothe, 2006), así que las hembras tienden a incrementar sus reservas corporales entre el parto y los primeros días de la lactación (Theilgaard et al., 2009). En este sentido, se observa que tanto la línea de baja como de alta variabilidad incrementan sus depósitos grasos a los 10 días tras el parto, pero de nuevo la línea de baja variabilidad tiene un mayor espesor de grasa perirenal que la línea de alta (+0,24 mm, $P=0,95$). Una menor recuperación de las reservas grasas en la línea heterogénea podría estar relacionada con la mayor tasa de eliminación encontrada en esta línea (Argente et al., 2019). El manejo reproductivo utilizado es el semiintensivo, i.e. la coneja era montada a los 10 días tras el parto, por lo que al destete la hembra podía estar simultáneamente lactando y gestando. En esta situación, la ingestión de alimento no sería suficiente para cubrir las necesidades de mantenimiento de la hembra, de producción de leche y de desarrollo de los gazapos de la siguiente gestación. Esto estaría de acuerdo con la reducción de las reservas grasas al destete en ambas líneas. La lactación y gestación de camadas más numerosas en la línea de baja variabilidad, explicaría que la diferencia encontrada entre líneas a los 10 días tras el parto para el espesor de grasa perirenal desapareciera al destete.

En conclusión, el parto y la lactación son situaciones estresantes para la hembra con altas demandas energéticas, la línea seleccionada por homogeneidad en tamaño de camada parece adaptarse mejor a situaciones adversas y tener un mejor manejo de sus reservas energéticas. Una mayor adaptación de la hembra estaría relacionada con un mayor bienestar del animal y un menor riesgo de ser eliminado.

Tabla 1 Medias y parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias para el espesor en la grasa perirenal entre la línea de baja (L) y alta (H) variabilidad ambiental para el tamaño de camada.

Estado fisiológico	Línea L (n=63)	Línea H (n=56)	D_{L-H}	HPD _{95%}	P
Monta, mm	7,45	7,54	-0,10	-0,41, 0,21	0,72
Parto, mm	7,14	6,99	0,15	-0,16, 0,47	0,84
10 d tras el parto, mm	7,70	7,44	0,24	-0,06, 0,57	0,95
Destete, mm	7,40	7,34	0,06	-0,24, 0,37	0,64

D_{L-H} : mediana posterior de la diferencia entre las líneas L y H. HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%. P: $P(D>0)$ cuando $D>0$ y $P(D<0)$ cuando $D<0$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., García, M.L., Zbyňovská, K., Petruška, P., Capcarová, M. & Blasco, B. 2019. Accepted in Animal.
- Blasco, A., Martínez-Álvaro, M., García, M.L., Ibáñez-Escriche, N. &

Argente, M.J. 2017. *Genet. Sel. Evol.* 49: 48-55. • Blasco, A., Martínez-Álvaro, M., García, M.L., Capcarova, M., Zbynovska, K., Petruscka, P., Ibáñez-Escriche, N. & Argente, M.J. 2018. Proceedings in World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Vol Challenges-Genotype by Environment Interactions: 89. • Feugier, A. & Fortun-Lamothe, L. 2006. *Animal Research* 55: 459-470. • Fortun-Lamothe, L. 2006. *Anim. Reprod. Sci.* 93: 1-15. • Pascual J.J., Castella F., Cervera C., Blas E. & Fernández-Carmona J. 2000. *Anim. Sci.* 70: 435-442. • Rauw, W.M. 2009. Resource allocation theory applied to farm animal production. CAB International. Wallingford, UK. • Sorensen, D. & Gianola, D. 2002. Springer, New York. USA. • Theilgaard, P., Sánchez, J.P., Pascual, J.J., Friggens, N.C. & Baselga, M. 2006. *Livestock Science* 103, 65-73.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado con el proyecto AGL2017-86083-C2-2-P.

CORRELATED RESPONSE TO SELECTION FOR LITTER SIZE ENVIRONMENTAL VARIANCE IN RABBITS' BODY CONDITION

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the correlated response in body condition in two rabbit lines divergently selected by litter size variability over twelve generations. A total of 63 females from the low line and 56 females from the high line were used in this study. Body condition was measured at four different physiological status in primiparous females mating, delivery, 10 d after delivery and weaning, as perirenal fat thickness. Data were analysed using Bayesian methodology. Perirenal fat thickness at mating was similar in both lines. However, the low line showed higher perirenal fat thickness at delivery (+0.15, $P = 0.84$) and 10 d after delivery (+0.24, $P = 0.95$) than the high line. The difference between lines disappeared at weaning. The more homogeneous line for litter size showed a favourable correlated response to selection on body condition. In this regard, the more homogenous line for litter size seems to adapt better to adverse environments, as it has a greater capacity to mobilise energy reserves at delivery than the heterogeneous line. A larger adaptation would be related to better welfare and lower risk of culling.

Keywords: body condition, litter size variability, perirenal fat thickness, rabbit.

HUELLAS DE SELECCIÓN EN UN EXPERIMENTO DE SELECCIÓN DIVERGENTE POR VARIANZA AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO

Casto-Rebollo¹, C., Varona³, L., Argente², M.J., García², M.L., Sosa-Madrid¹, B.S., Blasco¹, A. y Ibáñez-Escriche¹, N.

¹Institute for Animal Science and Technology, Universitat Politècnica de València, València, Spain. ²Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández de Elche, Orihuela, España. ³Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza, 50013, Zaragoza, España, España
cricasre@posgrado.upv.es

INTRODUCCIÓN

En los últimos años han aparecido numerosas evidencias estadísticas del determinismo genético de la varianza ambiental de caracteres medidos en producción animal (Hill y Mulder, 2010; Vandenplas et al., 2013; Marjanovic et al., 2016). Recientemente, la Universidad Miguel Hernández de Elche llevó a cabo un experimento de selección divergente para alta y baja varianza ambiental del tamaño de camada (V_E) en conejos. La respuesta a la selección por generación fue del 4.5% de la media de V_E en la población base (Blasco et al., 2017). Estos resultados mostrarían, experimentalmente, la existencia del control genético de V_E . Además, estudios comparativos entre estas líneas para supervivencia (Argente et al., 2017) y biomarcadores asociados con la "fitness" y el estado fisiológico del animal (Cortisol, proteínas de fase aguda; CRP y SAA; y leucocitos) (García et al., 2012; Blasco et al., 2018; Argente et al., 2019) sugieren una relación entre la V_E y la resiliencia de los animales. Es decir, la selección por baja V_E podría haber modificado la capacidad de los individuos a adaptarse a cambios ambientales sin verse perjudicado su rendimiento productivo. El objetivo de este estudio fue identificar las regiones genómicas que han sido modificadas por la selección por V_E y que podrían afectar a la resiliencia de los animales. Para ello se utilizó el estadístico F_{ST} de Wright que se basa en la observación de la pérdida de heterocigosidad entre poblaciones divergentes (Wright, 1951).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos pertenecen al experimento de selección divergente llevado a cabo por la Universidad Miguel Hernández de Elche. En este estudio se usaron 384 genotipos de animales procedentes de la población base (96) y las líneas seleccionadas por alta V_E (149) y por baja V_E (139) de las generaciones 11 y 12. Los genotipados se realizaron con el chip de Affymetrix Axiom OrcunSNP (199.692 SNPs). Los controles de calidad de los genotipos se realizaron con la plataforma Axiom Analysis Suite 3.1 de Thermo Fisher Scientific y el software PLINK v1.9 (Chang et al., 2015). Se incluyeron sólo SNPs (96 239) que tienen una posición conocida en el mapa físico o genómico, poseen una frecuencia del alelo minoritario > 5% y tienen <5% de valores faltantes. Igualmente, sólo se mantuvieron en el estudio aquellos animales que tuvieran <3% de SNPs faltantes (367). La detección de señales de selección se realizó mediante el cálculo del estadístico F_{ST} de Wright (Wright, 1951) que tiene en cuenta la pérdida de heterocigosidad que sufren las poblaciones en las regiones que están siendo seleccionadas. El valor del F_{ST} fue escalado según Beissinger et al. (2015) y se denominó W . El valor del W se promedió calculando ventanas deslizantes de un solo SNP con un tamaño de 0,5Mb y 1Mb. El umbral de relevancia se estableció en el percentil 99,9% calculado según los valores de W promediados por ventanas. La búsqueda de genes candidatos se realizó en la base de datos Ensembl (Zerbino et al., 2018). Las anotaciones de los procesos biológicos de los genes se verificaron en GeneCards (Rappaport et al., 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de W en el percentil 99,9% fueron 21,3 y 27,7 para las ventanas deslizantes de 0,5Mb y 1Mb, respectivamente. Ocho regiones genómicas localizadas en los cromosomas 2, 7, 9, 12, 18 y X del genoma *Oryctolagus Cuniculus* (Figura 1) superaron este umbral. Estos resultados sugerirían que estas regiones habrían sido modificadas por la selección divergente por V_E .

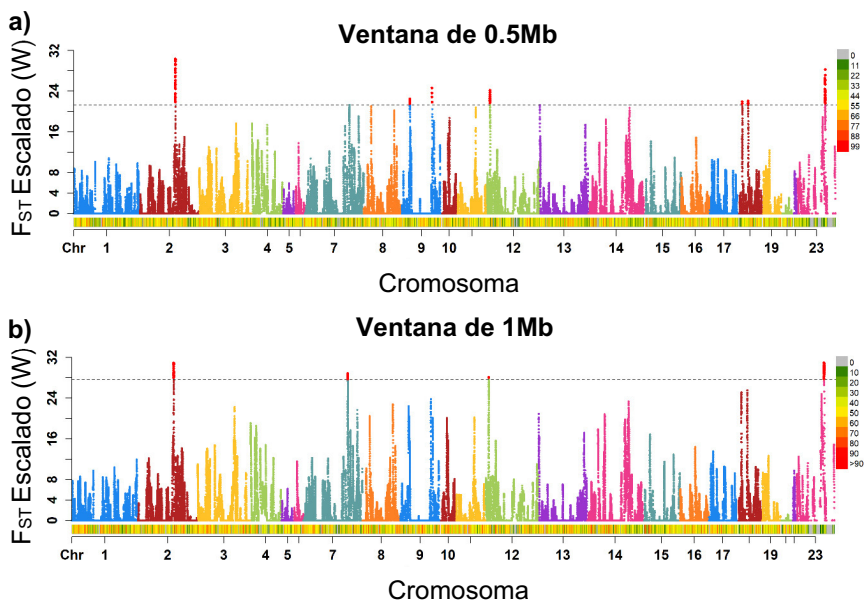


Figura 1. Gráfica de los valores de F_{ST} escalados (W). Se representan los valores de W promediados según ventanas de 0,5Mb (a) y 1Mb (b) a lo largo del genoma del *Oryctolagus Cuniculus*. La línea horizontal discontinua marca el umbral al percentil 99,9%. Las regiones relevantes se marcan como puntos rojos. La densidad de los marcadores a lo largo del genoma se representa con una barra con gradientes de colores desde el gris (0%) hasta el rojo (>90%). a) Regiones relevantes se identificaron en los cromosomas 2, 9, 12, 18 y 23 (corresponde al cromosoma X). b) Regiones relevantes se identificaron en los cromosomas 2, 7, 12 y 23.

Un total de 46 genes y 9 ncRNA fueron localizados dentro estas regiones. De ellos, 11 genes (*HESX1*, *SMAD2*, *ASB14*, *CTIF*, *SMAD7*, *JARID2*, *COMTD1*, *VDAC2*, *IL17RD*, *PDE12* y *ARF4*) fueron seleccionados como posibles genes candidatos debido a las funciones biológicas que pueden desarrollar. En estas líneas se han observado diferencias importantes en embriones implantados y supervivencia embrionaria (Argente et al., 2017). Por tanto, funciones biológicas implicadas en la fertilización, regulación hormonal y desarrollo del embrión podrían ser relevantes en este estudio. Genes como *VDAC2* (Fertilización), *HESX1* (Represor transcripcional de la hipófisis), *JARID2* (Represor transcripcional del desarrollo embrionario) y *SMAD2* (Desarrollo embrionario en el útero) cumplen funciones determinantes en el tamaño de camada. Por otra parte, la resiliencia de los animales tiene sus bases en la habilidad para percibir y responder a los estímulos ambientales. Concretamente, el sistema inmunitario es tanto un sensor como un tipo de reacción a los cambios en el ambiente (Colditz, y Hine, 2016). Los genes *PDE12*, *ARF4*, *SMAD7*, *ASB14*, *IL17RD* y *JARID2* (Regulador de la hematopoyesis) intervienen en procesos relacionados con el desarrollo de la respuesta del sistema inmunitario por lo que podrían estar implicados en las diferencias en resiliencia entre las líneas. Por otra parte, el gen *CTIF* es un gen implicado en la regulación del inicio de la transcripción, estabilizando el RNA y evitando su degradación y el gen *COMTD1* regula la

expresión génica a través de la metilación del DNA. Estas funciones son más generales ya que se llevan a cabo a nivel de todo el organismo, pero se han propuesto porque podrían estar afectando en mayor medida a la expresión de características importantes de V_E . Finalmente, todos estos genes presentan funciones acordes con las diferencias observadas entre las líneas de alta y baja V_E para parámetros reproductivos (Argente et al., 2017) y de resiliencia (Blasco et al., 2018). No obstante, son necesarios más estudios para poder validar estos resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Argente, M.J, García, M.L., Zbynovska, K., Petruska, P., Capcarova, M. & Blasco, A. 2019. Animal, in press. • Beissinger, T.M., Rosa, G.J.M., Kaeppler, S.M., Gianola, D. & De Leon, N. 2015. Genet. Sel. Evol. 47: 30. • Blasco, A., Martínez-Álvaro, M., García, M.L., Ibáñez-Escriche, N. & Argente, M.J. 2017. Genet. Sel. Evol. 49, 48. • Blasco, A., Martínez-Álvaro, M., García, M.L., Capcarova, M., Zbynovska, K., Petruska, P., Ibáñez-Escriche, N. & Argente, M.J. 2018. Proc. World Congr. Genet. Appl. to Livest. Prod. 11.89. • Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C.A.M., Vattikuti, S., Purcell, S.M. & Lee, J.J. 2015. Gigascience 4, 1–16. • Colditz, I.G. & Hine, B.C. 2016. Anim. Prod. Sci. 56: 1961-1983. • García, M.L., Argente, M.J., Muelas, R., Birlanga, V. & Blasco, A., 2012. Proc. 10th World Rabbit Congr. 103–106. • Hill, W.G., Mulder, H.A. 2010. Genet. Res. 92: 381–395. • Marjanovic, J., Mulder, H. A., Khaw, H. L. & Bijma, P. 2016. Genet. Sel. Evol. 48: 41. • Rappaport, N., Fishilevich, S., Nudel, R., Twik, M., Belinky, F., Plaschkes, I., Stein, T.I., Cohen, D., Oz-Levi, D., Safran, M. & Lancet, D. 2017. Biomed. Eng. Online 16, 72. • Vandenplas, J., Bastin, C., Gengler, N. & Mulder, H.A. 2013. J. Dairy Sci. 96, 5977-5990. • Wright, S. 1951. Ann. Eugen. 15:323-354. • Zerbino, D.R., Achuthan, P., Akanni, W., Amode, M.R., Barrell, D., Bhai, J., Billis, K., Cummins, C., Gall, A., Girón, C.G., Gil, L., Gordon, L., Haggerty, L., Haskell, E., Hourlier, T., Izuogu, O.G., Janacek, S.H. & Juettemann, T. 2018. Nucleic Acids Res. 46.

Agradecimientos: Esta investigación está financiada con cargo a los proyectos AGL2014-126 55921 y AGL2017-86083 del Plan Nacional de Investigación. Cristina Casto Rebollo agradece al Ministerio de Educación del Gobierno de España por la beca FPU17/01196.

SELECTION SIGNATURES IN A DIVERGENT SELECTION EXPERIMENT FOR ENVIRONMENTAL VARIANCE OF LITTER SIZE IN RABBITS

ABSTRACT: Genetic selection experiments of environmental variance (V_E) have shown that V_E is under genetic control. Additionally, a relationship between V_E and the ability of animals to cope with environmental changes maintenance their performances (resilience) has been suggested. A twelve-generation divergent selection experiment for V_E of litter size showed that the low V_E line tolerated external stressors more effectively than the high V_E line. The aim of this study was to identify selection signatures in these lines by calculating the Wright's statistic (F_{ST}). 384 rabbits does from base population (96) and high (149) and low (139) V_E line were genotyped with Affymetrix Axiom OrcunSNP. Results revealed eight regions in chromosomes 2, 7, 9, 12, 18 and X with selection signatures containing a total of 46 genes. From these, 11 genes (*HESX1*, *SMAD2*, *ASB14*, *CTIF*, *SMAD7*, *JARID2*, *COMTD1*, *VDAC2*, *IL17RD*, *PDE12* y *ARF4*) highlighted for their functions related to the immunology system, fertilization, embryo development, organ development and hormonal regulation. Functions involve in embryology are important to control litter size (used to calculate V_E) and functions related to immunology are needed to regulate animal resilience. Thus, regions identified in this study could explain the differences in V_E and resilience between lines.

Keywords: selection signatures, environmental variance, resilience, rabbits

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE DIFERENCIAS EN LONGEVIDAD REPRODUCTIVA ENTRE DOS LÍNEAS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE PARA VARIABILIDAD DEL PESO AL NACIMIENTO EN RATONES

Formoso-Rafferty, N., Gutiérrez, J.P. y Cervantes, I.

Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. UCM. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid. icervantes@vet.ucm.es

INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado la posibilidad de seleccionar para modificar la variabilidad ambiental de algunos caracteres productivos (Formoso-Rafferty et al., 2016a). Por otro lado, la homogeneidad de los rendimientos de los animales ha incrementado su importancia, por lo que recientemente se ha comenzado a incorporar como uno de los objetivos de selección en programas de mejora (Revilla et al., 2018). Además, se ha descrito que la selección por homogeneidad daría lugar a animales más robustos (Formoso-Rafferty et al., 2016a), con los consiguientes beneficios en bienestar (Mormede y Terenina, 2012) y en producción animal (Bolet et al., 2007). Un experimento de selección divergente para variabilidad del peso al nacimiento en ratones ha mostrado que los animales de la línea homogénea son menos pesados, pero tienen mejor rendimiento reproductivo sin ser menos eficientes (Formoso-Rafferty et al., 2018), tienen mayor tamaño de camada y supervivencia al destete (Formoso-Rafferty et al., 2016b), y se defenderían mejor ante un reto ambiental como la restricción alimentaria (Formoso-Rafferty et al., 2017). Todo parece indicar que existirían diferencias en longevidad reproductiva a favor de la línea homogénea, pero dicho análisis no ha sido realizado aún. Por ello, el objetivo de este trabajo fue comparar la supervivencia reproductiva de las dos líneas divergentes de este experimento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron los animales de la generación 20 del experimento de selección divergente para variabilidad ambiental de peso al nacimiento en ratón (Formoso-Rafferty et al., 2016a). De acuerdo con el diseño experimental, se aparearon respectivamente 43 hembras con 43 machos en la línea de alta (AV) y baja (BV) variabilidad, y se mantuvieron las parejas hasta que transcurriesen más de 63 días (período equivalente a 3 gestaciones) desde el último parto. Se registraron todos los animales que tuvieron números de parto consecutivos y se expresó en porcentaje con respecto al número de animales inicial (43) y con respecto al número de hembras que habían tenido el número de parto anterior. Se comparó el número de hembras que registraban cada número de parto mediante una prueba Chi-2 haciendo uso del procedimiento FREQ de SAS (SAS Institute Inc., 1990), estudiando también este número en relación a las hembras disponibles para cada parto por haber registrado el número de parto previo. Para considerar que una hembra no había registrado un determinado número de parto se tomó como desconocida la información en el caso de que no hubieran transcurrido 63 días desde el último parto, lo que redujo notablemente el número de datos disponibles a partir del segundo parto. También se comparó el intervalo entre partos en las dos líneas y el tamaño de camada al nacimiento y al destete mediante un procedimiento MIXED del programa SAS (SAS Institute Inc., 1990), en el que el modelo incluía el número de parto y la línea como efectos fijos y la hembra como efecto aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1a se presentan los números de parto de las hembras de cada línea hasta el sexto parto (aunque en el momento de la redacción de este trabajo el experimento no había concluido, y para 18 hembras de AV y 33 hembras de BV no han transcurrido todavía los 63 días de margen establecido por lo que aún podrían registrar nuevos partos). En todo caso, la línea BV presentó un 63% más de primeros partos que la línea AV, el doble de segundos partos y un incremento en las diferencias entre líneas hasta 10 veces más en el caso de los quintos partos, aunque estas diferencias sólo fueron significativas ($p < 0,05$) para los dos primeros partos debido al bajo número de hembras con información definitiva sobre el resto de partos por no haber concluido el

experimento para ellas. Por otro lado, el hecho de haber concluido o no el experimento es en sí mismo un resultado de interés, ya que el 68% de las hembras de AV habían concluido el experimento, frente a sólo un 23% de la línea BV, lo que es un indicativo de un mejor rendimiento reproductivo de la línea BV. Para evitar la influencia del elevado número de hembras que no registraron el primer parto en la línea AV, en la figura 1b se representan estos mismos valores expresados en porcentaje con respecto al total (y por tanto con una evolución idéntica a la de la figura 1), pero también con respecto al número de hembras disponibles por haber registrado el número de parto precedente. Incluso teniendo en cuenta este ajuste, la línea BV siempre obtuvo un mejor rendimiento que la línea AV, estableciéndose la menor diferencia en el tercer parto, en el que se obtuvieron partos del 90% de las hembras de BV frente a un 74% de las hembras de AV. Dentro de la provisionalidad de los resultados, sí que se aprecia la mayor dificultad de las hembras de la línea AV para lograr alcanzar una gestación eficaz. Con respecto al tamaño de camada y el intervalo entre partos, se encontraron diferencias relevantes y significativas ($p < 0,001$) entre líneas, siendo respectivamente 5,5 y 8,4 crías, el tamaño de camada para las líneas AV y BV. En cuanto al intervalo entre partos fue de 34,2 y 26,8 días, respectivamente para ambas líneas. Se concluye que se encontraron nuevas ventajas reproductivas de la homogeneidad del peso al nacimiento en ratones que sugieren una mayor robustez y una mejora en el bienestar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bolet, G., Gaffeau, H., Joly, T., Theau-Clement, M., Faheres, J., Hurtaud, J. & Bodin, L. 2007. *Livest. Sci.* 111: 28-32. • 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., De la Flor, M., Gutiérrez, J.P. & Cervantes, I. 2018. *J. Anim. Breed. Genet.*, 135: 378-389. • Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Gutiérrez, J.P. & Bodin, L., 2017. XVII Jornadas AIDA. • Mormede, P. & Terenina, E. 2012. *Domest. Anim. Endocrin.* 43: 116-131. • Revilla, M., Frigens, N.C., Broudiscou, L.P., Lemonnier, G., Blanc, F., Ravon, L., Mercat, M.J., Billon, Y., Rogel-Gaillard, C., Le Floch, N., Estellé, J. & Muñoz-Tamayo, R., 2018, 69th Annual meeting, EAAP. • SAS Institute, 1990. *SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2)*. SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.

Agradecimientos: El estudio se ha realizado con una financiación parcial a través de un proyecto MEC-INIA (RTA2014-00015-C02-02).

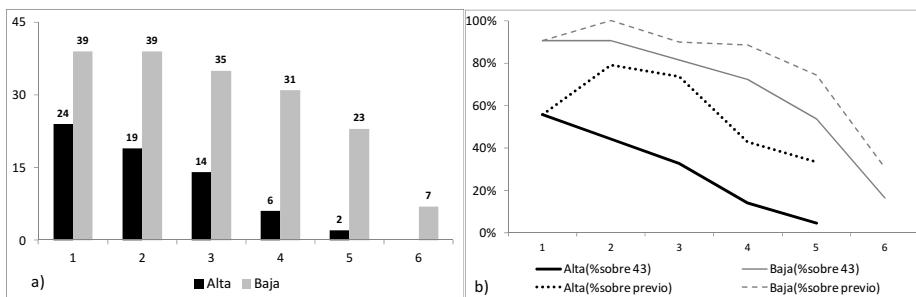


Figura 1. a) Número de hembras de alta y baja variabilidad registrando diferente número de parto de un total de 43 hembras disponibles por línea. b) Porcentaje de partos de hembras de alta y baja variabilidad según el número de parto, expresados con respecto al número total inicial de hembras y con respecto al número de hembras disponibles al haber registrado el parto precedente.

**PRELIMINARY STUDY ON DIFFERENCES IN REPRODUCTIVE LONGEVITY
BETWEEN TWO LINES DIVERGENTLY SELECTED FOR BIRTH WEIGHT
ENVIRONMENTAL VARIABILITY IN MICE**

ABSTRACT: The possibility of selecting to modify the environmental variability of some productive characters has been demonstrated, and the homogeneity of animal yields has been recently started to be included as one of the selection objectives in improvement programs. A divergent selection experiment for variability of birth weight in mice has shown that the animals of the homogeneous line would be less heavy, but would have better reproductive performance without being less efficient. The objective of this work was to compare the reproductive survival of the two divergent lines of this experiment. A number of 43 females with 43 males in the line of high (AV) and low (BV) variability were mated respectively, and stayed in the same cage having parturitions. The number of animals reaching consecutive numbers of births was recorded. The number of females registering each calving number, as well as interval between parturitions were compared between lines. The low variability line performed 63% more first births than the high variability one, twice the number of second births and 10 times more fifth births. In addition. Regarding litter size and interval between parturitions, significant and highly significant differences were found ($p < 0.001$) between lines, being the litter size respectively 5.5 and 8.4 pups, for the high and low variability lines, and 34.2 and 26.8 days, their respective mean interval between parturitions. Relevant reproductive advantages were found of birth weight homogeneity mice suggesting greater robustness and better welfare.

Keywords: divergent selection experiment, mice, reproductive ability.

DETECCIÓN DE REGIONES GENÓMICAS ASOCIADAS AL CONTENIDO DE VITAMINA A Y E EN PLASMA EN RASA ARAGONESA

Öner, Y.¹, Serrano, M.², Bertolín, J.R.³, Sarto, M.P.³, Iguácel, L.P.³, Ramón, M.⁴, Blanco, M.³, Joy, M.³ y Calvo, J.H.^{3,5}

¹ Universidad de Uludag. Bursa. Turquía. ² INIA. Ctra. de La Coruña km 7,5. 28040 Madrid, España. ³ CITA-IA2. Av. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. ⁴ IRIAF. Cersyra-Valdepeñas, Av. del vino 10, 13300, Ciudad Real, España. ⁵ ARAID. Av. Ranillas I-D, 50018, Zaragoza, España.; jhcalvo@aragon.es

INTRODUCCIÓN

Las vitaminas A (principalmente retinol) y E (principalmente α -tocoferol) son dos vitaminas liposolubles que pueden modificar la calidad y aspectos tecnológicos de la carne. La vitamina A es un retinoide natural que interviene en el proceso de diferenciación de los adipocitos (Arana et al., 2003), que dependiendo de la raza modifica el contenido de grasa intramuscular (Kruk et al., 2018) y perfil de ácidos grasos (Daniel et al., 2004) en rumiantes. La adición de vitamina E en los concentrados es un método efectivo para reducir la oxidación de los productos cárnicos y aumentar su vida útil (Ripoll et al., 2013), siendo el α -tocoferol su forma más activa (Daley et al., 2010). La forma más natural y económica para incrementar el contenido de estas vitaminas en carne es el pastoreo, debido a la elevada presencia de dichos compuestos en el forraje verde. En este trabajo se ha abordado la detección de regiones genómicas para el carácter contenido de retinol y α -tocoferol en plasma en ovejas en pastoreo mediante un análisis de asociación de genoma completo (GWAS) utilizando datos de genotipado masivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en La Pardina de Ayés Oviaragón S.C.L., localizada en el pre-Pirineo aragonés (Ayés, Huesca; 42° 29' 48.55" N 0° 23' 37.54", 790 m. s. n. m.). Los animales incluidos en este estudio provenían de una población de 303 hembras entre 7,2 y 0,9 años de edad, con medidas de peso y condición corporal cada 3 semanas. Los animales considerados para este estudio no habían tenido ningún parto durante el año anterior. De noviembre a marzo, los animales fueron alimentados con paja y concentrado en establo. A partir de marzo pastaron a una pradera polifita. Tras un mes en pastoreo, cuando ya se había estabilizado el consumo de pasto en los animales, se tomó una muestra de sangre para medir el contenido de α -tocoferol y de retinol en plasma. La extracción de ambos analitos se realizó según la metodología descrita por Lyan et al. (2001). La cuantificación se realizó mediante cromatografía líquida de ultra-alta resolución (UPLC, Acquity H-Class, Water; Milford, Massachusetts, EE. UU.) equipado con una columna Acquity UPLC HSS T3 (150 mm \times 2,1 mm \times 1,8 μ m), un detector de absorbancia (DAD, $\lambda_{\text{abs}} = 325$ nm, para el retinol) y otro de fluorescencia (FLD, $\lambda_{\text{exc}} = 295$, $\lambda_{\text{emi}} = 330$ nm, para el α -tocoferol) siguiendo la metodología expuesta en Bertolín et al. (2018).

Se obtuvieron genotipos para 192 hembras de raza Rasa aragonesa mediante los chips ovinos de SNPs de media (Illumina OvineSNP50 BeadChip; $n=113$) y alta densidad 680 K (Illumina AgResearch Sheep HD de 680 K; $n=79$). Los datos brutos de genotipado se depuraron eliminando aquellos SNPs que tuviesen para una frecuencia del alelo menos frecuente (MAF) $<0,01$, y que no estuviesen en equilibrio de Hardy-Weinberg ($P < 0,001$) con el software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015). Posteriormente, se imputaron con el software BEAGLE 4.0. (Browning y Browning, 2007) los genotipos faltantes entre el chip de alta y de media densidad, aceptándose sólo aquellos con una probabilidad superior al 0,95. Finalmente, se llevó a cabo un nuevo control de calidad eliminando aquellos SNPs que tuviesen para un $MAF < 0,01$, una frecuencia de individuos genotipados inferior a 0,75, y que no estuviesen en equilibrio de Hardy-Weinberg ($P < 0,001$) con el software PLINK 1.9. Se llevó a cabo un estudio para conocer la posible estructuración de la población mediante escalado multidimensional (MDS), considerando una r^2 de 0,2 y ventanas de 50 SNPs. El GWAS se realizó con el software GCTA (Genome-wide Complex Trait Analysis) (Yang et al., 2011) utilizando un modelo lineal mixto (MLMA) y cromosómico con el MLMA-LOCO (leaving-one-chromosome-out), e incluyendo la edad como covariable discreta y la CC y peso como covariables cuantitativas. Los SNPs significativos fueron elegidos en base al p-valor obtenido y para un "false discovery rate" (FDR) del 10% a nivel cromosómico. Los genes se anotaron usando la

versión 3.1 del genoma ovino, y considerando un intervalo de 0,5 Mb, situando el SNP significativo en la posición media del intervalo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras el control de calidad se utilizaron 71.440 SNPs para los estudios de GWAS. El MDS mostró que la población presentaba cierta estructuración. Los resultados del GWAS con las aproximaciones MLMA y LOCO rindieron resultados muy similares. No se encontró ningún SNP con significación genómica para ninguno de los dos fenotipos. Un total de 28 y 6 SNPs resultaron significativos para el contenido de α -tocoferol y retinol en suero, respectivamente (Tabla 1). En el caso del contenido en α -tocoferol se han encontrado 20 SNPs significativos en el cromosoma OAR4, en tres regiones diferentes del mismo, y cercanos o en los genes *EVX1* (8 SNPs), *INHBA* (11 SNPs) y *GRM3* (1 SNP). Los dos primeros genes no presentan una relación clara con el contenido de α -tocoferol en plasma, aunque diversos experimentos de adición o supresión de vitamina E en la dieta provocan una modificación de la expresión de los genes (Funaba et al., 2006; Korosek et al., 2016; van den Broek et al., 2017). Sin embargo, el gen *GRM3* se ha encontrado bajo expresado en médula espinal de caballos que presentaban una distrofia neuroaxonal debido a una deficiencia en vitamina E (Finno et al., 2016). Otros estudios han encontrado que los genes *NR3C1* y *MPRIF* están sobre-expresados en tratamientos en los que se adiciona vitamina E como antioxidante (Oommen et al., 2007; Tsavachidou et al., 2009). En cuanto al contenido de retinol en plasma, 6 SNPs fueron significativos a nivel cromosómico (Tabla 1). El gen *FAM155A* codifica para una proteína transportadora transmembrana, mientras que los genes *SCAMP5* y *PPCDC* han sido identificados como genes candidatos relacionados con autismo sin ninguna relación clara con el contenido de retinol. Finalmente, destaca el SNP rs423748277 localizado en el cromosoma X y cuyo gen más cercano es el *PRRG1*. Este gen es un transportador transmembrana relacionado con la vitamina K, que también es una vitamina liposoluble.

Para validar los resultados obtenidos, en un futuro próximo, se realizará el genotipado de los SNPs significativos en una población de Rasa aragonesa, en los que se evaluará el efecto de los mismos en el contenido de α -tocoferol y retinol en plasma y en músculo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arana, A. et al. 2003. *ITEA* 24: 139-141.
- Browning, SR. y Browning, BL. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81: 1084-1097.
- Chang, C.C. 2015. *GigaScience* 4 (www.cog-genomics.org/plink/1.9/)
- Bertolín, J.R. et al. 2018. *Food Chem.* 257:182-188.
- Castermans, D., et al. 2010. *Hum. Mol. Genet.* 19 (7): 1368-1378.
- Daniel, Z.C.T.R. et al. 2004. *Anim Sci.* 78: 237-243.
- Finno, C.J. et al. 2016. *Free Radic. Biol. Med.* 101: 261-271.
- Kruk, Z.A. et al. 2018. *Meat Sci.* 137:139-146.
- Oommen, S. et al. 2007. *Free Radic. Res.* 41(1): 98-109.
- Ripoll, G. et al. 2013. *Meat Sci.* 93: 906-913.
- Tsavachidou, D. et al. 2006. *J. Natl. Cancer Inst.* 101(5): 306-320.
- Tsuchida, K. et al. 2017. *Poult. Sci.* 96 (3): 667-680.
- van den Broek, T.J. et al. 2017. *Genes Nutr.* 12: 5.
- Yang, J. et al. 2011. *Am. J. Hum. Genet.* 88(1): 76-82.

Agradecimientos: Financiado con fondos FEDER, proyecto INIA RTA2009-0091, Gobierno de Aragón (Grupo SAGAS Ref. A14_17R). Al Equipo Técnico Veterinario de UPRA-Grupo Pastores en la selección y toma de muestras. Yasemin Öner ha disfrutado de una ayuda del TUBITAK de Turquía (nº: BIDEB-2219-1059B19170062266). Contrato de M. Blanco financiado por INIA-FSE.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES FOR VITAMIN A AND E CONTENT IN PLASMA IN RASA ARAGONESA BREED

ABSTRACT: In this work, a GWAS analysis for α -tocopherol and retinol content in plasma was performed using the Illumina OvineSNP50 BeadChip (n=113) and Illumina AgResearch Sheep HD chip (n=79) genotypes from 192 ewes. After quality control and genotype imputation using Beagle, 71,440 SNPs were retained for GWAS. In this study, although all animals were from a single flock and breed, multidimensional scaling analysis revealed a substructure within the total dataset. Twenty-eight and six SNPs were significant at chromosome level with a FDR of 0.1 for α -tocopherol and retinol content, respectively. The annotation of these regions points to genes whose expression is regulated by vitamin E (*EVX1*, *INHBA*, *GRM3*, *NR3C1* and

MPRIF). Furthermore, SNP rs423748277 was associated to retinol content, being close to this SNP the gene *PRRG1*. This gene is a vitamin K-dependent single-pass transmembrane protein.

Keywords: sheep, α -tocopherol, retinol, GWAS

Tabla 1. SNPs significativos a nivel cromosómico, número de animales genotipados (n), frecuencia del alelo menor (MAF), valor medio del efecto permanente (b), límite de significación cromosómica para un FDR del 10% (FDR), y genes situados en un intervalo de 0,5 Mb situando el SNP en posición intermedia del intervalo.

Fenotipo	Chr	SNP	n	MAF	b	se	P-valor	FDR	Genes
α -tocoferol	4	rs412319237	192	0,17	0,22	0,05	2,00E-05	5,60E-04	<i>EVX1</i>
	4	rs415100109	172	0,15	0,24	0,06	2,19E-05	5,60E-04	<i>EVX1*</i>
	4	rs410744624	189	0,17	0,22	0,05	2,91E-05	5,60E-04	<i>EVX1</i>
	4	rs404965193	165	0,16	0,23	0,06	4,12E-05	5,60E-04	<i>EVX1</i>
	4	rs429000686	192	0,36	-0,18	0,04	5,88E-05	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs405151767	169	0,06	0,33	0,08	7,59E-05	5,60E-04	<i>EVX1</i>
	4	rs415295015	189	0,29	-0,16	0,04	1,53E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs407964031	190	0,29	-0,16	0,04	1,84E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs413306467	192	0,26	-0,18	0,05	1,89E-04	5,60E-04	<i>GRM3</i>
	4	rs402248871	192	0,29	-0,16	0,04	1,95E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs422885630	169	0,10	0,26	0,07	3,12E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs425392614	192	0,40	-0,14	0,04	3,15E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs403873931	189	0,46	0,14	0,04	3,21E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs412519396	179	0,11	0,24	0,07	3,30E-04	5,60E-04	<i>EVX1</i>
	4	rs400885475	192	0,12	0,21	0,06	4,43E-04	5,60E-04	<i>EVX1</i>
	4	rs418054519	192	0,34	0,15	0,04	4,55E-04	5,60E-04	<i>EVX1</i>
	4	rs404938510	182	0,30	-0,15	0,04	5,22E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs430686189	183	0,46	0,14	0,04	5,24E-04	5,60E-04	<i>INHBA*</i>
	4	rs404331730	192	0,46	0,14	0,04	5,32E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	4	rs417651431	192	0,46	0,14	0,04	5,32E-04	5,60E-04	<i>INHBA</i>
	5	rs160010435	192	0,26	-0,18	0,05	6,37E-05	1,80E-04	<i>SUGP2*</i>
	5	rs414805271	190	0,25	-0,18	0,05	9,49E-05	1,80E-04	<i>SUGP2*</i>
	5	rs422570995	185	0,01	0,65	0,17	1,64E-04	1,80E-04	<i>NR3C1*</i>
5	rs416938795	192	0,25	-0,17	0,05	1,74E-04	1,80E-04	<i>SUGP2*</i>	
11	rs409125273	192	0,26	0,17	0,04	1,06E-04	1,90E-04	<i>MPRIP</i>	
11	rs413075901	192	0,26	0,17	0,04	1,06E-04	1,90E-04	<i>MPRIP</i>	
11	rs416938795	189	0,26	0,17	0,04	1,73E-04	1,90E-04	<i>MPRIP</i>	
23	rs428016635	192	0,09	0,25	0,066	1,04E-04	1,10E-04	<i>RNF138</i>	
retinol	10	rs429728827	192	0,29	0,04	0,01	3,08E-05	3,10E-05	<i>FAM155A</i>
	18	rs414906347	166	0,27	0,04	0,01	7,41E-05	2,20E-04	<i>PPCDC*</i>
	18	rs419435493	184	0,29	0,03	0,01	1,56E-04	2,20E-04	<i>PPCDC*</i>
	18	rs405805808	192	0,32	0,03	0,01	1,36E-04	2,20E-04	<i>PPCDC*</i>
	18	rs406565761	168	0,34	0,03	0,01	2,17E-04	2,20E-04	<i>SCAMP5*</i>
	X	rs423748277	145	0,01	0,12	0,04	1,82E-03	1,90E-03	<i>PRRG1</i>

* indica que el SNP se localizó dentro del gen.

PARÁMETROS GENÉTICOS Y FENOTÍPICOS PARA CARACTERES DE COAGULACIÓN DE LA LECHE EN UNA POBLACIÓN COMERCIAL DE OVEJAS DE RAZA ASSAF

Sánchez-Mayor¹, M., Pong-Wong², R., Gutiérrez-Gil¹, B., de la Fuente¹, L.F., Garzón³, A. y Arranz¹, J.J.

¹Dpto. Producción Animal, Universidad de León, 24071, León, Spain. ²The Roslin Institute and R(D)SVS, University of Edinburgh, Roslin, Midlothian, EH25 9PS, United Kingdom.

³Dpto. Producción Animal, Universidad de Córdoba, 14071, Córdoba, Spain.

msancm@unileon.es

INTRODUCCIÓN

La raza Assaf es una raza especializada en la producción de leche. El programa de selección está gestionado por la Asociación Nacional de Criadores de Assaf y tiene como objetivo de selección la mejora, tanto de la producción de leche por lactación como de la calidad de la misma, usando como criterios de selección los kg de Leche, grasa y proteína tipificados a 150 días (ASSAFE, 2017). Dado que la mayor parte de la leche de oveja se utiliza para la producción de queso de alta calidad, el estudio de los factores que influyen en las propiedades tecnológicas de la leche de oveja durante la elaboración son aspectos de gran interés. Hoy en día existe un problema identificado por la industria quesera al detectar leches con un rendimiento quesero bajo, en relación a los grados de extracto quesero analizado. Esto sugiere problemas relacionados con las propiedades de coagulación de la leche (MCP, del inglés, *milk coagulation properties*), que se estudian a través de varios parámetros medidos en un formágrafo y no se incluyen en la rutina del control lechero oficial. En ganado vacuno varios estudios han demostrado que las MCP están influidas por diferentes factores como el pH, el contenido de caseínas, el recuento de células somáticas (SCC) y la acidez de la leche. En la oveja, el número de estudios en este tema es menor, centrándose la mayoría de ellos en la oveja Sarda (Pazzola et al., 2014; Puleda et al., 2016). En la raza Manchega se ha demostrado que el principal factor que influye la eficiencia de la coagulación es el pH inicial de la leche (Caballero-Villalobos et al., 2018). El objetivo de este trabajo fue estimar los parámetros genéticos y fenotípicos para caracteres relacionados con el proceso de coagulación en una población comercial de raza Assaf, raza en la que no se han descrito anteriormente estudios para estos caracteres.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población, muestreo y fenotipos: El estudio incluyó una población de 1153 ovejas Assaf pertenecientes a tres rebaños inscritos en ASSAFE y localizados en la región de Castilla y León. De cada oveja se recogió, antes del ordeño de la mañana, una única muestra de leche de 50 ml que se envió refrigerada al laboratorio de la Universidad de Córdoba para su procesamiento. Los caracteres de MCP estimados con un Formagraph® (Foss Electric) fueron: (i) el tiempo de coagulación después de la adición de la enzima (RCT, min); (ii) el tiempo en que la cuajada alcanza 20 milímetros (K20, min), que será tratado como el logaritmo en base a 10 de K20 debido a la no normalidad de la distribución de la variable; (iii) la firmeza de la cuajada a los 30 minutos (A30, mm) y, (iv) la firmeza de la cuajada a los 60 minutos (A60, mm). Además, para las ovejas incluidas en el estudio se dispuso de los datos del control lechero oficial más cercano al día de muestreo, a partir del cual se obtuvieron medidas para los caracteres de composición y producción de leche: porcentaje de proteína (PP, %), porcentaje de grasa (FP, %), porcentaje de lactosa (LP, %), producción de leche (MY, Kg), producción de grasa (FY, Kg), producción de proteína (PY, Kg) y producción de lactosa (LY, Kg) y dos caracteres funcionales: pH y logaritmo en base a dos de las células somáticas (SCS). El estudio también utilizó datos de otras variables aportadas por la asociación de ganaderos: pedigrí de los animales, fecha-control-rebaño (FTD, 12 niveles), edad (Edad, 7 niveles), número de corderos nacidos (NBL, 2 niveles) y días de lactación (DIM).

Análisis estadístico: Se realizó un análisis REML para calcular las heredabilidades y las correlaciones fenotípicas y genéticas entre los caracteres considerados. Se utilizaron un total de 78 modelos bivariados para calcular las correlaciones entre los caracteres. Debido a que cada carácter se incluyó en 12 modelos bivariados, el valor final de las estimaciones para las varianzas genéticas y ambientales se calculó como el promedio ponderado. Todos los análisis se realizaron utilizando el software ASREML versión 4.1 (Gilmour et al., 2014). El modelo bivariado aplicado fue el siguiente (Mrode (2014)):

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_1 & 0 \\ 0 & X_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} Z_1 & 0 \\ 0 & Z_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \end{bmatrix},$$

donde y_i es el vector de observaciones del carácter i -th; b_i es el vector de efectos fijos para el carácter i -th, considerándose como efectos fijos DIM, como covariable, y FTD, Edad y NBL como factores; a_i es el vector que contiene los efectos aditivos aleatorios del carácter i -th, e_i es el vector de los efectos residuales para el carácter i -th; y X_i y Z_i son las matrices de incidencia que relacionan las observaciones y_i con b_i y a_i , respectivamente, para el carácter i -th.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las heredabilidades y correlaciones genéticas y fenotípicas estimadas para los cuatro caracteres de coagulación estudiados se muestran en la Tabla 1. Como se observa, las heredabilidades de los caracteres de coagulación son moderadas, variando entre 0.17 (A60) y 0.28 (logK20). En general, la magnitud de las estimaciones fue mayor para la correlación genética que para la correlación fenotípica. Como se esperaba, se obtuvo una correlación genética y fenotípica muy alta y positiva entre los caracteres RCT y logK20 (0,87 y 0,72, respectivamente), mientras que A30 y A60 mostraron correlaciones genéticas y fenotípicas de magnitud media-alta (0,75 y 0,42, respectivamente). Los caracteres RCT y logK20 mostraron correlaciones altas pero negativas con los caracteres A30 y A60, tanto a nivel genético como fenotípico. En general, las heredabilidades para los cuatro caracteres de coagulación, RCT, logK20, A30 y A60, fueron más altas que las descritas en otros estudios realizados en la raza Sarda (Bittante et al., 2016; Puledra et al., 2016), lo que podría deberse a la limitada varianza ambiental del conjunto de datos analizado en el presente estudio. La mayoría de las correlaciones fenotípicas fueron más bajas que las correlaciones genéticas y algunas de ellas mostraron dirección opuesta. Esto puede deberse a diferentes causas biológicas relacionadas con el tipo de caracteres o a estimaciones imprecisas de las correlaciones genéticas debido al error de muestreo y el efecto del pequeño tamaño muestral (Cheverud, 1988). Referente a las correlaciones entre MCP y caracteres de producción y calidad de la leche, los caracteres de coagulación no se correlacionaron a nivel fenotípico con los caracteres de composición y producción de leche, mientras que, con caracteres funcionales (pH, SCS), las correlaciones fueron moderadas-altas. Los caracteres pH y SCS se correlacionaron positivamente con RCT (0,68 y 0,22) y logK20 (0,61 y 0,18), mientras que con A30 (-0,56, -0,09) y A60 (-0,54, -0,08) mostraron una correlación negativa. Para las correlaciones genéticas, los caracteres de mayor magnitud con respecto a los caracteres de coagulación fueron porcentaje de grasa y pH. Las altas correlaciones fenotípicas y genotípicas observadas entre pH y los caracteres de coagulación mostraron que una disminución en el pH aumenta el tiempo de coagulación y reduce la firmeza de la cuajada, corroborando lo expuesto por otros autores sobre que el pH es un factor muy importante para las MCP (Bencini, 2002; Bittante et al., 2016). Las correlaciones genéticas para porcentaje de grasa y de proteína de la leche fueron positivas con RCT y A60, lo que indica que las muestras con alto porcentaje de proteína y grasa pueden tardar más en coagular, pero muestran, a la vez, un aumento final en la firmeza de cuajada. Estos resultados concuerdan con los ya descritos en la raza Sarda (Bittante et al., 2016; Puledra et al., 2016). En general, las heredabilidades estimadas para los caracteres relacionados con la MCP sugieren la posibilidad de mejora genética a través de selección, mientras que el conocimiento de las correlaciones genéticas con los caracteres medidos de forma rutinaria en el control lechero podría servir para realizar una mejora indirecta de las MCP. Los datos fenotípicos indicaron que muchas muestras de la población analizada presentan una coagulación lenta pero eficiente, de forma que muchos animales no presentaron un dato para el carácter A30 pero sí para A60, lo que sugiere que, en la raza Assaf, el parámetro A60 es más adecuado para este tipo de estudios que el A30. Sin embargo, pensamos que estos datos iniciales deberían ser confirmados en futuros estudios sobre los caracteres de coagulación en el ganado ovino.

Tabla 1. Parámetros genéticos para los caracteres relacionados con las propiedades de coagulación de la leche. Se muestra las estimaciones de heredabilidad para cada carácter (en la diagonal), así como de las correlaciones genéticas (encima de la diagonal principal) y fenotípicas (debajo de la diagonal principal) entre caracteres.

Caracteres	RCT	logK20	A30	A60
RCT (min)	0,22 (0,08)	0,87 (0,12)	-0,94 (0,05)	-0,75 (0,20)
logK20 (min)	0,72 (0,01)	0,28 (0,09)	-0,90 (0,14)	-0,94 (0,11)
A30 (mm)	-0,79 (0,01)	-0,58 (0,02)	0,27 (0,02)	0,75 (0,21)
A60 (mm)	-0,59 (0,02)	-0,74 (0,01)	0,42 (0,03)	0,17 (0,07)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASOCIACIÓN NACIONAL DE CRIADORES DE GANADO OVINO DE LA RAZA ASSAF (ASSAFE) 2016
- Gilmour, A.R., Gogel, B.J., Cullis, B.R., Welham, S.J. & Thompson, R. 2014. VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK.
- Mrode, R.A. 2014. Third edition. Boston, MA: CABI
- Bittante, G., Cipolat-Gotet, C., Pazzola, M., Dettori, M.L., Vacca, G.M. & Cecchinato, A. 2016. Journal of Dairy Science 100: 385–394.
- Puledda, A., Gaspa, G., Manca, M.G., Serdino, J., Urgeghe, P.P., Dimauro, C., Negrini, R. & Macciotta, N.P.P. 2016. Animal 1–9
- Cheverud, J.M. 1988. Evolution 42: 958.
- Bencini, R. 2002. Journal of the Science of Food and Agriculture 82: 705–719.
- Pazzola, M., Cipolat-Gotet, C., Bittante, G., Cecchinato, A., Dettori, M.L. & Vacca, G.M. 2018. Journal of Dairy Science 101: 3164–3175
- Bianchi, L., Bolla, A., Budelli, E., Caroli, A., Casoli, C., Pauselli, M. & Duranti, E. 2004. Journal of Dairy Science 87: 2401–8.
- Manca, M.G., Serdino, J., Gaspa, G., Urgeghe, P., Ibba, I., Contu, M., Fresi, P. & Macciotta, N.P.P. 2016. Journal of Dairy Science 99: 4547–4557.

Agradecimientos: Este trabajo se ha realizado dentro del proyecto AGL2015-66035-R del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional. Sánchez-Mayor, M. está financiada por un contrato FPI del MINECO (Ref. BES-2013-063614). Gutiérrez-Gil, B. ha sido beneficiaria de un contrato “Ramón y Cajal” (RYC-2012-10230) del MINECO.

GENETIC AND PHENOTYPIC PARAMETERS FOR MILK COAGULATION TRAITS IN A COMMERCIAL POPULATION OF ASSAF DAIRY SHEEP

ABSTRACT: Because most of the sheep milk is used for the production of high quality cheese the study and control of the factors influencing the technological properties of the sheep milk, including the milk coagulation properties (MCP) is a major challenge for the dairy sheep industry. The aim of this work was the estimation of genetic parameters of traits related to the MCP in a commercial population of the Assaf sheep breed. For that, one sample of milk was obtained from a total of 1,153 ewes and four traits related to the milk coagulation properties: rennet coagulation time, curd- firming time and the curd-firmness at 30 and 60 minutes. Milk composition, production and functional traits (pH and SCS) were also studied. A REML analysis was used to estimate the genetic parameters and variance components, whereas bivariate models were used to calculate the phenotypic/genetic correlations among the 13 traits considered. Unexpected, genetic correlations between A30 and milk composition, production and functional traits were negative and moderate-high, except for PP and SCS. The heritabilities estimated for the four cheese-making traits were moderate, showing in general, higher values than those reported in other sheep studies and suggesting that improvement for these traits is possible through selection. In general, with regard to the correlations, the overall magnitude of the estimates was higher for the genetic correlation than for the phenotypic correlation. Further studies based on a larger number of sample animals are required to confirm the preliminary results reported here.

Keywords: sheep, milk coagulation properties, genetic parameters, REML analysis.

CUANTIFICACIÓN DE LA ENZIMA ESTEAROYL-CoA DESATURASA HEPÁTICA EN CERDOS DUROC.

Tor¹, M., Vilaro², F., Gol¹, S., Bosch³, L., Reixach⁴, J., Pena¹, RN. y Estany¹, J.

¹Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, Lleida. ² Serveis Científico-tècnics. Universitat de Lleida. Avenida Rovira Roure 198. 25198. Lleida

³Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, Girona. ⁴Selección Batallé, Riudarenes, Girona.; mtor@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El gen de la enzima estearoil-CoA desaturasa (*SCD*) presenta un polimorfismo en la región del promotor (g.2228T>C) que afecta al grado de insaturación de la grasa intramuscular. Así, el genotipo TT ha sido asociado a una ratio de ácidos grasos monoinsaturados/saturados (MUFA/SFA) superior a la del genotipo CC (Estany et al., 2014). Además se ha descrito que dicha actividad puede verse modificada por el nivel de inclusión de vitamina A en la dieta. Se ha observado que en los cerdos CC aumenta la ratio MUFA/SFA en la grasa intramuscular a niveles altos de vitamina A en la dieta, mientras que en los TT sucede lo contrario (Estany et al., 2017). A pesar de que la síntesis *de novo* de ácidos grasos en el cerdo sucede fundamentalmente en el tejido adiposo (O'hea y Gilbert, 1969), el hígado puede ser un tejido apropiado para estudiar el efecto de la interacción genotipo y dieta sobre el metabolismo lipídico, puesto que juega un papel importante en el transporte y en la oxidación de los lípidos, así como en la síntesis de fosfolípidos y porque su actividad es modificada por la composición de la dieta (Kellner et al., 2017).

Para establecer y validar modelos que expliquen estos procesos metabólicos, es esencial disponer de datos cuantitativos sobre los péptidos y proteínas efectoras de cada actividad. Como aproximación, se han utilizado datos de expresión de los genes codificantes de cada enzima. Sin embargo, los niveles de ARNm, de proteína y de actividad enzimática no siempre están correlacionados (Vogel y Marcotte, 2012).

Recientemente se han desarrollado las técnicas de monitorización de reacciones múltiples (MRM) basadas en espectrómetros de masas triple cuadrupolo que se han aplicado con éxito en experimentos de proteómica dirigida. Estas técnicas tienen la ventaja de ser mucho más versátiles y selectivas que las que se basan en la inmunofluorescencia. Además permiten cuantificaciones simultáneas aportando información esencial en investigación biológica y médica (Vidova y Spacil, 2017).

En este trabajo se aborda el desarrollo de un método para la cuantificación de la enzima *SCD* en hígado, aplicando técnicas de proteómica dirigida con el objetivo de estudiar el efecto de la restricción de vitamina A en la dieta y del genotipo *SCD* sobre el grado de insaturación de la grasa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 cerdos castrados de la raza Duroc distribuidos según un diseño factorial 2 x 2 (cerdos de genotipo TT y CC del gen *SCD* [g.2228T>C] alimentados con la misma dieta, pero suplementada (S) o no (NS) con 4.900-7.800 UI/kg de acetato de retinol, según fase del engorde). Los animales se sacrificaron a los 130 kg de peso vivo y durante la evisceración se tomó una muestra de hígado que se envaso y congeló *in situ*. El análisis cuantitativo de los ácidos grasos del hígado se realizó por cromatografía de gases en columna capilar previa transesterificación de los triglicéridos con trifluoruro de boro en metanol, directamente sobre la matriz liofilizada. La cuantificación del enzima *SCD* se realizó a través de 4 de sus péptidos tripsínicos determinados *in silico* mediante el software Skyline (McLean et al., 2010) y sintetizados *ad hoc* por GeneCust, Dudelange, Luxemburgo: Péptido1 (VLQNGGGK); Péptido3 (TPQYVEEDIRPEMK); Péptido5 (FSETDADPHNSR); Péptido6 (GFFFSHVGV LLVR). A partir del tejido hepático liofilizado se aisló la fracción de microsomas (Shenkman y Cinti, 1978), se cuantificó su concentración proteica (Protein quantification kit, Fluka, Switzerland), se procedió a su reducción y alquilación (ProteoPrep® Reduction and Alkylation Kit, Sigma-Aldrich, St Louis, USA) y a su digestión tripsínica (Trypsin Singles Proteomics Grade, Sigma-Aldrich, St Louis, USA). Seguidamente se filtró con un ultra-filtro de centrifuga de 5 kDa (Vivaspin® 500, Sartorius, Goettingen, Germany). Previamente al análisis MRM el filtrado se liofilizó y redisolvió en 50 µL de agua MilliQ. A partir de los péptidos sintetizados se desarrolló un método MRM para su cuantificación las muestras. Se implementó sobre un

equipo UPLC /TQS (Waters, Milford, USA) equipado con una columna BEH Amide (2,1 x 150 mm; 1,7 μ m) y usando como detector un espectrómetro de masas triple cuadrupolo TQ-S (Micromass MS Technologies, Manchester, UK) operando en modo positivo. Las transiciones de cuantificación optimizadas para Péptido1, Péptido3, Péptido5 y Péptido6 fueron 386,80>213,29; 579,21>278,15; 459,45>571,32 y 522,40>176,70 respectivamente. La cuantificación de las concentraciones se realizó mediante el software QuanLynx. Para el análisis estadístico se utilizó el software JMP Pro12 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU) con un modelo lineal con los factores dieta (S y NS), genotipo (CC y TT) y su interacción. La significación se declaró a $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de la digestión *in silico* del enzima SCD se identificaron diversos péptidos tripsínicos, siendo posible desarrollar, con 4 de ellos, un método MRM y aplicarlo a muestras de hígado. En la Tabla 1 se presentan los valores medios de su concentración y los coeficientes de correlación en los 20 animales estudiados. Las concentraciones de cada uno de ellos son dispares aun cuando se expresan como concentraciones molares. Por el contrario, todos ellos presentan entre si coeficientes de correlación altos y significativos. Este resultado indicaría que podría utilizarse cualquiera de ellos como péptido proteotípico de la enzima SCD, pero que es necesaria la validación del método, especialmente en los aspectos relacionados con la exactitud. Las diferencias de concentración entre los distintos péptidos podrían indicar un rendimiento distinto en el proceso de digestión o interferencias de la matriz durante el proceso analítico. Para profundizar en ese sentido, podría ser de utilidad la utilización de péptidos marcados con isótopos estables como patrón interno (Kuzyk et al., 2009) que permitieran trazar todo el proceso y mejorar así la cuantificación. Sin embargo, el patrón observado en las ratios entre concentraciones molares (Péptido1/Péptido5 \approx 1; Péptido3/Péptido1 \approx 2,3; Péptido6/Péptido3 \approx 2,3) también podría sugerir la existencia de isoformas de la enzima, al igual que sucede en la especie humana o en ratón (Ntambi et al., 2004).

Tabla 1. Niveles hepáticos y correlaciones de los péptidos tripsínicos derivados de la enzima estearoil-CoA desaturasa.

	ng/g	nMol/g	Péptido1	Péptido3	Péptido5	Péptido6
Péptido1	91,7 \pm 15,6	0,101	-	0,990	0,896	0,952
Péptido3	470,3 \pm 57,6	0,238	-	-	0,862	0,942
Péptido5	145,4 \pm 7,7	0,092	-	-	-	0,810
Péptido6	942,1 \pm 136,4	0,550	-	-	-	-

Todas las correlaciones fueron significativas ($p < 0,0001$).

A pesar de haberse descrito una interacción entre el nivel de vitamina A de la dieta y el genotipo de la SCD sobre el grado de insaturación de la grasa intramuscular (Estany et al, 2017), dicha interacción no se ha observado en el hígado (Tabla 2). Tampoco se ha observado ningún efecto de los genotipos SCD estudiados sobre el contenido del hígado en los ácidos grasos palmítico, palmitoleico, esteárico y oleico ni sobre sus ratios respectivas. Tampoco se observa ningún efecto del genotipo sobre la concentración de ninguno de los péptidos proteotípicos de la enzima SCD en el tejido hepático. Por el contrario, si se observa un claro efecto de la dieta sobre el contenido de materia grasa del hígado. La restricción de vitamina A provoca un aumento de 0,72% de grasa sobre el tejido fresco, que se ve reflejado en un aumento significativo del contenido absoluto de los ácidos palmítico y oleico (en el caso del esteárico se observa una tendencia; $p < 0,1$). Por el contrario, las ratios C16:1/C16:0 y C18:1/C18:0, relacionadas con la actividad SCD, permanecen invariables. Simultáneamente, se observa un incremento en los niveles de todos los péptidos proteotípicos de la enzima SCD, en los animales con restricción de vitamina A en la dieta. Estas diferencias desaparecen si se incluye el contenido de grasa como covariable en el modelo.

A pesar de que en porcino el hígado no sea el órgano preponderante en la síntesis *de novo* de los ácidos grasos, los resultados obtenidos indican que su actividad $\Delta 9$ -desaturasa aumenta con la deposición de la grasa, de manera que la proporción MUFA/SFA se mantiene constante independientemente del contenido de grasa. Así pues, la restricción de vitamina A

en la dieta incrementa el contenido de grasa en el hígado pero en cambio no modifica su composición.

Tabla 2. Efecto del nivel de vitamina A y del genotipo de la SCD sobre los lípidos hepáticos y los péptidos proteotípicos de la enzima SCD.

	Vit A normal	Vit A restringida	SCD TT	SCD CC	SE
% MG	1,95 ^b	2,67 ^a	2,20	2,42	0,168
C16:0 ¹	3,46 ^b	4,43 ^a	3,59	4,30	0,305
C16:1 ¹	0,17	0,25	0,20	0,22	0,026
C18:0 ¹	4,95	6,05	5,15	5,85	0,425
C18:1 ¹	3,31 ^b	4,39 ^a	3,59	4,12	0,363
C16:1/C16:0	0,049	0,055	0,054	0,050	0,003
C18:1/C18:0	0,68	0,73	0,70	0,71	0,054
Peptido1 ²	46,6 ^b	136,7 ^a	74,2	109,1	16,9
Peptido3 ²	310,7 ^b	629,9 ^a	416,3	524,4	65,9
Peptido5 ²	122,9 ^b	167,9 ^a	142,6	148,2	8,7
Peptido6 ²	551,1 ^b	1333,3 ^a	776,3	1108,0	145,8

La interacción nivel de VitA* GenotipoSCD no fue significativa para ninguna de las variables. ¹ mg/ g de tejido fresco. ² ng/g tejido fresco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Estany, J., Ros-Freixedes, R., Tor, M. & Pena, R. N. 2014. PLoS One 9: 1–11.
- Estany, J., Gol, S., Tor, M., Bosch, L., Reixach, J. & Pena, R.N. 2017. 36th International Society for Animal Genetics Conference. Dublin. Ireland.
- Kellner, T.A., Gabler, N.K. & Patience, J.F. 2017. J. Anim. Sci. 95: 3609-3619.
- Kuzyk, M.A., Smith, D., Yang, J., Cross, T.J., Jackson, A.M., Hardie, D.B., Anderson, N.L. & Borchers, H. 2009. Mol. Cell. Proteomics 8: 1860-1877.
- MacLean, B., Tomazela, D.M., Shulman, N., Chambers, M., Finney, G.L., Frewen, B., Kern, R., Tabb, D.L., Liebler, D.C. & MacCoss, M.J. 2010. Bioinformatics. 26: 966–968.
- Ntambi, J.M., Miyazaki, M. & Dobrzyn A. 2004. Lipids 39: 1061-1065.
- O’Hea, E.K. Leveille, G.A. 1969. The Journal of Nutrition 99: 338-344.
- Schenkman, J.B. & Cinti, D.L. 1978. Methods Enzymol. 52: 3-89.
- Vidova, V. & Spacil, Z. 2017. Anal. Chim. Acta 964: 7-23.
- Vogel, C. & Marcotte, E.M. 2012. Nat. Rev. Genet. 13: 227-232.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos MINECO (AGL2015-65846-R), CDTI (No. 20150115) y fondos FEDER.

QUANTIFICATION OF HEPATIC STEAROYL-CoA DESATURASE IN DUROC PIGS.

ABSTRACT: the stearoyl-CoA desaturase enzyme presents a promoter polymorphism which interacts with the vitamin A diet content and modifies the monounsaturated fatty acids ratio of intramuscular fat. In this work, the same effects are studied on liver lipids. For this purpose, a targeted proteomics method has been developed to quantify the SCD enzyme. No interaction was observed between the vitamin A content of the diet and the SCD genotype on the content or composition of the liver lipids. Nevertheless, the restriction of dietary vitamin A caused an increase in the liver lipid content along with an increase in SCD activity, which prevents the modification of fat liver unsaturation ratio. Moreover, the ratio pattern between molar concentrations of the studied proteotypic peptides could suggest the existence of different isoforms of the SCD enzyme in pigs.

Keywords: pig, liver, targeted proteomics, stearoyl-CoA desaturase.

APLICACIÓN DE CORRELACIONES PARCIALES Y TEORÍA DE LA INFORMACIÓN A REDES DE ESTIMAS DE CONSANGUINIDAD EN CONEJOS

Rodríguez-Ramilo¹, S. T., Reverter², A., Sánchez³, J. P., Velasco-Galilea³, M., González³, O. y Piles³, M.

¹INRA, Castanet-Tolosan, 31326, Francia. ²CSIRO Agriculture & Food, Brisbane, QLD 4067, Australia. ³IRTA, Caldes de Montbui, 68140, España.

miriam.piles@irta.es

INTRODUCCIÓN

Obtener estimas precisas de consanguinidad es importante para el manejo de poblaciones en programas de selección. Entre las consecuencias más importantes de la consanguinidad se encuentran la pérdida de variabilidad genética y la reducción de la media de caracteres con interés económico (Falconer y Mackay, 1996). Tradicionalmente, el coeficiente de consanguinidad se ha estimado a partir del pedigrí. Sin embargo, los chips de SNPs permiten obtener estimas genómicas de consanguinidad.

Es habitual encontrar en la literatura la correlación que existe entre distintas estimas de consanguinidad genómicas y las obtenidas a partir de la información de pedigrí (e. g. Rodríguez-Ramilo et al., 2019). Sin embargo, algunas de estas correlaciones podrían ser espurias si, por ejemplo, dadas tres estimas de consanguinidad (A, B y C) sucede que obtenemos una correlación moderada entre dos estimas independientes (A y B) debida a la confusión con la otra (C), cuando la correlaciones entre A y C y entre B y C son ambas elevadas. La cuestión es si la correlación moderada que existe entre A y B es significativamente independiente de las altas correlaciones que existen entre A y C y entre B y C. Para tratar de responder a esta cuestión hay algoritmos que emplean los coeficientes de correlación parcial de primer orden y la teoría de la información (PCIT) para identificar asociaciones significativas entre dos variables e independientes de una tercera variable (Reverter y Chan, 2008). En este trabajo se propone el uso del algoritmo PCIT para detectar asociaciones significativas entre distintas estimas de consanguinidad y fenotipos en una población seleccionada de conejos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Datos

Los animales proceden de la población seleccionada del IRTA fundada en 1983 cruzando conejos de 5 líneas New Zealand White y una línea sintética de California x New Zealand. Esta población ha sido seleccionada para peso de camada y tasa individual de crecimiento durante unos años y, posteriormente para tasa individual de crecimiento. Después de unos años sin ser seleccionada, está siendo seleccionada actualmente para eficiencia alimentaria durante el engorde empleando distintas estrategias de selección. La selección se ha realizado mediante generaciones solapadas y evitando apareamientos entre individuos con abuelos en común (Piles et al., 2017).

Se genotiparon $N = 490$ animales con el chip de 200K de Affymetrix. El control de calidad se realizó con el programa PLINK v1.90 (Purcell et al., 2007). Después del filtrado los análisis se realizaron con 114.604 SNPs autosómicos.

Como información fenotípica se empleó la ganancia de peso diaria promedio (ADG) en dos regímenes alimenticios: a voluntad (ADGRegV, $N = 228$) y con restricción (ADGRegR, $N = 207$). Esta fue medida sólo en los gazapos (435 de los 490 individuos).

Estimas de consanguinidad basadas en información genealógica

Las estimas de consanguinidad basadas en pedigrí (F_{ped}) se obtuvieron mediante el programa inbupgf90 (Aguilar y Misztal, 2008). Se dividió la genealogía en tres períodos de 20 años y, siguiendo a Ragab et al. (2015), se estimó la consanguinidad basada en pedigrí antigua (F_{pedA}), intermedia (F_{pedI}) y reciente (F_{pedR}).

Estimas de consanguinidad basadas en información genómica

Las estimas genómicas de consanguinidad basadas en segmentos de homocigotos (*Froh*) se obtuvieron con el programa PLINK v1.90 (Purcell et al., 2007). Los criterios para definir un segmento de homocigotos fueron: (1) tener un mínimo de 100 SNPs, (2) tener una densidad mínima de 1 SNP cada 50 Kb, (3) que la distancia máxima entre 2 SNPs homocigotos en un segmento fuese 1 Mb, (4) que hubiese un máximo de 5 genotipos faltantes, y (5) un máximo de un genotipo heterocigoto en un segmento en particular. La longitud mínima que constituyó un segmento de homocigotos se estableció en $> 1,25$ y $< 2,5$, $> 2,5$ y < 10 , y > 10 Mb para reflejar consanguinidad antigua (*FrohA*), intermedia (*Frohl*) y reciente (*FrohR*), respectivamente (Curik et al., 2014).

Se obtuvieron estimas genómicas de consanguinidad a partir de la proposición de VanRaden (2008) (*Fvan*). También se calcularon la proporción de genotipos homocigotos (*Fsnp*) y la proporción de SNPs homocigotos para el alelo con menor frecuencia (*PHoMA*).

Finalmente, se calculó la eficiencia de compresión (*CE*) como $CE=(Sa-Sd)/Sa$, donde *Sa* y *Sd* representan el tamaño del fichero de genotipos en bytes antes y después de la compresión, respectivamente (Hudson et al., 2014).

Identificación de asociaciones significativas y reconstrucción de redes

Se emplearon los coeficientes de correlación parcial de primer orden combinados con una aproximación de la teoría de la información (Reverter y Chan, 2008) para identificar asociaciones significativas entre los distintos coeficientes de consanguinidad y fenotipos. Estas correlaciones se calcularon con el programa PCIT (Watson-Haigh et al., 2010). Una vez identificadas las asociaciones significativas, el análisis de redes complejas y su visualización se realizó mediante el programa Cytoscape 2.8.3 (Shannon et al., 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1.a muestra las asociaciones significativas entre las distintas estimas de consanguinidad. *FrohR* es el nodo más importante ya que tiene 6 enlaces, de los cuales uno de ellos es negativo con *FrohA*. *CE* es un nodo balanceado porque tiene 2 conexiones positivas y 2 negativas. *Fvan* es la que está menos relacionada porque solamente está conectada con *PHoMA* indicando que *Fvan* tiene que ver con individuos que comparten alelos poco frecuentes. Finalmente, *Frohl* no aporta ninguna información útil que no den las otras variables ya que no presenta conexión con ninguna otra variable.

En la Figura 1.b se pueden observar las correlaciones significativas entre las distintas consanguinidades evaluadas y *ADGRegV*. Se sigue manteniendo que la consanguinidad más importante es *FrohR* porque sigue teniendo 6 conexiones, y sigue manteniendo la asociación negativa con *FrohA* indicando quizás el posible detrimento y beneficio que pudieran ejercer *FrohR* y *FrohA*, respectivamente, sobre los caracteres productivos. *Frohl* se correlaciona positivamente con *Fpedl*, y ésta negativamente con *ADGRegV*. Sin embargo, tanto *Frohl* como *ADGRegV* tienen solamente una conexión, al igual que *Fvan*.

La Figura 1.c muestra las asociaciones significativas entre las distintas estimas de consanguinidad y *ADGRegR*. *Fvan* sigue mostrando solamente una conexión. *FrohR* sigue manteniendo el número máximo de conexiones, y la correlación negativa con *FrohA*. Es importante resaltar que *FrohA* tiene una correlación negativa con *ADGRegR*. Además, *Fpedl* tiene correlación positiva con *ADGRegR* y negativa con *ADGRegV* (Figura 1.b) pero ambas son muy bajas.

En resumen, los resultados indican que el algoritmo PCIT permite inferir conexiones significativas entre estimas de consanguinidad y fenotipos y enfatiza la importancia de *FrohR* frente a otras estimas.

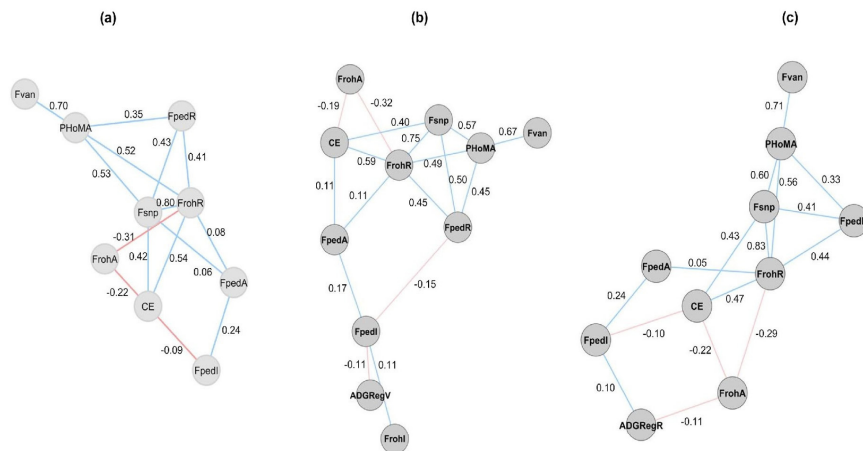


Figura 1. Correlaciones parciales entre las distintas estimas de consanguinidad (FpedA, FpedI, FpedR, FrohA, FrohI, FrohR, Fvan, Fspn, PhOMA y CE) (a), incluyendo la ganancia de peso diaria promedio en los conejos alimentados a voluntad (ADGRegV) (b), y con restricción (ADGRegR) (c). Los enlaces en azul muestran las correlaciones positivas y en rojo las negativas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, I. & Misztal, I. 2008. *J. Dairy Sci.* 91: 1669-1672.
- Curik, I. et al. 2014. *Livest. Sci.* 166: 26-34.
- Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. 1996. Harlow: Longman Scientific & Technical.
- Hudson, N.J. et al. 2014. *BMC Bioinformatics* 15: 66.
- Piles, M. et al. 2017. *Genet. Sel. Evol.* 49: 58.
- Purcell, S. et al. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81(3):559-575.
- Ragab, M. et al. 2015. *J. Anim. Breed. Genet.* 132: 68-73.
- Reverter, A. & Chan, E.K.F. 2008. *Bioinformatics* 24: 2491-2497.
- Rodríguez-Ramilo, S.T. et al. 2019. *J. Dairy Sci.* En prensa.
- Shannon, P. et al. 2003. *Genome Res.* 13(11): 2498-2504.
- VanRaden, P.M. 2008. *J. Dairy Sci.* 91:4414-4423.
- Watson-Haigh, N.S. et al. 2010. *Bioinformatics* 26: 411-413.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos Feed-a-Gene (EU 633531), ARDI-POCTEFA (EFA 208/16), SMARTER (EU 772787), INRA (GDivSelGen MP-P10396) y el INIA (RTA2011-00064-00-00).

APLICACION OF PARTIAL CORRELATIONS AND INFORMATION THEORY TO ESTMATES OF INBREEDING NETWORKS IN RABBITS

ABSTRACT: This study aims to implement partial correlations and information theory to assess the relation between different estimators of inbreeding and phenotypes using a selected population of rabbits. Pedigree data and genomic information from a 200K chip were available. After filtering, the data set constituted 490 animals genotyped for 114,604 autosomal SNPs. The evaluated methodology allows inferring meaningful associations between estimates of inbreeding appropriately.

Keywords: inbreeding, average genetic gain, rabbit, partial correlation, network.

EFFECTO DE LA PRESENCIA DEL SEXO OPUESTO EN EL BIENESTAR ANIMAL Y EN VARIABLES ESPERMÁTICAS DE AVES DE PUESTA

Dávila¹, S. G., Torres¹, O., García -Gil¹, M., Campo¹, J. L., Castaño², C., Toledano-Díaz², A. y Santiago-Moreno², J.

¹Dpto. Mejora Genética Animal, INIA. Ctra. Coruña, Km. 7,5. 28040 Madrid. ²Dpto. Reproducción Animal, INIA. Ctra. Coruña, Km. 5,9. 28040 Madrid.
sgdavila@inia.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los factores de gran importancia en el alojamiento de gallinas es la presencia del sexo opuesto. En la naturaleza la unidad social básica del antecesor de la gallina doméstica (*Gallus gallus*) consiste típicamente en un macho rodeado de varias hembras (3 a 5 hembras) (Collias y Collias, 1967). En programas de conservación *in vivo* la presencia del sexo opuesto es requerida, sin embargo no es necesaria para la etapa de cría y recría, producción de huevo, obtención de semen o mantenimiento de lotes de machos como futuros reproductores. Existen estudios que han observado que la presencia de sexo opuesto tiene un efecto en diferentes tipos de comportamiento y variables reproductivas. La presencia de machos acelera el inicio de la madurez sexual de la gallina, disminuye el canibalismo, la agresividad y el comportamiento antagonista, con influencia también en los niveles de miedo y comportamiento vigilante de las hembras (Ylander y Craig, 1980; Bshary y Lamprecht, 1994; Odén et al., 2000; Pizzari, 2003; Odén et al., 2005). Por otra parte, se ha observado que los gallos alojados en edades tempranas con el sexo opuesto muestran más éxito de apareamiento durante la edad adulta (Leonard et al., 1993). Aunque en aves no existen estudios de los efectos de la presencia de hembras en la calidad de esperma, si se ha observado en mamíferos (cabras) que la presencia de hembras produce diferencias en la cantidad y motilidad del eyaculado (Lacuesta et al., 2014), sin embargo en ciervos no se han observado estos efectos positivos (Villagrán y Ungerfeld, 2013). Estudios en peces han indicado que la presencia de hembras induce la producción de mayor número de espermatozoides (Liley et al., 2002) y más rápidos (Gasparini et al., 2009). El objetivo del estudio es analizar el efecto de la presencia de sexo opuesto en caracteres relacionados con el bienestar animal en las hembras y en variables espermáticas de los machos en razas autóctonas de gallinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 5 razas de gallinas españolas y una población sintética (Campo y Orozco, 1986; Campo, 1998) del Programa de Conservación que se desarrollada en la granja experimental El Encín, perteneciente al Departamento de Mejora Genética Animal del INIA.

Experimento 1. El objetivo fue evaluar los efectos de la presencia de machos en caracteres de bienestar relacionados con miedo y estrés en hembras en la etapa de madurez sexual. Se utilizaron un total de 240 gallinas de cuatro razas autóctonas y una población sintética. A las 8 semanas de edad las aves fueron alojadas en grupos (n ~ 700) con una densidad de 6 aves/m². Se utilizaron 2 grupos y 4 réplicas, el grupo tratamiento estaba formado por gallinas alojadas con presencia de machos en una proporción machos:hembras 1:10 y el grupo control formado por hembras sin presencia de machos. A la edad de 22 semanas se evaluaron un total de 120 gallinas de cada grupo (6 aves de cada población por réplica) para la duración de la inmovilidad muscular (indicador de miedo; Gallup, 1979), el cociente entre el número de heterófilos y linfocitos (indicador de estrés fisiológico; Gross y Siegel, 1983) y la asimetría fluctuante (indicador de estrés ambiental; Parsons, 1990) de diferentes caracteres morfológicos bilaterales. Los datos fueron analizados por análisis de varianza (Sokal y Rohlf, 1981) utilizando un modelo con el efecto de grupo y raza como efecto fijo, la réplica como efecto aleatorio, y las interacciones entre los distintos efectos. El efecto réplica y sus interacciones fueron incluidos en el residuo si no existían efectos significativos. Las diferencias significativas fueron analizadas mediante el test Student-Newman-Keuls (Snedecor y Cochran, 1980).

Experimento 2. El objetivo fue evaluar el efecto de la presencia de hembras en el alojamiento en las variables espermáticas de machos adultos (a partir de las 36 semanas). Se utilizaron machos de la raza Andaluza Franciscana que fueron alojados a las 22 semanas de edad en celdas con una densidad de 4 aves/m². Se estudiaron 2 grupos, el grupo tratamiento (n= 55)

estaba formado por 11 machos alojados con gallinas en una proporción 1:5, y el grupo control (n=27) formado por gallos alojados sin presencia de gallinas. Durante los meses de marzo a mayo (12 semanas) se recogieron muestras de semen mediante la técnica del masaje descrita por Burrows y Quinn (1937). La recogida de muestras se efectuó una vez a la semana en 11 machos de cada grupo, a partir de las cuales se realizó un pool de semen por grupo. Las muestras se diluyeron 1:1 (vol:vol) con medio de conservación Lake-Ravie y se almacenaron a 5°C durante 45 minutos para su transporte al laboratorio. Se evaluó la concentración y diferentes variables de motilidad (Santiago-Moreno et al., 2012) utilizando el analizador de imagen CASA (Micoptic S.L.). El porcentaje de espermatozoides vivos fue determinado examinando la integridad de membrana plasmática mediante fluorescencia con yoduro de propidio (PI) y SYBR® 14 (Jeyendran et al., 1984; Soler et al., 2005). El efecto de la presencia de hembra en las variables espermáticas fue evaluado por análisis de varianza utilizando un modelo con el efecto de grupo como efecto fijo. La correlación ($r_{xx} = \text{cov}_{xx} / (\text{var}_x \text{ and } \text{var}_x)^{0.5}$) entre las distintas variables espermáticas se realizó por análisis de covarianzas. En los dos experimentos se utilizó para el análisis de los datos el paquete estadístico SAS y el procedimiento GLM (SAS Institute, Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento 1 no se observó un efecto significativo de la presencia de machos en la duración de la inmovilidad muscular (IM) de las hembras, tampoco fue significativo el efecto de la raza y su interacción. Este resultado indica que la presencia de machos en el alojamiento no está asociada con los niveles de miedo en las hembras. Sin embargo, Odén et al. (2005) si habían observado un disminución de los niveles de miedo en hembras de 34 semanas alojadas con machos en una proporción de 1:100, por lo que el efecto de la presencia del sexo opuesto en el miedo parece estar influenciado por la edad y el número de machos. Para el cociente entre heterófilos y linfocitos (HL) el efecto si fue significativo ($P < 0.05$), siendo no significativa la interacción con la raza. Las hembras alojadas con machos presentaban mayores valores de HL (0,37) que las alojadas en ausencia de machos (0,27), presentando por tanto más estrés fisiológicos las gallinas alojadas en presencia del sexo opuesto. La asimetría fluctuante (AF) fue significativa ($P < 0.05$) para la AF combinada de los cinco caracteres estudiados, presentando las hembras alojadas con gallos mayor AF (1,83 mm) que las alojadas en ausencia de gallos (1,27 mm). La interacción grupo y raza fue significativa para la AF, siendo las diferencias solo significativas en tres de las cinco razas. Los resultados indican que las hembras alojadas con machos desde las 8 semanas hasta las 22 semanas de edad tienen similares niveles de miedo y mayores niveles de estrés que las alojadas en ausencia de machos, no observándose efectos beneficiosos de la presencia del sexo opuesto a una edad temprana. Teniendo en cuenta que la experiencia social temprana puede tener efectos importantes en el comportamiento adulto, sería conveniente en las etapas de cría y recría no alojar a las hembras con machos antes de la etapa de madurez sexual. En el experimento 2 se observó que los gallos alojados con hembras no presentaban cambios en las variables cuantitativas (cantidad y concentración). Sin embargo, porcentajes significativamente más bajos de espermatozoides no móviles y de espermatozoides lentos fueron encontrados con la presencia de hembras (Tabla 1). Los machos alojados con hembras presentaban además variables de velocidad (VSL y VCL) significativamente mayor que los gallos alojados sin presencia de hembras, observándose una fuerte correlación entre estas dos variables ($r = 0,87$). Las variables de velocidad espermática tienen una gran importancia en la fertilidad de las aves (Froman et al., 2002) y pueden ser muy útiles para la selección de donantes, siendo VSL crucial en escenarios de competencia espermática (Santiago-Moreno et al., 2014). En base a los resultados obtenidos es posible que la presencia de hembras pueda inducir cambios hormonales en los gallos (testosterona, LH) afectando a la velocidad lineal de los espermatozoides, hecho observado en mamíferos (González et al., 1988) donde la velocidad del espermatozoide es muy dependiente del estado hormonal. En peces se ha observado que los machos pueden ajustar su cantidad y calidad de esperma (VCL) en respuesta a la oportunidad de apareamientos, lo que podría ocurrir también en gallos con la presencia de hembras, aunque sin efecto en el número de espermatozoides. Los gallos podrían compensar esta falta de efecto en la cantidad por la mejora en la velocidad lineal del esperma (VSL), criterio utilizado para la selección de donantes (Blesbois et al., 2007).

Los resultados obtenidos indican que la presencia del sexo opuesto en las hembras antes de la madurez sexual no tiene efectos positivos en su bienestar, mientras que la presencia de hembras con gallos adultos mejora las variables de motilidad espermática.

Tabla 1. Variables espermáticas en semen fresco (cuantitativas y cualitativas)

Variables espermáticas	Presencia hembras	Ausencia hembras	CME ³
Nº de espermatozoides (bill)	1,82 ^a	2,26 ^a	2,51
Concentración (bill / ml)	3,07 ^a	3,39 ^a	1,32
Volumen (bill / ml)	0,56 ^a	0,64 ^a	0,15
Esperma vivo (%)	72,80 ^a	68,80 ^a	63,90
Esperma inmóvil (%)	20,93 ^a	18,71 ^a	82,56
Motilidad no-progresiva (%)	44,37^b	53,01^a	64,01
Motilidad progresiva (%)	34,69 ^a	28,27 ^a	69,46
Motilidad Total (%)	79,07 ^a	81,29 ^a	82,56
Velocidad VSL ¹ (µm / s)	42,48^a	33,32^b	112,61
Velocidad VCL ² (µm / s)	76,89^a	65,62^b	168,22
Rápidos (> 50 µm / s) (%)	23,18 ^a	14,77 ^a	125,26
Medios (10 - 50 µm / s) (%)	35,20 ^a	35,03 ^a	202,72
Lentos (< 50 µm / s) (%)	20,69^b	31,49^a	130,47

Medias en la misma fila con diferente superíndice indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

¹ VSL: velocidad lineal; ² VCL: velocidad curvilínea; ³ CME: cuadrado medio del error

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blesbois, E. et al. 2007. Poult. Sci. 86: 555-564.
- Bshary, R. & Lamprecht, J. 1994. Behaviour 128: 311-324.
- Burrows, W.H. & Quinn, J.P. et al. 1937. Poult. Sci. 16: 1924.
- Campo, J.L. 1998. Proc. 6th World Congr. Genet. Appl. Livestock Prod. Pp. 155-158.
- Campo, J.L. & Orozco, F. 1986. Br. Poult. Sci. 27: 361-367.
- Collias, N.E & Collias, E.C. 1967. The Condor 69: 360-386.
- Froman, D.P. et al. 2002. Proc. R. Soc. Biol. Sci. 269: 607-612.
- Gallup, G.G. 1979. Anim. Behav. 27: 316-317.
- Gasparini, C. et al. 2009. Biol. Lett. 5: 792-794.
- Gonzalez, R. et al. 1988. Theriogenology, 30: 1075-1086.
- Gross, W.B. & Siegel, H.S. 1983. Avian Dis. 27: 972-979.
- Jeyendran, R. et al. 1984. J. Reprod. Fertil. 70: 219-228.
- Lacuesta, L. et al. 2014. Theriogenology, 83: 1-5.
- Leonard, M.L. et al. 1993. Appl. Anim. Behav. Sci. 37: 57-67.
- Liley, N.R. et al. 2002. Can. Fish. Aquat. Sci. 59: 144-152.
- Odén, K. et al. 2000. Appl. Anim. Behav. Sci. 67: 307-320.
- Odén, K. et al. 2005. Appl. Anim. Behav. Sci. 95: 89-102.
- Parsons, P.A. 1990. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 65: 131-145.
- Pizarri, T. 2003. Behav. Ecol. 14: 593-601.
- Santiago-Moreno, J. et al. 2012. Reprod. Dom. Anim. 47: 578-583.
- Santiago-Moreno, J. et al. 2014. Reprod. Dom. Anim. 49: 134-139.
- Snedecor, G.W. & Cochran, W.G. 1980. 7th ed. Iowa State Uni. Press.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1981. Biometry.
- Soler, A.J. et al. 2005. Theriogenology, 64: 1503-1517.
- Villagrán, M. & Ungerfeld, R. 2013. Anim. Reprod. Sci. 143: 85-90.
- Ylander, D.M. & Craig, J.V. 1980. Appl. Anim. Ethol. 6: 63-69.

Agradecimientos: Trabajo financiado con el proyectos RZP2012-00001-00-00 .

EFFECT OF THE PRESENCE OF THE OPPOSITE SEX ON ANIMAL WELFARE AND ON SPERM VARIABLES IN BREEDS OF LAYERS

ABSTRACT: The aim of the present study was to determine the effect of presence of males on three measurements of animal welfare related to fear and stress in females at 22 wk of age and the effect of the presence of hens on sperm variables of rosters at 36 wk of age, in breeds of layers. A total of 240 females and 24 pools of semen, produced by mixing semen from 11 males, which were reared with or without the presence of opposite sex, were used. The females in flocks containing males have similar fear levels as those in flocks without males, although they were more stressed. In this way, an early exposure to the opposite sex may be unfavourable. The presence of hens reared with rooster improves sperm quality, but not quantity. Sperm quality may therefore be adapted to the perceived opportunities of mating.

Keywords: presence of opposite sex, welfare, sperm variables, chicken

INFLUENCIA DEL SISTEMA DE ALOJAMIENTO EN LA CALIDAD DEL HUEVO, Y SU EFECTO SOBRE EL BIENESTAR EN RAZAS DE GALLINAS ESPAÑOLAS

García-Gil¹, M., Torres¹, O., Dávila¹, S.G., Cabezas¹, R., Castaño², C., Toledano-Díaz², A., Campo¹, J.L. y Santiago-Moreno², J.

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. ¹Dpto de Mejora Genética Animal, Ctra. de la Coruña, Km. 7,5, 28040 Madrid. ² Dpto Reproducción Animal Avd. Puerta de Hierro Km 5,9, 28040 Madrid.; ggil@inia.es

INTRODUCCIÓN

El uso de sistemas de alojamiento con acceso a pastos en la producción avícola esta creciendo debido a la demanda de los consumidores de productos más “naturales” (carne y huevos) y procedentes de sistemas respetuosos con el bienestar animal (Sossidou et al., 2011). Elegir correctamente el mejor genotipo para este tipo de sistemas al aire libre es muy importante, tanto para la producción de carne como en la de huevos, en este sentido las razas tradicionales son las que se adaptarían mejor (Van de Weerd et al., 2009). Cuando se propone un tipo de sistema alternativo se debe tener en consideración la interacción entre el genotipo y el ambiente (Singh et al., 2009). No parece existir un acuerdo sobre la superioridad de un sistema de alojamiento sobre otro en relación con la calidad del huevo y el bienestar de las gallinas (Elson, 2008), por este motivo son necesarias investigaciones adicionales. Aunque algunos estudios indican que el sistema de alojamiento puede influir en la calidad del huevo, otros estudios no han encontrado efectos significativos. Holt et al. (2011) y Lay et al. (2011) hacen una revisión sobre el efecto de los diferentes tipos de alojamiento, en la calidad de los huevos y el bienestar de las gallinas respectivamente. Los trabajos existentes sobre los diferentes sistemas de alojamiento sin jaula, han demostrado que pueden afectar a unas características del huevo (internas, externas y nutricionales) pero no a otras (Krawczyk y Gornowicz, 2010; Krawczyk et al., 2011; Sekeroglu et al., 2008). Los sistemas en los que se alojan las gallinas también pueden influir en el bienestar de las aves Campo et al 2002, y que se puede controlar mediante indicadores específicos, como el cociente entre heterófilos y linfocitos (indicador de estrés fisiológico Gross y Siegel, 1983; Davis et al., 2008) y la duración de inmovilidad muscular es (indicador de miedo Gallup, 1979). El objetivo de este estudio es analizar la influencia del sistema de alojamiento, en la calidad de los huevos (externa, interna y nutricional) y su relación con el bienestar de las aves.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 360 gallinas procedentes de cuatro razas españolas con diferente fondo genético, todas estas razas forman parte del programa de conservación de gallinas del INIA iniciado en 1975 (Campo y Orozco, 1982; Campo, 1998). Las gallinas de cada una de las raza se alojaron a partir de las 20 semanas de edad en tres sistemas de alojamiento diferentes: sobre yacija (L), exteriores con acceso a pastos (OP) y exteriores sin acceso a pastos (O). La densidad de aves fue de 6 aves/m², siendo la densidad en las áreas al aire libre de 2 aves/m². Las aves se alimentaban con pienso estándar para reproductoras, conteniendo 16% PB, 2.700 kcal EM/kg, 3,5% Ca, y 0,5% P disponible, suministrando pienso y agua ad libitum. El sistema OP era móvil, el área de pasto cambiaba semanalmente para proporcionar a las gallinas de suficiente alimento y evitar la pérdida total del mismo. El pasto en el sistema OP incluía especies típicas de campos no cultivados. Se realizaron 5 réplicas de cada uno de los sistemas de alojamiento por raza. Se analizó tanto la calidad externa como interna, en un total de 1140 huevos (5 huevos de cada alojamiento, por raza y día, durante 19 días). La calidad nutricional se estudió en un total de 96 huevos escogidos al azar de los diferentes alojamientos y razas. A la edad de 36 semanas se evaluaron 5 aves de cada sistema de alojamiento y raza (una gallina de cada replica, se realizaron un total de 5 réplicas), para la duración de la inmovilidad muscular (indicador de miedo; Gallup, 1979) y el cociente entre el número de heterófilos y linfocitos (indicador de estrés fisiológico; Gross y Siegel, 1983). Los datos de la inmovilidad muscular se transformaron logarítmicamente ya que no tiene una distribución normal, al igual que los del cociente entre heterófilos y linfocitos que se transformaron mediante la raíz cuadrada. Para el análisis de los datos se utilizó un análisis de varianza factorial en el que las razas y alojamiento se consideraron efectos fijos, y repeticiones se consideraron aleatorias. Cuando la repetición o sus interacciones no tenían diferencias significativas se incluían con el residuo para dar un efecto de análisis de varianza final con

dos factores (alojamiento-raza) y su interacción. Las diferencias significativas entre los alojamientos y las razas se determinaron mediante la prueba de rango múltiple de Student - Newman-Keuls (Snedecor and Cochran, 1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del efecto del sistema de alojamiento en la calidad externa e interna de los huevos se muestran en la Tabla 1. En la Tabla 2 se presentan los resultados del efecto del sistema de alojamiento en el contenido nutricional de los huevos analizados. La interacción entre el sistema de alojamiento y la raza, afectó significativamente a la mayoría de los caracteres de calidad externa e interna. Hubo dos formas en que se produjo esta interacción. Un sistema de alojamiento podría tener un efecto mayor en unas razas que en otras (interacción cuantitativa), o los sistemas de alojamiento pueden afectar el orden con respecto al mérito en las razas (interacción cualitativa). Este hecho confirma que se deben considerar las interacciones genotipo-ambiente cuando se proponen sistemas alojamiento alternativos (Singh et al., 2009), y que no existe una superioridad general de un sistema sobre otro. Sin embargo, esta interacción no afectó significativamente al contenido nutricional de los huevos. Huevos procedentes de gallinas alojadas en OP tenían un contenido mayor de Omega-3 y de ácido linoleico en la yema que los que se producían en los otros dos sistemas, estas diferencias pueden tener su origen en las distintas especies de plantas que componían el pasto, como la malva y la ortiga menor contienen una gran cantidad de ácidos grasos Omega-3, esto resultados coinciden con los publicados por Guil et al. (1996), Guil et al. 2003. No se encontraron diferencias significativas para el contenido de colesterol, lo que sugiere que las gallinas realizaban una actividad similar en los distintos alojamientos. Tampoco hubo diferencias significativas en el contenido de las vitaminas A y E. Las plantas (Simopoulos, 2004) e insectos (DeFoliart, 1991) contienen caroteno y vitaminas A y E, pero el claro aumento de los ácidos grasos Omega-3 no fue acompañado por un aumento significativo de las vitaminas A y E para gallinas del sistema OP en nuestro experimento. Nuestros resultados son similares a los Krawczyk et al. (2011) cuando comparábamos el sistema OP y el L. El sistema de alojamiento no afectó significativamente a la duración de la inmovilidad muscular, pero sí al cociente entre heterófilos y linfocitos ($P < 0.05$), siendo mayor en las gallinas alojadas en sistema OP (0.60) que las alojadas en el L (0.37) y las de los gallineros O (0.41). Este efecto significativo del cociente se debe a un aumento del número de heterófilos ($P < 0.05$). La interacción entre el sistema de alojamiento y la raza no fue significativa en ninguno de los dos indicadores. Este aumento significativo del cociente en las aves alojadas en el sistema con acceso a pasto, que puede deberse a factores de comportamiento e inmunológicos asociados con este sistema de alojamiento. De nuestros resultados podemos concluir que ningún sistema de alojamiento analizado era en general superior a los otros, cada sistema tiene sus diferentes retos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Campo, J. L. 1998. 6th World Congr. Genet. Appl. Livestock Prod. pp. 155-158.
- Campo, J. L., & Orozco, F. 1982. 2th World Congr. Genet. Appl. Livestock Prod pp, 88–93.
- Campo, J.L et al. 2008. Poult. Sci. 87: 621-626.
- Davis, A.K. et al. 2008. Funct. Ecol. 22: 760-772.
- DeFoliart, G.R. 1991. Food Insects News 4:1-4.
- Elson, H.A. 2008. Poult. Int. 47(3):10-14.
- Gallup, G.G. 1979. Anim. Behav. 27: 316-317.
- Gross, W.B. & Siegel, H.S. 1983. Avian Dis. 27: 972-979.
- Guil, J.L. et al. 1996. J. Chromat. A 719: 229-235.
- Guil, J.L. et al. 2003. J. Food Compos. Analysis 16: 111-119.
- Holt, P.S. et al. 2011. Poult. Sci. 90: 251-262.
- Krawczyk, J. & Gornowicz, E. 2010. Arch. Geflügelk. 74: 151-157.
- Krawczyk, J. et al. 2011. Arch. Geflügelk. 75: 151-157.
- Lay, D.C. et al. 2011. Poult. Sci. 90: 278-294.
- Sekeroglu, A.M. et al. 2008. Arch. Geflügelk. 72: 106-109.
- Simopoulos, A.P. 2004. Biol. Res. 37: 263-277.
- Singh, R. et al. 2009. Poult. Sci. 88: 256-264.
- Sossidou, E.N. et al. 2011. World's Poultry Science Journal 67: 47-58.
- Snedecor, G.W. & Cochran, W.G. 1980. 7th ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Van de Weerd, H. A. et al, 2009. Worlds Poult. Sci. J. 65: 649–684.

Agradecimientos: Trabajo financiado con el proyecto RZP2015-00002-00-00

Tabla1. Efecto del sistema de alojamiento y de la raza en la calidad interna y externa del huevo. Peso Huevo (PV), Índice Forma (IF), Gravedad Específica (GE), Color de Cáscara(CC), color yema (CY), Unidades Haug (UH)

Alojamiento	Raza	PV (gr)	IF (%)	GE(gr/cm ³)	CC	CY	HG
OP ¹	Vasca	51,7 ^{c,y}	71,8 ^{b,y}	1,079 ^{b,z}	37,8 ^y	7,88 ^a	86,3 ^{b,y}
	Prat	56,8 ^{a,x}	71,0 ^{b,y}	1,089 ^{b,x}	62,2 ^{b,x}	7,66 ^a	87,0 ^y
	Castellana	56,4 ^{ab,x}	73,7 ^{ab,x}	1,086 ^{c,y}	72,0 ^{b,w}	7,69 ^a	90,6 ^x
	Villafranguina	56,7 ^{b,x}	71,9 ^{b,y}	1,087 ^{a,y}	30,0 ^{b,z}	7,73 ^a	85,2 ^y
L ¹	Vasca	54,0 ^b	74,4 ^{a,x}	1,082 ^{a,z}	36,4 ^z	6,36 ^{b,yz}	90,1 ^{a,y}
	Prat	54,3 ^b	71,0 ^{b,y}	1,087 ^{c,x}	64,1 ^{a,y}	6,29 ^{b,z}	87,3 ^y
	Castellana	54,7 ^b	75,0 ^{a,x}	1,088 ^{bc,x}	72,8 ^{b,x}	6,53 ^{c,xy}	93,2 ^x
	Villafranguina	55,1 ^b	71,3 ^{b,y}	1,084 ^{b,y}	34,9 ^{a,z}	6,64 ^{b,x}	87,4 ^y
O ¹	Vasca	55,5 ^{a,z}	74,6 ^{a,x}	1,082 ^{a,z}	37,6 ^y	6,37 ^{b,z}	92,3 ^{a,x}
	Prat	55,4 ^{b,z}	72,3 ^{a,z}	1,093 ^{a,w}	65,5 ^{a,x}	6,22 ^{b,z}	86,5 ^y
	Castellana	56,9 ^{a,y}	73,3 ^{b,y}	1,090 ^{a,x}	74,8 ^{a,w}	6,96 ^{b,x}	91,5 ^x
	Villafranguina	58,7 ^{a,x}	73,5 ^{a,y}	1,088 ^{a,y}	29,0 ^{b,z}	6,60 ^{b,y}	84,6 ^y
CME ²		22,0	0,0012	0,000034	36,7	0,67	74,0

^{a-c} Medias raza con exponente diferente difieren significativamente (P < 0,05), ^{wz} Medias de alojamiento con exponente diferente significativamente (P < 0,05), ¹ OP, L, and O = salida al exterior con, acceso a pasto, yacija, y exterior sin pasto. ² Cuadrado Medio del Error.

Tabla2. Efecto del sistema de alojamiento y la raza en la composición nutritiva del huevo: Colesterol (Col), Omega-3 en yema (n-3y), Omega3 en grasa(n-3g), ácido linoleico (ALA), Ácido docosapentanoico (DPA), Ácido docosahexaenoico (DHA)

Efecto	Col (mg/g yema)	n-3y (mg/g yema)	n-3g (mg/g grasa)	C 18:33 (mg/g grasa)	DPA (mg/g grasa)	DHA (mg/g grasa)	Vit A (IU/g yema)	Vit E (mg/g yema)
Alojamiento								
OP	14,1	2,37 ^a	8,56 ^a	3,64 ^a	1,10 ^a	3,82 ^a	1,69	0,07
L	13,3	1,98 ^b	7,33 ^b	2,98 ^b	0,93 ^a	3,42 ^{ab}	1,96	0,08
O	13,4	1,84 ^b	6,62 ^b	2,90 ^b	0,63 ^b	3,09 ^b	1,75	0,07
CME ²	1,39	0,06	0,42	0,26	0,07	0,19	1,03	0,002

^{a-b} Medias para el mismo efecto y carácter con distinto superíndice difieren significativamente (P < 0,05), ¹ OP, L, and O = salida al exterior con acceso a pasto, yacija, y exterior sin pasto. ² Cuadrado Medio del Error.

EFFECT OF HOUSING SYSTEM ON EGG QUALITY AND WELFARE INDICATORS IN SPANISH HENS BREEDS

ABSTRACT The aim of the present work was to examine the influence of access to pasture in an outdoor housing system on the quality of eggs (external, internal, and nutritional), the welfare, rooster sperm quality and response to cryopreservation, from five Spanish breeds with different genetic background, housed in three different systems: indoor litter floor pens (L), outdoor with pasture access (OP), and outdoor without pasture access (O), with group (OP) given daily access to a grazing area containing plant species that typically grow on uncultivated Mediterranean land. In addition, two welfare indicators were examined: the heterophil/lymphocyte (H/L) ratio, and the duration of tonic immobility (TI). Our specific results demonstrated that all egg quality measurements and the yolk nutrient content were affected by the interaction between the housing system and the breed and that a housing system is neither better nor worse per se than another. It appears that no single housing system is ideal from a hen welfare perspective, and each system has its unique challenges. The unexpected increase of H/L ratio in the OP birds may be due to behavioral and immunological factors associated with this management system.

Key words: welfare, eggs quality, housing system

DIFERENCIAS EN MORTALIDAD FETAL ENTRE LÍNEAS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE PARA VARIABILIDAD DEL PESO AL NACIMIENTO EN RATONES

Formoso-Rafferty¹, N., Arias-Álvarez¹, M., Gutiérrez¹, J.P., Cediel², R. y Cervantes¹, I.

¹Departamento de Producción Animal. ²Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. UCM. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid. icervantes@vet.ucm.es

INTRODUCCIÓN

Los beneficios en productividad y bienestar animal que presenta la homogeneidad han sido demostrados a partir de la información generada por un exitoso experimento de selección divergente para la variabilidad ambiental del peso al nacimiento durante 20 generaciones en ratones (Formoso-Rafferty et al., 2016a, 2016b, 2018). Los animales pertenecientes a la línea de baja variabilidad (BV) han mostrado ser más robustos en el sentido de tener mayor tamaño de camada y supervivencia al destete en un entorno de reproducción común, que los de la línea de alta variabilidad (AV). Asimismo, los animales de la línea BV han respondido mejor que los de la línea AV ante el reto ambiental presentado en forma de restricción alimentaria durante el crecimiento (Formoso-Rafferty et al., 2017a) y durante el período reproductivo (Formoso-Rafferty et al., 2017b). Sin embargo, se desconoce si las diferencias en tamaño de camada entre líneas se deben a diferencias en la tasa de ovulación o en la supervivencia fetal, que podría a su vez estar condicionada parcialmente por una distribución no uniforme de los fetos entre los cuernos uterinos. El objetivo de este trabajo fue analizar mediante ecografía las diferencias entre las líneas seleccionadas en términos de mortalidad fetal y eficiencia reproductiva.

MATERIAL Y MÉTODOS

En cada una de las tres generaciones consecutivas del experimento de selección estudiadas se aparearon 43 hembras por línea de selección. Se realizaron ecografías a las hembras de ambas líneas que hubieran formado tapón mucoso en los tres días siguientes al apareamiento. Se realizaron ecografías un total de 86 hembras (23 de AV y 63 en BV). Las ecografías se realizaron en el día 14 de gestación para conocer el número total de fetos presentes realizando un recuento en ambos cuernos uterinos y se comparó con el tamaño de camada al nacimiento para establecer la tasa de mortalidad fetal por diferencia. El número de hembras con tapón mucoso en los tres primeros días después del apareamiento se utilizó como posible indicador de eficiencia reproductiva. Se estudiaron también las siguientes variables para cada línea: el número de fetos a los 14 días, el tamaño de camada al nacimiento, la mortalidad en el último tercio de la gestación establecida como la diferencia entre ambos valores, y la asimetría en la implantación de los fetos calculada como la diferencia en valor absoluto entre el número de fetos en los diferentes cuernos uterinos. Estas variables se analizaron mediante un procedimiento GLM del programa SAS (SAS Institute Inc., 1990) en el que el modelo incluía el tamaño de camada y la generación como efectos. Se comparó también el número de hembras gestantes entre líneas mediante un modelo el procedimiento FREQ del programa SAS (SAS Institute Inc., 1990) estableciendo diferencias estadísticas de acuerdo a una prueba Chi-2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de hembras que formaron tapón mucoso en los tres primeros días para las líneas BV y AV fueron respectivamente 70% y 42% en la primera generación estudiada, 81% y 51% en la segunda, y 88% y 60% en la tercera. En las tres generaciones la diferencia entre líneas fue significativa ($p < 0,01$). Las medias minimocuadráticas del número de fetos a los 14 días de gestación, la asimetría en la distribución de los fetos entre cuernos uterinos a los 14 días de gestación, el tamaño de camada al nacimiento y la mortalidad fetal en el último tercio de gestación se muestran en la tabla 1, en la que también se muestran los niveles de significación de los efectos línea y generación para todos los caracteres. Ni el número de fetos a los 14 días, ni la

asimetría de la distribución de fetos entre ambos cuernos uterinos resultaron significativamente diferentes entre líneas ($p < 0,05$). En cambio, el tamaño de camada al nacimiento ($p < 0,05$) y el número de fetos perdidos durante el tercer tercio de la gestación ($p < 0,001$), sí que resultaron diferentes entre líneas. La generación tuvo influencia significativa en el número de fetos observados por ecografía ($p < 0,001$) y en el tamaño de camada al nacimiento ($p < 0,01$), pero no en la asimetría ni en la mortalidad fetal. La diferencia en el tamaño de camada al nacimiento entre líneas fue de dos fetos perdidos, lo que parece un valor muy relevante. Estos resultados podrían indicar que las diferencias entre líneas que ya habían sido observadas en el tamaño de camada, se atribuirían a mortalidad fetal y no a diferencias en la tasa de ovulación ni a dificultades en la fecundación de los mismos, lo que nuevamente sugieren la mayor robustez de los animales de la línea homogénea antes del nacimiento. Estas conclusiones podrían ser reforzadas mediante un experimento que conllevara sacrificio de hembras y recuento de cuerpos lúteos. Por otro lado, las diferencias entre líneas observadas en estos caracteres podrían haber sido infraestimadas, dado que sólo se analizaron las hembras que formaron tapón mucoso en los tres primeros días tras el apareamiento, lo que podría implicar un sesgo en el muestreo hacia las hembras más fértiles. Este sesgo habría sido inferior en la línea BV que se ha mostrado más fértil según lo descrito al principio de esta sección. Este análisis no permitió atribuir a la asimetría en la implantación, la mayor variabilidad del peso al nacimiento de la línea AV, ya que no se encontraron diferencias significativas ni relevantes entre las líneas para este carácter, aunque en la línea AV este valor resultó algo superior. Aunque no existieron diferencias en el número de fetos a los 14 días de gestación alojados en cada cuerno uterino, no es posible diferenciar si podría existir dicha asimetría entre los cuernos en el momento del parto. Se concluyó que el mayor tamaño de camada de la línea homogénea se debería a una mayor robustez prenatal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• 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., Gutiérrez, J.P. & Bodin, L. 2017a. XVII Jornadas AIDA. • Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Sánchez, J.P., Gutiérrez, J.P. & Bodin, L., 2017b. XVII Jornadas AIDA. • Formoso-Rafferty, N., de la Flor, M., Gutiérrez, J.P. & Cervantes, I., 2018. J. Anim. Breed. Genet., 135: 378-389. • SAS Institute, 1990. SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.

Agradecimientos: El estudio se ha realizado con una financiación parcial a través de un proyecto MEC-INIA (RTA2014-00015-C02-02). Los autores agradecen el asesoramiento durante el aprendizaje de la realización de las ecografías a Antonio González Bulnes, a Hernán Luis Fominaya García y a Juan Antonio Cámara Serrano.

Tabla 1. Medias minimocuadráticas obtenidas del recuento fetal y del tamaño de camada por línea y significación de efectos.

	n	Nº fetos	Asimetría	Tamaño Camada	Mortalidad Fetal
Alta	23	10,57	0,21	7,77	3,33
Baja	63	10,45	0,19	9,18	1,33
Significación	Línea	<i>ns</i>	<i>ns</i>	*	***
	Generación	***	<i>ns</i>	**	<i>ns</i>

ns - no significativo; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

FETAL MORTALITY DIFFERENCES BETWEEN LINES DIVERGENTLY SELECTED LINES FOR BIRTH WEIGHT VARIABILITY IN MICE

ABSTRACT: The benefits in productivity and animal welfare of the homogeneity have been shown after 19 generations of a successful divergent selection experiment for the birth weight environmental variability in mice. Low variability animals have been shown to be more robust. Likewise, those animals performed better under an environmental challenge as food restriction during growth and reproduction. The objective of this work was to analyze by ultrasound the differences between the selected lines in terms of fetal mortality and fertility. Ultrasounds were performed on females of both selection lines from three consecutive generations of the experiment, who exhibited mucous plug in one of the first three days of coexistence with a male. The percentage of females that presented mucous plug for the low and high variability lines were respectively 70% and 42% in the first recorded generation, 81% and 51% in the second, and 88% and 60% in the third, being the difference between lines significant in all cases. Neither the number of fetus at 14 days nor the asymmetry between horns were different between lines, but they were the litter size at birth and the number of fetus lost. The difference in the number of fetus lost between lines was two pups. It was concluded that the larger litter size of the homogeneous line would be due to greater prenatal robustness.

Keywords: divergent selection experiment, mice, fetus mortality.

MEJORA DE LA RESILIENCIA A PRRSv EN CERDAS REPRODUCTORAS

Fraile¹, L., Abella^{1,2}, G., Novell³, E., Tarancón³, V., Varona⁴, L., Pena¹, R.N. y Estany¹, J.

¹Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, 25198 Lleida. ²Pinsos del Segre SA, 25600 Balaguer. ³Grup de Sanejament Porcí, 25192 Lleida. ⁴ Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza.; lorenzo.fraile@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSv) es uno de los mayores problemas sanitarios y económicos al que se enfrenta el sector porcino, especialmente en zonas de alta producción intensiva (Fraile et al., 2010). En su variante reproductiva, entre otros síntomas, provoca que las cerdas reproductoras afectadas presenten una mayor proporción de abortos tardíos, lechones muertos y momificados (Lunney et al., 2010). La actual estrategia vacunal no permite controlar completamente el desarrollo de la enfermedad, por lo que se ha propuesto como alternativa identificar a las cerdas con mejor respuesta a la infección. En efecto, estudios recientes han mostrado que existe variabilidad entre las cerdas en cuanto a la respuesta a PRRSv (Rashidi et al., 2014), así como genes asociados que pudieran contribuir a explicarla (Reiner, 2016). Tanto para el análisis y aprovechamiento de tal variabilidad resulta necesario disponer de un método de fenotipado practicable que permita identificar aquellas cerdas con mayor probabilidad de resiliencia a PRRSv. Pena et al. (2012) propusieron un criterio, posteriormente formalizado por Abella et al. (2016), para detectar precozmente la resiliencia a PRRSv según la carga viral observada tras vacunar con una cepa europea atenuada. En un trabajo previo de nuestro grupo (Fraile et al., 2018), comprobamos que el criterio propuesto presentaba variación genética y que las cerdas identificadas como resilientes tenían menos pérdidas de lechones de las consideradas sensibles. Estos resultados, no obstante, se obtuvieron en condiciones exclusivamente endémicas de la enfermedad, pues no se declaró ningún brote epidémico en el transcurso del experimento. Durante este último año se ha dado dicha circunstancia, y así, ahora resulta posible extender los resultados anteriores a una situación epidémica. El objetivo de esta comunicación es validar el comportamiento de las cerdas resilientes en un brote epidémico de PRRSv y comprobar en qué medida difiere del observado en una situación endémica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal. En el experimento se han utilizado 382 cerdas Landrace x Large White procedentes de 110 camadas de una granja de multiplicación negativa a PRRSv. Todas las camadas se eligieron de cuatro lotes en los que no se practicó la adopción. A las 6-7 semanas de vida, las cerdas se fenotiparon como resilientes (R; n=136) o susceptibles (S; n=246) según la prueba de fenotipado que se detalla a continuación. Posteriormente, a los 7 meses de edad y un peso de 130 kg, se trasladaron a una misma granja de producción, que se clasificó como estable positiva a PRRSv. A la entrada, las cerdas se alojaron en la unidad de cuarentena, donde siguieron el programa de vacunación de la empresa que no incluyó vacuna frente al virus PRRSv. Ya en la unidad de reproducción, las cerdas se inseminaron, anotándose en cada parto el número de lechones nacidos vivos (NV), nacidos muertos (NM) y momificados (MM). El total de lechones perdidos (NLP) se calculó como la suma de NM y MM y el total de lechones nacidos (NT) como la suma de NV y NLP. Se registraron todos los partos ocurridos desde abril de 2016 hasta octubre de 2018. Hasta finales de Junio de 2018 la condición de la granja fue de estable positiva para PRRSv (EN: endémica) y a partir de esa fecha en delante de inestable positiva (EP: epidémica). En este trabajo se han utilizado los datos de 1.464 partos, de los cuales 1.280 se produjeron en fase endémica y 184 en fase epidémica.

Fenotipado. Las cerdas se vacunaron a las 6-7 semanas por vía intramuscular con 2 mL Porcilis PRRS® (MSD Animal Health), equivalente a 10⁵ TCID₅₀ de PRRSv cepa DV por animal. La vacunación tuvo lugar en unas instalaciones independientes para evitar que el virus se transmitiera al interior de la granja. A todas las cerdas se les extrajo una muestra de sangre a los 0, 7, 21 y 42 días post-vacunación (DPV). En las muestras obtenidas a los

0, 7 y 21 DPV se determinó la viremia mediante PCR semicuantitativa a tiempo real para RNA de PRRSv (Abella et al., 2016). El resultado del ensayo fue positivo o negativo según si el ciclo umbral fue menor (positivo) o igual o mayor (negativo) que 40. Las cerdas se clasificaron como R si fueron negativas a PRRSv a los 7 y 21 DPV o como S si fueron positivas en alguno de los dos días. Ninguna muestra fue positiva a los 0 DPV, confirmando así que las cerdas no estuvieron expuestas al virus antes de la vacunación.

Análisis estadístico. Los datos de NT y NV se analizaron asumiendo una distribución normal con un modelo lineal que incluyó, como efectos sistemáticos, el lote de vacunación, el orden de parto y el estatus x situación del parto, además de los efectos individuales de la cerda y de la madre. El efecto estatus x situación se definió según las cuatro combinaciones posibles entre el estatus de la cerda (R; S) y la situación en la se produjo el parto (EN; EP). Los datos de mortalidad (NM, MM y NLP) se analizaron asumiendo la siguiente distribución binomial (Varona y Sorensen, 2010):

$$f(\mathbf{y}|\mathbf{t}, \boldsymbol{\phi}) = \prod_{i=1}^n \binom{t_i}{y_i} \phi_i^{y_i} (1 - \phi_i)^{t_i - y_i}$$

donde \mathbf{y} es el vector de datos (NM, MM, o NLP); \mathbf{t} , el vector de NT; y $\boldsymbol{\phi}$, el vector de probabilidades de nacer muerto, momificado o ambos. En un siguiente nivel de jerarquía la transformada logit de $\boldsymbol{\phi}$ se modelizó de igual forma que en NT y NV pero añadiendo las covariables NT y NT al cuadrado. Se asumió que los efectos individuales de la cerda y de la madre seguían una distribución a priori normal de media 0 y varianza σ_c^2 y σ_m^2 , respectivamente. Las distribuciones a priori de los efectos sistemáticos, de las dos covariables y de las componentes de la varianza se asumieron uniformes. Los modelos se resolvieron mediante muestreo de Gibbs (Gelfand y Smith, 1990) a partir de una única cadena de 500.000 iteraciones y después de descartar las primeras 50.000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 1** se indican las diferencias reproductivas observadas entre las cerdas R y S según la situación sanitaria de la granja. Las cerdas S tuvieron más NT que las R, tanto en fase endémica (0,44 lechones, P=0,94) como epidémica (0,74 lechones, P=0,92). No se observaron diferencias en NV aunque, en fase epidémica, es más probable que una cerda R tenga más NV. Este cambio de tendencia se explica porque la mortalidad al nacimiento en los partos de las cerdas S es mayor que en los de las R. Así, a igual tamaño de camada, un lechón de una camada R tiene mayor probabilidad de nacer vivo (P≥0,97) que otro de una camada S, independientemente de si ha nacido durante una fase endémica o epidémica de PRRSv.

No obstante, la menor mortalidad observada en las camadas R tiene un origen diferente según la fase de la enfermedad, de tal forma que su mejor rendimiento se explica por presentar, en fase endémica, menos NM y, en fase epidémica, menos MM. Nótese que, en fase epidémica, una cerda S tiene el doble de probabilidad de parir un lechón momificado que una R (8,4% vs 4,0%. P=1,0). Este resultado confirma la principal hipótesis del experimento, puesto que una de las consecuencias más reconocibles de la infección con virus PRRSv en reproductoras es un aumento de MM. La presencia de PRRSv en lechones enfermizos y de anticuerpos en muestras de sangre ratificó que, en efecto, el virus circuló durante la fase endémica y que hubo un brote en la fase epidémica. En conjunto, los resultados obtenidos indican que las cerdas R, en ambientes donde circula el virus PRRS, son más eficientes que las S, pues alcanzan un NV igual o superior que las S, pero a menor NLP. Todo ello, además, sin considerar que los lechones R posiblemente se desenvuelvan también mejor durante la lactación y el engorde. Se concluye que el método propuesto como criterio de fenotipado tiene potencial para mejorar la resiliencia en cerdas reproductoras.

Tabla 1. Número esperado de lechones nacidos totales (NT) y vivos (NV) y probabilidad de que un lechón nazca muerto (ϕ_{NM}), momificado (ϕ_{MM}) o en cualquiera de ambas condiciones (ϕ_{NLP}) según la situación de la granja (endémica o epidémica) y del estatus de la cerda (R: resiliente; S: sensible).

	SITUACIÓN de la GRANJA					
	ENDÉMICA			EPIDÉMICA		
	R	S	P>0 ^a	R	S	P>0 ^a
NT	14,13	14,57	0,94	13,77	14,51	0,92
NV	11,97	12,17	0,79	11,30	11,15	0,38
ϕ_{NM} , %	12,98	14,95	0,98	13,26	13,63	0,59
ϕ_{MM} , %	0,65	0,72	0,63	4,00	8,40	1,00
ϕ_{NLP} , %	13,70	15,78	0,98	16,97	20,53	0,97

^a P>0: probabilidad de que una cerda S tenga un valor mayor que una cerda R.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Abella, G. et al. 2016. Res. Vet. Sci. 104:117-122. • Fraile, L. et al. 2010. Vet. J. 184:326-33 • Fraile, L. et al. 2018. XVII Reunión Mejora Animal, León. • Gelfand, A.E. & Smith, A.F.M. 1990. J. Am. Stat. Assoc. 410: 398-409. • Lunney, J.K. et al (2010). Virus Res. 154: 1-6. • Pena, R. et al. 2012. XVI Reunión Mejora Genética Animal, Menorca. • Reiner, G. 2016. Porcine Health Manag. 2: 27. • Rashidi, H. et al. 2104. J. Anim. Sci. 92: 95-105. • Varona, L. & Sorensen, D. 2010. Genetics. 184: 277–284.

Agradecimientos. Proyecto financiado por FEDER (COMRDI16-1-0035-03). G. Abella es beneficiaria de una ayuda de doctorado industrial (Generalitat de Catalunya, No. 2013 DI 027).

IMPROVING RESILIENCE TO PRRSv IN SOWS

ABSTRACT: In this experiment we investigated whether sows identified as resilient (R) were reproductively more efficient than susceptible (S) sows under porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) endemic and epidemic outbreaks. At 6-7 weeks of age, a piglet was phenotyped as R if it was PCR negative to PRRSv at 7 and 21 days post-vaccination or as S if any of the samples at 7 and/or 21 days were positive. A total of 382 phenotyped Landrace x Large White sows (136 R and 246 S) were allocated in a PRRSv-stable farm where a PRRSv outbreak occurred. Results from 1,464 farrowings confirmed that R sows were more efficient than S sows, since they were able to produce at least the same number of piglets born alive per parity but at a lower mortality rate, both in the endemic (15.8% vs 13.7%) and the epidemic (20.5% vs 17.0%) scenario.

Keywords: litter size, pigs, PRRSv, resilience, sow.

INFERENCIA EVIDENCIAL... NO HAY DOS SIN TRES

Casellas¹, J.

¹Dep. Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona. joaquim.casellas@uab.cat

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen dos paradigmas inferenciales mayoritarios (frecuentista y Bayesiano), los cuales se ven ampliamente representados en la mayoría de áreas de conocimiento, sin que la mejora genética animal sea una excepción. No obstante, existen alternativas y alguna de ellas se ha sugerido ya como una posibilidad real dentro del campo de la genética (Strug, 2018). Esta no es otra que la inferencia evidencial, centrada en caracterizar el nivel de evidencia a favor o en contra de una determinada hipótesis (o modelo estadístico), y sustentado sus divergencias en relación a los paradigmas mayoritarios en base a la interpretabilidad y objetividad de sus resultados.

EVIDENCIA ESTADÍSTICA

Los trabajos originales de Barnard (1949), Hacking (1965) o Edwards (1972), entre otros, establecen las bases para replantear la inferencia estadística como la medida del nivel de evidencia aportado por un conjunto de datos en favor de una hipótesis (en relación a otra). Aunque puede parecer trivial, el concepto y definición de “evidencia estadística” representa el punto de partida de la inferencia evidencial, en contraposición a las corrientes mayoritarias de inferencia estadística, tanto frecuentista como Bayesiana. La inferencia evidencial basa sus procedimientos en el cociente de verosimilitudes como medida de la evidencia estadística (Hacking, 1965), tomando como punto de partida el Principio de Verosimilitud que establece que la función de verosimilitud captura toda la evidencia inherente a la muestra analizada en relación a los parámetros del modelo; aunque este principio fue deducido formalmente por Birnbaum (1962), su uso y aplicaciones puede ya encontrarse en los trabajos de Sir RA Fisher, cuarenta años antes (Fisher, 1922). El concepto de “evidencia estadística” establece dos propiedades básicas para su validez:

- a) Interpretabilidad (el nivel de evidencia tiene la misma interpretación práctica independientemente del tamaño muestral).
- b) Objetividad (el nivel de evidencia no varía en función del investigador).

Aunque pueda resultar sorprendente, ni la inferencia frecuentista ni la Bayesiana cumplen de forma estricta ambos criterios.

INTERPRETABILIDAD

La inferencia frecuentista fundamenta buena parte de su base teórica en los test de hipótesis y p -valores, un híbrido ciertamente peculiar si consideramos que cada uno de ellos fue desarrollado casi al mismo tiempo por Neyman y Pearson (1933) y Fisher (1925), con posiciones abiertamente enfrentadas. Tal como fue descrito por Fisher en su momento, el p -valor únicamente determina la probabilidad empírica del error de tipo I (rechazar la hipótesis nula cuando esta es realmente cierta), y la misma lógica se aplicaría en el caso del test de hipótesis de Neyman-Pearson. Estas aproximaciones en ningún caso pretende caracterizar el nivel de evidencia a favor de una u otra hipótesis, aunque a menudo se malinterpretan en este sentido ($p.ej.$, a menor p -valor, mayor evidencia a favor de la hipótesis alternativa).

Desde un punto de vista evidencial, la probabilidad de observar evidencias erróneas (errores de tipo I y II en la inferencia frecuentista) debería converger a 0 a medida que aumenta el tamaño de la muestra (Bickel, 2012), tal como se observa en la Figura 1. No obstante, la propia definición de los test de hipótesis frecuentistas (Neyman y Pearson, 1993) imposibilitan este patrón al fijar un error de tipo I constante (típicamente 0,05), independientemente del tamaño de la muestra. Dentro de este contexto, el resultado de cualquier test de hipótesis, tanto expresado en términos de p -valor como de aceptación/rechazo de la hipótesis nula, no se puede interpretar en términos de evidencia estadística sin tener en cuenta el tamaño de la muestra analizada; de hecho, se tiende a asumir que un determinado p -valor aportará mayor evidencia en contra de la hipótesis nula en tamaños de muestra pequeños que en grandes (Royall, 1997). Tal como describió Goodman y Royall (1988), en muchos casos un p -valor de

0,05 se corresponde a un cociente de verosimilitudes que indica evidencias abrumadoras a favor de la hipótesis nula siempre que la muestra sea suficientemente grande.

OBJETIVIDAD

Desde un punto de vista teórico, los procedimientos de inferencia Bayesiana toman información de dos fuentes claramente diferenciadas, inherentes a la expresión

$$p(\theta|y) \propto p(y|\theta)p(\theta).$$

Por un lado, los propios datos a analizar (y) bajo el modelo en cuestión, que se combinan e integran en el término $p(y|\theta)$, dando lugar a una expresión en nada distinta a las funciones de verosimilitud frequentistas o evidenciales (al menos, en términos algebraicos). En segundo lugar, la distribución *a priori* de los parámetros del modelo ($p(\theta)$), que caracterizaría el conocimiento previo del investigador sobre los mismos.

Tomando los factores de Bayes (Kass y Raftery, 1995) como la metodología estándar dentro la inferencia Bayesiana para la comparación de modelos (*i.e.*, comparación de hipótesis), resultan evidentes sus limitaciones en cuanto a objetividad. El cociente entre la probabilidad posterior de dos modelos distintos incluye el término $p(\theta)$ de ambos y , en consecuencia, condiciona el resultado a la opinión misma (*a priori*) del investigador. Dos investigadores distintos deberían obtener distintos resultados, dado que resulta muy poco probable que ambos tengan exactamente el mismo grado de conocimiento previo en relación a los parámetros del modelo, a menos que open por *a priori*s genéricos que, en si, desvirtuarían la esencia misma de la inferencia Bayesiana (no obstante, en la práctica, se usan por comodidad). No sería impensable que las diferencias *a priori* de los investigadores pudieran, incluso, invertir el sentido del mismo factor de Bayes en casos extremos, condicionando de manera evidente el resultado del análisis a fuentes de información, ajenas a los datos y , en buena medida, subjetivas.

En el caso de la inferencia evidencial, se evitaría esta injerencia por parte del investigador, dado que el cociente de verosimilitudes no incluye información ajena a los datos a analizar, más allá del modelo mismo de análisis.

UMBRALES DE EVIDENCIA

De la misma forma que la inferencia frequentista establece un umbral como criterio para discernir entre ambas hipótesis (típicamente, $\alpha=0,05$), y la inferencia Bayesiana dispone también de umbrales para el factor de Bayes con el objetivo de categorizar el resultado a favor de un u otro modelo (e.g., Jeffreys, 1961), la inferencia evidencial toma como referencia los umbrales 8 y 32 para distinguir entre evidencia débil (1 a 8), moderada (8 a 32) y fuerte (>32) a favor del modelo situado en el denominador del cociente de verosimilitudes (Royall, 1997, 2000). No obstante, se han sugerido otros umbrales posibles, algunos compartidos con los de inferencia Bayesiana (Jeffreys, 1961), y también pueden adaptarse fácilmente a situaciones de *multiple testing*.

Más allá de la controversia que pueda generar la entrada en escena de un tercer paradigma inferencial, este debería verse como una aproximación alternativa a las inferencias frequentista y Bayesiana, todas ellas centradas en responder preguntas distintas aunque, quizá demasiado a menudo, se confundan en un mismo sentido y objetivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barnard, G.A. 1949. Statistical Inference. J. Royal Stat. Soc. B 11: 115-149.
- Bickel, D.R. 2012. The strength of statistical evidence for composite hypotheses: inference to the best explanation. Stat Sinica 22: 1147-1198.
- Birnbaum, A. 1962. On the foundations of statistical inference. J. Am. Stat. Assoc. 57: 269-306.
- Edwards, A.F. 1972. Likelihood. An Account of the Statistical Concept of Likelihood and its Application to Scientific Inference. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Fisher, R.A. 1922. On the mathematical foundations of theoretical statistics. Phil. Trans. R. Soc. A 222: 594-604.
- Fisher, R.A. 1925. Statistical Methods for Research Workers. Oliver and Boyd, Edimburgo, Reino Unido.
- Goodman, S.N. & Royall, R. 1988. Evidence and scientific research. Am. J. Public Health 78: 1568-1574.
- Hacking, I. 1965. Logic of Statistical Inference. Cambridge University

Press, Cambridge, Reino Unido. • Jeffreys, H. 1961. Theory of Probability. Oxford University Press, Oxford, Reino Unido. • Kass, R.E. & Raftery, A.E. 1995. Bayes factors. J. Am. Stat. Assoc. 90: 773-795. • Neyman, J. & Pearson, E. 1933. On the problem of the most efficient tests of statistical hypotheses. Phil. Trans. R. Soc. Lond. A 231: 289-337. • Royall, R. 1997. Statistical Evidence: A Likelihood Paradigm. CRC Press, New York, NY, EUA. • Royall, R. 2000. On the probability of observing misleading statistical evidence (with discussion). J. Am. Stat. Assoc. 95: 760-767. • Strug, L.J. 2018. The evidential statistical paradigm in genetics. Genet. Epidemiol. 42: 590-607.

Agradecimientos: Este trabajo se enmarca en el proyecto CGL2016-80155-R.

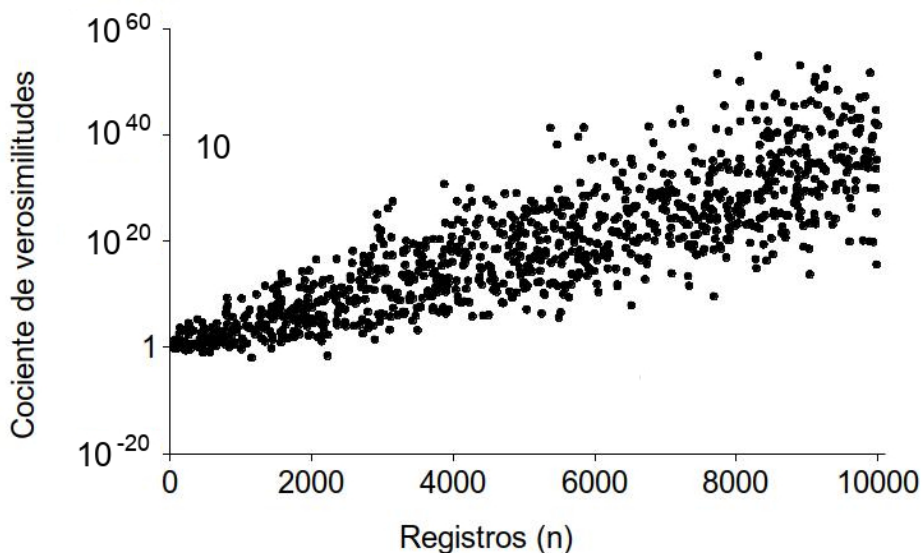


Figura 1. Cociente de verosimilitudes (hipótesis nula vs hipótesis alternativa) en datos simulados de asociación genética tipo GWAs simulados bajo hipótesis nula verdadera.

EVIDENTIAL STATISTICS... THINGS ALWAYS COME IN THREES

ABSTRACT: Frequentist and Bayesian methodologies provide key tools for animal breeding, and they have attracted almost all statistical attention during the last decades. Nevertheless, a third inferential paradigm was suggested long time ago and could be of special interest in the near future. This is known as evidential inference and relies on the ratio of likelihood functions as the reference statistic to compare hypothesis. The main objective of evidential inference focuses on calculating the strength of statistical evidence favouring (or disfavouring) a given hypothesis in comparison with an alternative one, this guaranteeing both objectivity (*i.e.*, the strength of evidence does not vary from one researcher to another) and interpretability (the strength of evidence has the same practical interpretation for any sample size). These two criteria become essential when comparing with frequentist and Bayesian inferences.

Keywords: Bayes factor, evidential statistics, hypothesis testing, statistical evidence

MÉTODO LR EN SIMULACIONES: GANANCIA GENÉTICA Y DISPERSION USANDO HEREDABILIDAD EQUIVOCADA

Macedo¹, F. y Legarra¹, A.

¹GenPhiSE-INRA. 24 chemin de Borde-Rouge, Auzeville, France; fernando.macedo@inra.fr

INTRODUCCIÓN

En la medida que los costos de genotipado disminuyeron, el uso de información genómica en las evaluaciones genéticas se ha hecho más frecuente y hay más estudios de sesgos en este tipo de evaluación. Diversos estudios realizados en bovinos de leche han detectado sesgo en las evaluaciones genéticas tanto en la ganancia genética estimada, como en la dispersión de los valores de cría estimados (EBV) (Spelman et al., 2010; Sargolzaei et al., 2012). Sesgos en evaluaciones genéticas también fueron encontrados en poblaciones de razas Pirenaicas de ovinos lecheros (Baloche et al., 2014).

Una de las posibles causas de sesgos en evaluaciones es el uso de una heredabilidad (h^2) incorrecta, ya sea mayor o menor a la verdadera, principalmente cuando la h^2 no es estimada frecuentemente o cuando cambia a lo largo del tiempo, por ejemplo, por modificaciones en el ambiente.

En la actualidad la herramienta más usada para probar modelos de evaluación y detectar sesgos es la validación cruzada. No obstante, dista de ser una herramienta óptima, acorde a la realidad de los esquemas de selección (Legarra y Reverter, 2017); principalmente en sistemas de evaluación con bajo número de padres y baja cantidad de hijas como pueden ser los sistemas de producción de leche ovina. Recientemente se ha propuesto un método de fácil aplicación y apropiado para usar en cualquier esquema de selección llamado método Linear Regression (LR) (Legarra y Reverter, 2018). Dicho método se basa en la comparación de dos subconjuntos de valores de cría estimados (EBV); uno cuando se usa información parcial, incompleta o antigua (subconjunto parcial) y otro partiendo de información agregada (subconjunto completo). El método asume que el modelo, y la h^2 usada, son correctas. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar mediante simulación las propiedades del método LR para estimar el sesgo en evaluaciones genéticas cuando la h^2 usada es incorrecta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Simulación. Se simularon 20 réplicas de poblaciones con aproximadamente 450000 individuos para características de h^2 0,10 y 0,30 medidas solamente en las hembras, usando el software QMSim v.1.10 (Sargolzaei y Schenkel, 2009). Para ambas situaciones se plantearon 3 escenarios: (1) los individuos fueron evaluados mediante BLUP con la misma h^2 usada para la simulación (h^2 verdadera); (2) los individuos fueron evaluados usando una h^2 0,05 inferior a la verdadera y (3) los individuos fueron evaluados usando una h^2 0,05 superior a la verdadera. Por lo tanto, evaluamos 6 escenarios: para simulaciones usando h^2 de 0,10: individuos evaluados con h^2 de 0,05, 0,10 y 0,15 y para simulaciones usando h^2 de 0,30: individuos evaluados con h^2 de 0,25, 0,30 y 0,35. La varianza fenotípica siempre fue de 1.

Se aplicó el método LR sobre individuos nacidos en la generación 5 – 9; siendo el subconjunto parcial (\hat{u}_p) los EBV estimados cuando los individuos no poseían hijas (y por lo tanto sin registros) y como subconjunto completo (\hat{u}_w) los EBV estimados cuando los individuos ya poseían registros de sus hijas (en la generación siguiente).

Finalmente se obtuvieron por cada repetición 5 comparaciones entre parcial y completo; totalizando 100 comparaciones, tomando en cuenta todas las réplicas. Para cada par de subconjuntos se estimaron el **sesgo** ($\mu_{wp} = \bar{u}_p - \bar{u}_w$); relacionado con la ganancia genética; y el **coeficiente de regresión** del subconjunto completo en el parcial ($b_{pw} = cov(\hat{u}_p, \hat{u}_w) / var(\hat{u}_p)$); relacionado con la medición de la dispersión. Los resultados obtenidos con el método se contrastaron con los valores de obtenidos de comparar los \hat{u}_p y los verdaderos valores de cría (TBV) ($\mu_{TBV,p}$ y $b_{TBV,p}$). Una presentación más profunda del método LR y sus estimadores se puede encontrar en Legarra y Reverter (2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando la h^2 es inferior a la verdadera los EBVs se infraestiman, y cuando la h^2 es superior, se sobreestiman. El método LR intenta estimar este sesgo con los resultados presentados en la Figura 1. Cuando se aplica en el modelo de evaluación una h^2 menor a la usada para simular, se encuentra un sesgo real (\hat{u}_p menor que TBV) mayor al detectado por el estimador

(para h^2 simulada de 0,10: h^2 de evaluación 0,05, μ_{wp} de -0,029 y $\mu_{TBV,p}$ -0,111; para h^2 simulada de 0,30 y h^2 de evaluación de 0,25, μ_{wp} de -0,028 y $\mu_{TBV,p}$ de -0,054). Una situación similar pero inversa sucede cuando la h^2 usada para las evaluaciones es mayor a la usada para simular; se observa una subestimación del sesgo (para h^2 simulada de 0,10: h^2 de evaluación 0,15, μ_{wp} de 0,036 y $\mu_{TBV,p}$ de 0,091; para h^2 simulada de 0,30 y h^2 de evaluación de 0,35, μ_{wp} de 0,032 y $\mu_{TBV,p}$ de 0,050). La diferencia en este caso es que el sesgo es positivo, o sea los \hat{U}_p son mayores que los TBV. Por tanto, incluso cuando la h^2 no es correcta, el método es capaz de detectar la existencia de sesgos (infra- o sobre- estimación sistemática de EBVs) pero no su magnitud.

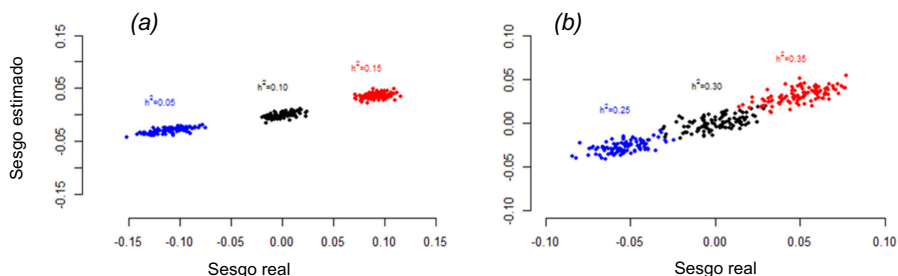


Figura 1. Sesgo observado (en abscisa) y estimado (en ordenada) en todas las simulaciones: (a) simulaciones con h^2 de 0,10 y evaluaciones con h^2 de 0,05, 0,10 y 0,15; y (b) simulaciones realizadas con h^2 de 0,30 y evaluaciones realizadas con h^2 de 0,25, 0,30 y 0,35.

Cuando se usa en la evaluación h^2 mayores a la verdadera, el $b_{TBV,p}$ resulta ser <1 (sobredispersión) para ambos escenarios (h^2 simulada de 0,10 y en modelo de evaluación 0,15: $b_{TBV,p}=0,83$; h^2 simulada de 0,30 y en modelo de evaluación 0,35: $b_{TBV,p}=0,97$), mientras que el uso de h^2 inferiores a la usada para simular resulta en valores medios superiores e inferiores a uno (h^2 simulada de 0,10 y en modelo de evaluación 0,05: $b_{TBV,p}=0,96$; h^2 simulada de 0,30 y en modelo de evaluación 0,25: $b_{TBV,p}=1,06$). De todas formas, en todos los escenarios, este indicador de dispersión se logra estimar de manera satisfactoria (figura 2) tanto en sentido como en magnitud

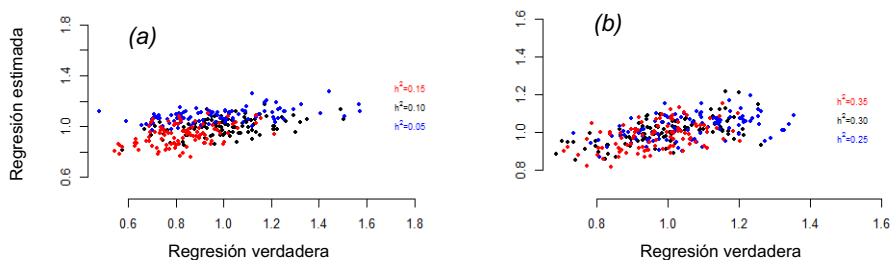


Figura 2. Coeficiente de regresión verdadero (en abscisa) y estimado (en ordenadas) en todas las simulaciones para todos los escenarios probados: (a) simulaciones con h^2 de 0,10 y evaluaciones con h^2 de 0,05, 0,10 y 0,15; y (b) simulaciones realizadas con h^2 de 0,30 y evaluaciones realizadas con h^2 de 0,25, 0,30 y 0,35.

En ese sentido en este trabajo se observó que el uso de h^2 equivocadas en el modelo de evaluación provoca sesgos y valores de dispersión de EBV menores a 1 y que el método LR

fue capaz de estimar estos valores tanto en sentido como en magnitud, de forma más o menos precisa dependiendo de la magnitud de la h^2 usada para la simulación. Así demostramos que el método LR es capaz de detectar la presencia de sesgos y sobredispersiones aun cuando los parámetros usados para realizar las evaluaciones no sean correctos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Baloche, G., Legarra, A., Sallé, G., Larroque, H., Astruc, J.-M., Robert-Granié, C. & Barillet, F. 2014. *J. Dairy Sci.* 97:1107–1116. • Boichard, D., Bonaiti, B., Barbat, A. & Mattalia, S. 1995. *J. Dairy Sci.* 78:431–437. • Legarra, A. & Reverter, A. 2017. Can we frame and understand cross-validation results in animal breeding? *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.* • Legarra, A. & Reverter, A. 2018. *Genet. Sel. Evol.* 50:1–18. • Reverter, A., Golden, B.L., Bourdon, R.M. & Brinks, J.S. 1994. *J. Anim. Sci.* 72:34–37. • Sargolzaei, M., Chesnais, J. & Schenkel, F. 2012. Assessing the bias in top GPA bulls. doi:https://www.cdn.ca/Articles/GEBOCT2012/Jacques_Bias_in_Top_Bulls.pdf. • Sargolzaei, M. & Schenkel, F.S. 2009. *Bioinformatics* 25:680–1. • Spelman, R.J., Keehan, M.D., Obolonkin, V., Winkelman, A.M., Johnson, D.L. & Harris, B. 2010. Application of Genomic Selection 0–3.

Agradecimientos: Los autores quisieran agradecer a las siguientes instituciones financiadoras: Metaprograma GenSel (INRA), La región Occitanie, Proyecto ARDI (Interreg, POCTEFA); así como también a la plataforma de computación Genotoul.

METHOD LR IN SIMULATION: GENETIC GAIN AND DISPERSION USING WRONG HERITABILITIES

ABSTRACT: There is an interest in the study of bias in genetic evaluations, mainly in the context of genomic evaluations. Recently a new method, called Linear Regression, based on statistics obtained from the comparison from estimated breeding values (EBV) obtained from a data set with old records or partial (\hat{u}_p) and from a data set with newer information or whole (\hat{u}_w). In this study, we examine in simulations, the behavior of the method when wrong heritabilities (h^2) are used to evaluate individuals. For simulations we use two h^2 (0.1 and 0.3) and for the evaluation models we use h^2 0.05 points over and under the h^2 used to simulate. Two statistics were analyzed: the bias, related to the genetic gain and the slope of the regression of \hat{u}_w on \hat{u}_p , related to dispersion of EBV. We observed that the use of wrong h^2 results in estimated bias lower than the real one, but in the correct sense. When we observed the slope the use of high h^2 causes a real slope under one, that it could also be detected. In any case, it is possible to estimate by method LR the bias and the slope, with more precision when the true h^2 is high.

Keywords: genetic evaluation, bias, slope

EFFECTOS EPIGENETICOS ASOCIADOS AL SEXO Y LA EDAD DEL REPRODUCTOR

Varona, L., Moreno, C. y Altarriba, J.

Universidad de Zaragoza. Instituto Agroalimentario de Aragón –IA2-. 50013. Zaragoza.

lvarona@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La epigenética estudia las variaciones de expresión génica que no dependen de variaciones de la secuencia de ADN (Eccleston et al., 2007) y, habitualmente, se atribuyen a procesos de metilación o modificaciones de las histonas. En ocasiones se ha detectado que estas modificaciones epigenéticas son transmisibles (Jablonka y Raz, 2008) denominándose herencia epigenética transgeneracional. Desde la perspectiva de la genética cuantitativa, la existencia de herencia epigenética transgeneracional implica la redefinición de la covarianza entre parientes. En este sentido, Varona et al. (2015) desarrollaron un modelo que permite calcular una matriz de relaciones epigenéticas a partir de un parámetro de borrado (o transmisión) que fue definido por Tal et al. (2010). El modelo desarrollado por Varona et al. (2015) implica un único parámetro de borrado global, pero es plausible que el borrado de marcas epigenéticas esté asociado a condicionantes ambientales. En este sentido, el procedimiento de Varona et al. (2015) puede modificarse para generar una matriz de relaciones epigenéticas que permita parámetros de borrado específicos a un grupo de individuos. En este trabajo se presenta un ejemplo de este procedimiento bajo la asunción de 6 parámetros de borrado (o transmisión) en función del sexo y la edad del reproductor y su implementación en una base de datos peso de la canal fría en ganado vacuno Pirenaico.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se han utilizado 67.694 datos de peso de la canal fría y una genealogía de 112.006 entradas (individuo-padre-madre) de la raza vacuna Pirenaica. El modelo de análisis fue:

$$y = Xb + Wp + Zu + Zg + e$$

Donde **y** es el vector de datos fenotípicos, **b** es el vector de efectos sistemáticos (covariada con la edad, sexo, edad de la madre y matadero), **p** es el vector de efectos ambientales permanentes (15.073 niveles), **u** y **g** son los vectores de los efectos genéticos aditivos y epigenéticos y **e** es el vector de residuos. Las distribuciones a-priori de los efectos ambientales permanentes y los efectos genéticos aditivos fueron:

$$p \sim N(\mathbf{0}, I\sigma_p^2) \text{ y } u \sim N(\mathbf{0}, A\sigma_a^2)$$

donde **A** es la matriz de parentesco numerados y σ_p^2 y σ_a^2 son las varianzas ambientales permanentes y genética aditiva, respectivamente. La distribución a priori de los efectos epigenéticos fue:

$$g \sim N(\mathbf{0}, T\sigma_t^2)$$

donde **T** es la matriz de relaciones epigenéticas, cuya inversa **T**⁻¹ se puede construir de manera sencilla a partir de las relaciones recursivas entre los efectos siguiendo el procedimiento descrito por Varona et al. (2015):

$$g = Pg + \varepsilon$$

Por lo tanto la varianza de los efectos epigenéticos puede explicarse como:

$$V(g) = [I - P]^{-1}V(\varepsilon)[I - P']^{-1}$$

donde \mathbf{P} es la matriz que define las relaciones recursivas y que contiene los parámetros de transmisión entre progenitores y descendientes. A partir de esta expresión es inmediato el desarrollo de un algoritmo que permita calcular la inversa de la matriz de relaciones epigenéticas (\mathbf{P}^{-1}) partiendo de los postulados de Quaas (1976) para la inversa de la matriz de parentesco numerador (\mathbf{A}^{-1}).

En este trabajo, a diferencia de la propuesta de Varona et al. (2015), se han definido 3 parámetros de transmisión vía paterna que corresponden a machos menores de 4 años (λ_{s1}), de 4 a 8 años (λ_{s2}) y mayores de 8 años (λ_{s3}) y otros 3 asociados a las hembras menores de 4 años (λ_{d1}), de 4 a 8 años (λ_{d2}) y mayores de 8 (λ_{d3}). Las distribuciones a priori de los parámetros de transmisión epigenética se asumieron uniformes entre 0 y $\sqrt{0.5}$, con el objetivo de que la varianza epigenética permanezca constante entre generaciones. Finalmente, las distribuciones a priori de los efectos sistemáticos y componentes de varianza se asumieron uniformes. El modelo se analizó mediante inferencia bayesiana utilizando muestreo de Gibbs (Gelfand y Smith, 1990) a partir de una única cadena de 500.000 iteraciones después de descartar las primeras 50.000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se muestra como el modelo descrito por Varona et al. (2015) es generalizable a situaciones donde los coeficientes de transmisión epigenética o de borrado sean variables en función de condiciones ambientales. En este trabajo se asume que estos coeficientes dependen del sexo y de la edad de los individuos. Las medias (y desviaciones típicas) posteriores fueron de 943,09 (32,28), 291,11 (36,77), 494,00 (12,16) y 367,68 (32,63) kg² para σ_a^2 , σ_t^2 , σ_p^2 y σ_e^2 , respectivamente. Además, la media (y desviaciones típica) posterior de la heredabilidad fue de 0,449 (0,016). Los resultados de estimación de varianza aditiva (y la heredabilidad) están dentro del rango de valores obtenidos para caracteres simulares en la misma (Altarriba et al., 2009) y otras poblaciones de vacuno de carne (Rios-Utrera y Van Vleck, 2004).

Las medias (y desviaciones típicas) posteriores de los coeficientes de transmisión se presentan en la figura 1. Por una parte, es destacable que los coeficientes de transmisión atribuidos a los machos son más elevados que los de las hembras, lo que confirma la hipótesis de la posible presencia de impronta en caracteres de crecimiento en vacuno de carne (Varona et al., 2015). Por otra parte, se observa como los animales más jóvenes transmiten un efecto epigenético mayor, mientras que los individuos de mayor edad tienen un parámetro de borrado mucho más elevado. Una posible explicación puede no estar debido a efectos puramente epigenéticos, ya que es conocido que las células germinales masculinas acumulan más mutaciones que las femeninas a medida que el individuo envejece (Crow, 2003). Estas mutaciones pueden reducir la covarianza entre sus descendientes. Así, la covarianza entre medio-hermanos, según el modelo descrito, será de $0,25\sigma_a^2 + \lambda^2\sigma_t^2$. Si se toman las medias marginales posteriores, la covarianza será de 366,84 Kg² para los machos menores de 4 años y tan solo de 236,05 para los mayores de 8 años.

De confirmarse, este resultado implicará, a nivel práctico, que la utilización de reproductores más antiguos tienen una incertidumbre mayor que la utilización de más jóvenes. Además, merece la pena recordar que la respuesta a la selección obtenida a partir de los efectos epigenéticos transmisibles no se consolida en el tiempo y, que, cuando la presión de selección se relaja, la media fenotípica regresa a la media (Varona et al., 2015). Sin embargo, los resultados de este trabajo deben tomarse con prudencia, ya es posible que sean producto de una mala definición del modelo, por, entre otros motivos, la presencia de efectos maternos. Por lo tanto, deben ser comprobados con otros caracteres y poblaciones.

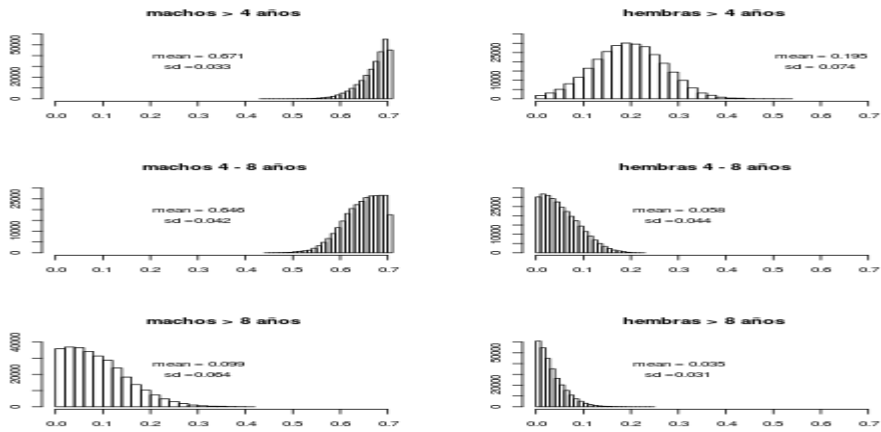


Figura 1. Distribuciones posteriores de los parámetros de transmisión epigenética (λ) para machos y hembras menores de 4 años, de 4 a 8 años y mayores de 8 años.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altarriba, J., Yagüe, G., Moreno, C. & Varona, L. 2009. *Livestock Science* 125: 115-120.
- Crow, J. F. 2003. *Science* 5633: 606-607
- Eccleston, A. N., DeWitt, C., Gunter, B., Marte, B. & Nath, D. 2007. *Nature* 447: 395-400
- Gelfand, A. E. & Smith, A. F. M. 1990. *J. Amer. Stat. Assoc.* 85: 398-409
- Jablonka, E. & Raz, G. 2009. *Q. Rev. Biol.* 84: 131-176
- Rios-Utrera, A. & Van Vleck, L. D. 2004. Heritability estimates for carcass traits of cattle: a review. *Genet. Mol. Res.* 3: 380-394
- Tal, O. E., Kisdí, E. & Jablonka, E. 2010. *Genetics* 184: 1037-1050.
- Quaas, R. L. 1976. *Biometrics* 32:949-953.
- Varona, L., Munilla, S., Casellas, J., Moreno, C. & Altarriba, J. 2015. *Genet. Sel. Evol.* 47:63
- Varona, L., Munilla, S., Mouresan, E. F., González-Rodríguez, A., Moreno, C. & Altarriba, J. 2015. *G3 (Bethesda)* 5: 477-485.

Agradecimientos: Los autores agradecen a CONASPI (Confederación Nacional de Asociaciones de Ganado Pirenaico) por la disponibilidad de los datos fenotípicos y de la genealogía.

EPIGENETICS EFFECTS ASSOCIATED WITH SEX AND AGE

ABSTRACT: This study presents a Bayesian model to analyze transgenerational epigenetic inheritance that allows variability in the transmission coefficients in relation with sex and age of parents. The results indicated that a relevant amount of the phenotypic variance could be explained by transgenerational epigenetic inheritance and that the transmission coefficients were higher in males than in females and they decreased with age of parents.

Keywords: epigenetics, bayesian analysis, resemblance between relatives, genetic variance

APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE DATOS COMPOSICIONALES AL MICROBIOMA DE CONEJOS

Zubiri-Gaitán, A., Martínez-Álvaro, M., Casto-Rebollo, C., Blasco, A. y Hernández, P. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València. Apartado 22012. Valencia 46022. ablasco@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

Los datos obtenidos a partir de secuenciación masiva, incluida la secuenciación del microbioma, son datos de naturaleza composicional, es decir, son partes de un total. Todas las variables detectadas en una muestra (taxones) suman un total impuesto por el instrumento que difiere del total absoluto, desconocido (Gloor et al., 2017). El espacio muestral donde se representan los datos composicionales es un espacio restringido, conocido como *símplex*, cuya geometría (geometría de Aitchison) es diferente a la geometría Euclídea del espacio real.

Es posible representar los datos composicionales en coordenadas de una base ortonormal a partir de la transformación log-cociente isométrica (*ilr*). La coordenada *ilr* se define como el logaritmo del cociente de las medias geométricas entre particiones de la matriz de datos, denominadas *balances*. A partir del algoritmo *selbal*, es posible comparar *balances* en un proceso similar a la regresión *stepwise* hasta encontrar el *balance* óptimo que mejor explica una variable respuesta de interés (Rivera-Pinto et al., 2018).

El objetivo de este trabajo es aplicar técnicas de análisis de datos composicionales a datos microbiómicos de ciego para discriminar entre 2 líneas de conejos seleccionadas de forma divergente por el contenido de grasa intramuscular (GIM).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un experimento de selección divergente para GIM durante 10 generaciones en conejos. El experimento se encuentra descrito en Martínez-Álvaro et al. (2016). Para el presente estudio se sacrificaron 16 y 17 conejos de la 10ª generación de la línea alta (GA) y baja (GB) respectivamente, a las 9 semanas de edad, previo ayuno de 4 horas. Inmediatamente tras el sacrificio se tomaron muestras del contenido cecal, se homogeneizaron y se almacenaron a -80°C. Se obtuvo el metagenoma de las muestras mediante secuenciación con Illumina NextSeq y se realizó la asignación taxonómica de las lecturas a siete niveles (dominio, filo, clase, orden, familia, género y especie) utilizando el programa Kaiju (Menzel et al., 2016).

Para este análisis se utilizaron las variables taxonómicas obtenidas a nivel de género, 2653 en total. Se eliminaron las variables que contenían 0 en más del 25% de los individuos, quedando 1435. Posteriormente se realizó una estimación puntual bayesiana para sustituir los 0 restantes por valores imputados (Martín-Fernández et al, 2015). Tras la imputación, los datos se clausuraron a 1; es decir, se estimaron las abundancias relativas por animal.

Se utilizó el paquete de R *selbal* para seleccionar el *balance* en base logarítmica que mejor discrimina entre las líneas GA y GB. La capacidad del *balance* seleccionado para discriminar GA y GB se testó con un modelo de regresión logística usando el *balance* como variable explicativa y un vector de clasificación (GA/GB) como variable explicada. Finalmente, se estimó la distribución marginal posterior del ratio entre las líneas GA y GB para cada género microbiano que compone el *balance*, usando el programa Rabbit (Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València); se calculó su mediana, su HPD_{95%} y su probabilidad (P) de ser mayor o menor a 1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El *balance* que mejor discrimina entre las líneas GA y GB está compuesto por 4 géneros bacterianos: *Firmicutes Caldicoprobacter*, *Firmicutes Dendrosporobacter*, *Candidatus Vecturithrix* y *Acidobacter_na*, este último pertenece al filo *Acidobacter*, cuyo género no pudo ser caracterizado. El *balance* es:

$$\ln \left(\frac{\sqrt{(F. Caldicoprobacter * F. Dendrosporobacter)}}{\sqrt{(Acidobacter_na * C. Vecturithrix)}} \right) \quad (1)$$

El modelo de regresión logística utilizado para predecir la variable categórica GA/GB a partir del valor del balance se representa en la figura 1. En el eje Y se representa la probabilidad de asignación a GA o GB según el valor del balance, representado en el eje X. La zona media representa la posible zona de confusión en la asignación de clases que, como se puede observar, es muy reducida. La correlación entre los valores predichos y los observados fue de 0.98, mostrando por tanto una elevada capacidad de predicción.

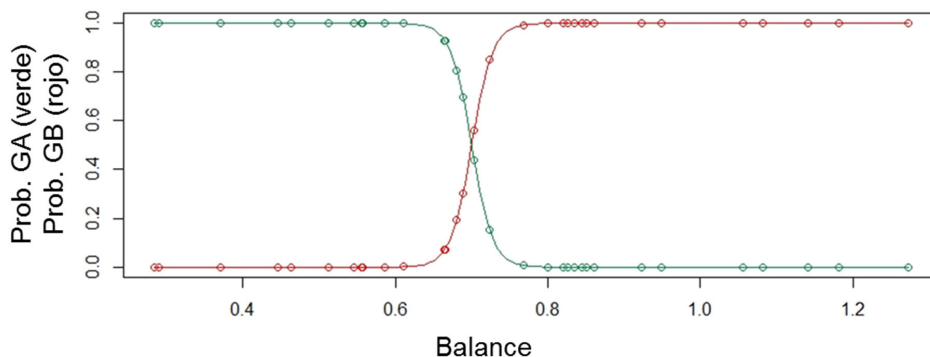


Figura 1. Representación de la regresión logística. En el eje X se encuentran los posibles valores del balance y en el eje Y la probabilidad de asignación a GA o GB según dicho valor.

Además, en la figura 2, se presenta el gráfico de caja con patillas del balance seleccionado para ambas líneas. Como se puede ver, el balance seleccionado es capaz de diferenciar las líneas GA y GB.

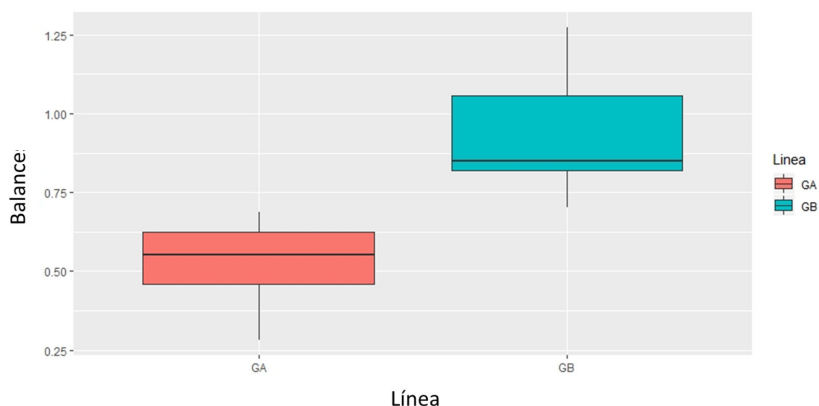


Figura 2. Gráfico de caja con patillas de la distribución del balance para las líneas GA (rojo) y GB (azul).

En la tabla 1 se muestran los parámetros descriptivos (media y coeficiente de variación) y los resultados del análisis bayesiano del balance y de los géneros bacterianos que lo componen. Los resultados obtenidos evidencian que el balance conformado por estos 4 géneros, encontrado por el algoritmo *selbal*, fue capaz de discriminar con gran precisión los individuos de ambos grupos. Por otra parte, se puede ver que *Firmicutes Dendrosporobacter* tiene mayor abundancia relativa en GB, mientras que *Candidatus Vecturithrix* y *Acidobacter_na* la tienen en GA (tabla 1). Por otro lado, como se evidencia con el caso de *Firmicutes Caldicoprobacter*, es posible que algunas variables individuales no presenten diferencias relevantes entre los grupos, pero que su importancia se deba a su relación con las otras variables, puesto que los

balances se construyen comparando variables y grupos de variables entre sí. Debido a la naturaleza composicional de los datos, los valores individuales dados en porcentaje producen correlaciones espúreas, y además los valores individuales en subconjuntos de variables no respetan las relaciones mutuas originales entre variables, por lo que sólo las comparaciones relativas entre variables (y no sus valores individuales) pueden analizarse con los procedimientos habituales (Pawlowsky et al., 2015).

Tabla 1. Parámetros descriptivos y ratios GA/GB del balance y de las abundancias relativas de los géneros bacterianos que conforman el balance seleccionado.

Variable	Media (%)	CVx100	GA/GB	P	HPD _{0,95}
Balance (ecuación 1)	0,73	34	0,57	1,00	0,48 , 0,67
Firmicutes Dendrosporobacter	2,44E-03	24	0,85	0,97	0,70 , 1,00
Firmicutes Caldicoprobacter	10,14E-03	18	0,99	0,53	0,86 , 1,14
Candidatus Vecturithrix	1,65E-03	34	1,38	1,00	1,06 , 1,74
Acidobacter_na	4,08E-03	26	1,33	1,00	1,11 , 1,56

GA/GB: mediana de la distribución marginal posterior del ratio entre las líneas GA y GB; P: probabilidad del ratio de ser >1 cuando GA>GB y <1 cuando GA<GB; HPD_{95%}: intervalo de máxima densidad posterior con un 95% de probabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gloor, G.B. et al. 2017. *Front. Microbiol.* 8: 2224.
- Martínez-Álvaro, M., Hernández, P. & Blasco, A. 2016. *J. Anim. Sci.* 94: 4993-5003.
- Martin-Fernandez, J.A. et al. 2015. *Stat. Model.* 15:134-158.
- Menzel, P. et al. 2016. *Nat. Commun.* 7:11257
- Pawlowsky, V., Egozcue, J.J. & Tolosana, R. 2015. Wiley.
- Rivera-Pinto, J. et al. 2018. *mSystems* 3: e00053-18

Agradecimientos: Este experimento ha sido subvencionado por el proyecto AGL2017-86083-C2-1-P del Plan Nacional de Investigación.

RABBIT MICROBIOME ANALYSIS THROUGH COMPOSITIONAL DATA ANALYSIS TECHNIQUES

ABSTRACT: Compositional data are defined in a sample space called simplex with Aitchison geometry, which is different from the Euclidean geometry from the real space. For this study, compositional nature of microbiome data was considered in order to analyze the microbiota divergence between two rabbit lines selected for high (H) and low (L) intramuscular fat (IMF) content. An algorithm called *selbal* was applied to the genera microbiota dataset to find the optimal balance capable of discriminating between lines. The balance obtained included four bacterial genera, grouping *Firmicutes Caldicoprobacter* and *Firmicutes Dendrosporobacter* on one side, and *Candidatus Vecturithrix* and *Acidobacter_na* on the other. The balance was able to successfully discriminate between lines. Univariate Bayes analysis of the ratio H/L showed greater relative abundance of *Firmicutes Dendrosporobacter* in L and lower of *Candidatus Vecturithrix* and *Acidobacter_na* in H.

Keywords: compositional data, isometric log-ratio, balance, caecum microbiome, rabbit

EMPEZANDO POR LA A: COMPONENTES DE VARIANZA DE PRODUCCION DE LECHE EN OVEJAS LACONAS ESPAÑOLAS

Gómez¹, E.A., Rábano², A., Mocé¹, E., Cerisuelo¹, A., Ferrer¹, P. y Peris³, C.

¹CITA-Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Apartado 187, 12400 Segorbe, Castellón. ²Asociación Española de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Lacaune, Santiago 3 3º derecha, 47001 Valladolid. ³ICTA-Universitat Politècnica de València, Camí de Vera s/n, 46022 València; gomez_ern@gva.es

INTRODUCCIÓN

Las asociaciones de ganaderos deben plantear programas de cría para la mejora del ganado. En el caso de animales lecheros se precisa registrar caracteres de interés vía control lechero (producción) además de otros posibles registros y análisis complementarios (composición de la leche, morfología,...). Además, es necesario el mantenimiento continuo de los ficheros genealógicos, apoyados por los laboratorios de genotipado, para que sean veraces y estén actualizados. AESLA es la entidad reconocida para gestionar el libro genealógico y el programa de cría de la raza ovina Lacaune desde el año 2007. El censo de ovino de esta raza en España ya es mayor de 120.000 animales (AESLA, 2018) y ha podido rentabilizar el programa de mejora genética desarrollado en Francia desde hace más de 40 años. Aunque la selección genómica ya ha llegado a la raza Lacaune en Francia tras 8 años de trabajo (Astruc y Buisson, 2019) y llegará también hasta España, es necesario fortalecer la actual estructura de las asociaciones y la información de las bases de datos de genealogías y de caracteres de interés.

En términos zotes, no es necesario conocer los parámetros genéticos de nuestra población para hacer una ordenación de los individuos en base a los valores genéticos predichos y bastaría utilizar parámetros estimados en otras poblaciones diferentes de la misma raza o especie. Sin embargo, parece sensato empezar a conocer la situación utilizando los datos propios para mejorar las predicciones y la posibilidad de conocer si ha habido o no respuesta a la selección en los pasados años en que no existía un programa de mejora consolidado y se aprovechaban los orígenes franceses (GENELEX, Coopérative Ovi-test y Confédération Générale de Roquefort) como fuente de reproductores (machos y hembras) que se han utilizado ampliamente en las ganaderías y en los centros de inseminación de Zamora y Córdoba.

En diferentes razas de ovino lechero se ha trabajado en los programas de mejora con lactaciones estandarizadas a 120 días, AESLA incluida, con interés en los caracteres de producción y de calidad de la leche, dada orientación quesera de la producción lechera ovina. Dada la gran capacidad de producción lechera del ganado Lacaune, en este trabajo se plantea la estimación de la heredabilidad para lactaciones estandarizadas a 160 días, solamente con la información de la que se dispuso, producción de leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha utilizado un subconjunto de 58.599 lactaciones de entre las recogidas en las bases de datos de la asociación AESLA (Asociación Española de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Lacaune), con registros correspondientes a 30.029 ovejas de 21 rebaños, que incluían datos de lactación estandarizada a 160 días de acuerdo con las indicaciones del ICAR (2018).

En la Tabla 1 se presentan resultados medios y desviaciones de la producción. La producción media de lactaciones estandarizada a 160 días fue alta, de 337 kg (siendo de 311 kg en las primeras lactaciones y de 352 kg en las siguientes).

Para la estimación de componentes de varianza se utilizó el método REML con un software clásico (VCE 6.0.2, Groeneveld et al., 2008). En el análisis se utilizó un modelo univariante animal de repetibilidad, con efecto permanente de hembra (30.029 lactantes) y efecto aditivo (con 70.633 animales en el fichero de genealogías), incluyendo como efectos fijos la combinación rebaño-año-estación (613 niveles), número de lactación (1, 2, 3 y ≥4) y número de corderos nacidos (4 niveles: 1, 2, ≥3 y desconocido).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El subconjunto de datos de lactación utilizados es sólo una parte de la información atesorada en las bases de datos de la asociación AESLA. Es necesario reprocesar la información de los controles diarios de control lechero y, en su caso, de calidad de leche para el cálculo de los valores estandarizados a 160 días de cara a la estimación de componentes de varianza de todos los caracteres de interés, así como de sus correlaciones genéticas. Es también prioritaria una revisión profunda de los ficheros genealógicos de cara a solventar errores de identificación.

En la Tabla 1 se presentan resultados medios y desviaciones de la producción. Los valores de producción son del mismo orden que los que aparecen en ICAR (2017), con datos españoles de 2014, con valores de 306 kg en primíparas y 363 en múltiparas (promedio general de 333 kg), sin indicar duración de lactación. En Alemania, la producción era superior, 372 kg, mientras que en Eslovaquia era inferior, 227 kg (con periodos de lactación natural de 45 días), en ambos países con lactaciones de 150 días y número de animales reducido (217 y 899 animales, respectivamente). La producción francesa, con 172.836 ovejas en control y 363 rebaños, fue de 299 l en lactaciones de una duración promedio de 170 días (316 l en ovejas (176 días lactación) y 246 en corderas (152 días)) tras un período de lactación natural no concretado.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de los componentes de varianza y los ratios (heredabilidad (h^2) y parte de la varianza total explicada por el efecto permanente (p^2)). La heredabilidad del carácter de producción de leche en lactación estandarizada a 160 días fue de 0,17 (y una repetibilidad de 0,35), valores más bajos que los estimados en la población francesa de ganado Lacaune (0,30 y 0,50; Astruc et al., 2002), ligeramente menores que los valores de algunas razas españolas con lactaciones de 120 días (0,24 en Churra (El Saied et al. (1999); 0,21 en Latxa (Legarra y Ugarte, 2005); y similares a otras (0,16 en Manchega (Ramón et al., 1997).

En Francia, la respuesta genética a la selección por producción de leche se estimó en 5,75 l/año en el período entre los años 1986 y 1999 (Astruc et al., 2002). En la Figura 1 puede apreciarse un ligero avance en el promedio de registros fenotípicos de AESLA en los últimos años (5,73 kg/año). Aunque no se ha analizado convenientemente, la respuesta aparente de valores genéticos promedios por año de nacimiento fue tan sólo de 0,61 kg/año, aunque parece haber una variación importante que aprovechar vía macho (Figura 1). El programa de cría de AESLA ha tenido que rehacerse tras los cambios internos sufridos y debe relanzarse. Es necesario continuar avanzando en el programa de cría de raza Lacaune en España aprovechando la información proporcionada por las evaluaciones genéticas que permita la introducción de machos candidatos en los centros de inseminación nacidos en ganaderías españolas.

Tabla 1. Número de lactaciones, promedios y desviaciones estándar de la producción de leche (Kg) estandarizada a 160 días (KL160), de todas (N, media y desviación) y de primeras lactaciones (N1, media1 y desviación1) en ovejas de raza Lacaune

	N	media	desviación	N1	media1	desviación1
KL160	58.599	337	121	21.146	311	108

Tabla 2. Componentes de varianza y ratios de parte genética aditiva y efecto permanente para el carácter producción de leche en lactación ajustada a 160 días en ovejas de raza Lacaune

	V_p^1	V_a	V_p	h^2	p^2
KL160	8412	1461 (147)	1544 (147)	0,17 (0,017)	0,18 (0,017)

¹ V_p = varianza fenotípica (kg^2); V_a = varianza aditiva (kg^2); V_p = varianza de efecto permanente de hembra (kg^2); h^2 = heredabilidad; p^2 = parte de la varianza fenotípica explicada por efecto permanente

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AESLA. 2018. Disponible en www.lacaune.es
- Astruc, J.M. & Buisson, D. 2019. Disponible en http://idele.fr/no_cache/recherche/publication/idelesolr/recommends/selection-genomique-ovin-lait.html
- Astruc, J. M., Barillet, F., Barbat, A., Clément, V. & Boichard, D. 2002. Proc. 7th WCGALP, Communication No. 01-45.
- El-Saied, U.M., Carriedo, J.A., de la Fuente, L.F. & San Primitivo, F. 1999. J. Dairy Sci. 82(3): 639-644.
- Groeneveld, E., Kovac, M. & Mielenz, N. 2008. User's Guide and Reference Manual, version 6.0
- ICAR. 2017. Disponible en <https://www.icar.org/wp-content/uploads/2017/01/Survey-on-milk-recording-systems-in-cows-sheep-and-goats-2014-2015.pdf>
- ICAR. 2018. Disponible en <https://www.icar.org/Guidelines/16-Dairy-Sheep-and-Goats.pdf>
- Legarra, A. & Ugarte, E. 2005. J. Dairy Sci. 88(6): 2238-2245
- Ramón, M., Fernández-Perea, M.T., Pérez-Guzmán, M.D., Sánchez, P.J. & Serrano M. 2006. ITEA 102(2):115-121

Agradecimientos: A todos los ganaderos de ovino, en especial a los de AESLA, y a todas las entidades públicas que son actrices necesarias para que los programas de mejora sigan avanzando.

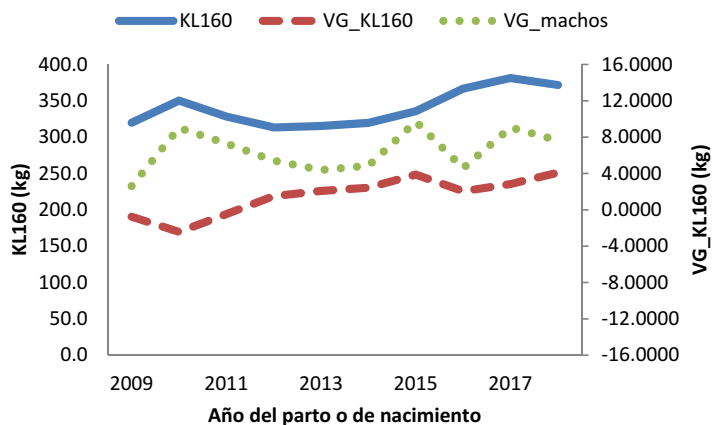


Figura 1. Promedio de producción de leche estandarizada a lactación de 160 días (KL160) por año en que comenzó la lactación y promedio de valores genéticos del mismo carácter para el total de individuos nacidos en cada año (VG_KL160) o sólo de los machos (VG_machos)

LETS START FROM THE BEGINNING: VARIANCE COMPONENTS FOR MILK YIELD IN SPANISH LACAUNE SHEEP

ABSTRACT: A total of 58,599 lactation records with 160-d standardized milk yield (KL160) belonging to 21 herds of Lacaune sheep breed were used to estimate variance components with an univariate animal model with repeated measures. Model included herd-year-season, lactation number and number of lambs born as fixed effects and the additive genetic effect and the permanent effect of the doe as random effects. Estimated heritability was 0.17 and the repeatability was 0.35. Observed phenotypic response was 5.73 kg/y and raw genetic response was 0.6 kg/y considering the period 2009-2018. It seems mandatory to continue the efforts of the AESLA breeders association to carry out the genetic animal breeding program that has been reset.

Keywords: dairy sheep, genetic parameters, milk yield

COMPONENTES DE VARIANZA DE LA PRODUCCIÓN DE METANO EN VACUNO DE LECHE EN ESPAÑA

López-Paredes¹, J., Rey², J., Atxaerandio³, R., García-Rodríguez², A., Goiri², I., Ugarte², E. Ruiz², R., Jiménez-Montero, J.A³, Alenda⁴, R. y González-Recio, O.^{4,5}

¹Federación Española de Criadores de Limusín. ²NEIKER-Tecnalia. ³Confederación de Asociaciones de Frisona Española. ⁴Escuela Técnica Superior De Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas-UPM. ⁵Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.

javierlopez@razalimusin.org

INTRODUCCIÓN

La Unión Europea se ha comprometido a reducir sus emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) en un 40% para el año 2040 en relación con los niveles de 1990. El sector ganadero, particularmente los rumiantes, contribuye aproximadamente con el 12-15% del total de las emisiones antropogénicas de GEI (Havlik et al., 2014). En la UE, el sector ganadero representa aproximadamente el 10-13% de las emisiones totales de GEI (Leip et al., 2010). De los diversos gases de efecto invernadero producidos por los rumiantes, el metano (CH₄) entérico es el más importante, y además supone una pérdida de eficiencia del animal, ya que supone que la energía de la dieta consumida no se transforma en energía útil. La producción de CH₄ es un carácter heredable, pero se requieren mediciones precisas y repetibles de la emisión de CH₄ para evaluar la eficacia de las posibles estrategias de selección para unas menores emisiones de CH₄ (Hammond et al., 2016). El peso relativo de las emisiones de CH₄ se ha estimado entre el 4 y el 12% en los índices de selección. El objetivo de este trabajo es estimar los componentes de varianza del carácter emisiones de CH₄ y su relación con otros caracteres de interés económico para poder establecer estrategias de selección con un peso adecuado sobre las emisiones de metano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se registraron los datos correspondientes a las eructaciones de CH₄ procedentes de 701 vacas en 8 rebaños con robot de ordeño. Las mediciones de metano fueron realizadas utilizando un sensor de infrarrojos no dispersivo (NDIR; Guardian NG Edinburgh Instruments Ltd., Livingston, UK) colocado en el comedero del robot de ordeño, en periodos de 14-21 días. El carácter producción de metano (CH₄) se definió como la concentración media de los picos de eructación por minuto (ppm/min) de cada semana, de manera que se registró un dato de producción de metano por semana para cada animal. Se utilizaron los datos de kg leche (KGL), grasa (KGG) y proteína (KGP) procedentes del control lechero más cercano dentro del periodo de muestreo en estas granjas (Tabla 1). Un total de 204 vacas se genotiparon con el chip Illumina EuroG10K, y 481 machos en genealogía se genotiparon con el chip BovineSNP50 de Illumina. Los genotipos de las vacas fueron imputados a 50K utilizando la población de referencia española usando Beagle (Browning y Browning, 2009).

Tabla 1. Número de datos, media y desviación estándar de producción de metano, y del control lechero para producción de leche, producción de grasa y proteína.

Carácter	n	Media (desviación estándar)
Metano (CH ₄), ppm/min	2.097	3308 (3294)
Leche (KGL), kg/d	701	35,00 (8,82)
Proteína (KGP), kg/d	701	1,15 (0,24)
Grasa (KGG), kg/d	701	1,25 (0,39)

La estimación de componentes de varianza de los caracteres se realizó utilizando diferentes procedimientos: 1) BLUP - evaluación BLUP tradicional utilizando el software BLUPF90 (Mistztal et al., 2009). 2) ssGBLUP - evaluación con el método single-step combinando la información genómica y las relaciones de pedigrí. Los modelos incluyeron los efectos ambientales de rebaño-semana-robot, número de lactación y los días en lactación como covariable. Además se incluyeron los efectos aleatorios permanente y aditivo.

Las correlaciones genéticas se estimaron mediante modelos bicarácter utilizando estadística bayesiana. Además, se calcularon las correlaciones entre los EBVs de CH₄ y el resto de los caracteres del ICO utilizando las valoraciones genéticas oficiales de CONAFE (2018) para los toros con hijas con fenotipo de CH₄.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 muestra la heredabilidad (h^2), repetibilidad (c^2), varianza genética aditiva (σ_a^2), varianza permanente (σ_p^2), y varianza residual (σ_e^2) de CH₄ obtenidas en los análisis. La estima de la h^2 para CH₄ fue de 0,23 con el modelo BLUP. Se obtuvo una estima ligeramente superior con el modelo ssGBLUP: 0,28. La repetibilidad del CH₄ fue alta con ambos modelos (0,67-0,68), lo que sugiere que una gran proporción de varianza fenotípica puede ser explicada por factores relacionados con la dieta, el estado de lactación y el animal, incluida la genética, pero también factores de comportamiento o jerarquías dentro del rebaño que afecten al consumo y la eficiencia individual de los animales. Estos resultados fueron similares a los estimados por Pszczola et al. (2017), quien obtuvo una h^2 para los g/d de CH₄ de 0,27 (0,09) y una c^2 del carácter entre 0,17 y 0,40. Negussie et al. (2017) estimaron una c^2 entre 0,40 y 0,46 para el carácter expresado en l/d, mientras que de Haas et al. (2011) estimaron una h^2 de 0,35 para las emisiones de CH₄ predichas a partir del consumo. Lassen y Løvendahl (2016) estimaron una h^2 de 0,21 (0,06) para los g/d de CH₄.

Tabla 2. Heredabilidad (h^2), repetibilidad (c^2), varianza genética aditiva (σ_a^2), varianza permanente (σ_p^2), y varianza residual (σ_e^2) de emisiones de CH₄ para la valoración genética tradicional (BLUP) y mediante la valoración single step (ssGBLUP).

Modelo	h^2	c^2	σ_a^2	σ_p^2	σ_e^2
BLUP	0,23	0,67	470 (229)	889 (207)	648 (25)
ssGBLUP	0,28	0,68	561 (240)	817 (209)	648 (25)

La Tabla 3 muestra las medias y desviaciones estándar de las distribuciones posteriores de los componentes de varianza estimados en los modelos bicarácter. La h^2 fue superior a la estimada en BLUP y en ssGBLUP. Se estimó una correlación negativa con KGL (-0,13). Esta correlación fue contraria a la estimada por Lassen y Løvendahl (2016) con la producción de leche corregida por contenido de grasa y proteína (0,43). También se estimó una correlación negativa con KGG (-0,21), pero positiva con KGP (0,06). Estas estimas fueron similares a las de Kandel et al. (2017) para KGL (entre -0,24 y -0,19) y KGP (entre -0,05 y -0,04), pero de signo contrario para KGG (entre 0,11 y 0,12), pero también bajas y cercanas a cero. En todos los casos las distribuciones posteriores tienen una amplia desviación estándar y contienen a cero. Así, estas correlaciones pueden definirse como bajas o nulas.

Tabla 3. Heredabilidad (h^2), repetibilidad (c^2), varianza genética aditiva (σ_a^2), varianza permanente (σ_p^2) y varianza residual (σ_e^2), covarianza y correlación genética con las emisiones de CH₄ en el modelo bicarácter de producción de leche (KGL), producción de proteína (KGP) y producción de grasa (KGG) expresadas en kg/d y CH₄ expresado en ppm/min.

	h^2	c^2	σ_a^2	σ_p^2	σ_e^2	$r_{CH_4,xi}$
CH ₄	0,34(0,12)	0,68(0,25)	694 (345)	727(292)	651 (248)	-
KGL	0,31(0,08)	0,97(0,20)	18,53(5,22)	39,94(5,54)	1,16(0,04)	-0,13(0,39)
KGP	0,33(0,10)	0,96(0,10)	0,02(0,01)	0,03(0,01)	0,00(0,00)	0,06(0,39)
KGG	0,15(0,09)	0,90(0,20)	0,02(0,01)	0,08(0,01)	0,02(0,00)	-0,21(0,46)

La Tabla 4 muestra las correlaciones entre los valores genéticos de los padres de las hijas con fenotipo de CH₄, siendo bajas pero positivas con KGG y KGP, y negativas con KGL. Se obtuvieron correlaciones más fuertes del CH₄ con la estatura (0,12-0,15) y la fertilidad (0,25-0,27) expresada en días abiertos, asociando una mayor producción de CH₄ a aquellos animales con un mayor tamaño y una mejor fertilidad. Hay pocos trabajos en la literatura que relacionen el carácter emisión de CH₄ con otros caracteres de interés productivo, encontrándose correlaciones ligeramente favorables entre el peso vivo y CH₄ (Lassen y Løvendahl, 2016).

Tabla 4. Correlaciones estimadas entre el valor genético de metano de los modelos BLUP y ssGBLUP con los valores genéticos estimados en las evaluaciones genéticas oficiales de CONAFE (2018) (n=208 toros con hijas en los datos) para producción de leche (KGL), producción de grasa (KGG), producción de proteína (KGP), estatura (EST), ICO, recuento de células somáticas (RCS), días abiertos (DA). (En negrita se muestran aquellos con P<0.01).

	KGL	KGG	KGP	EST	ICO	RCS	IPP	ICU	ICAP	BCS	LONG	DA
BLUP	-0,02	0,07	0,01	0,12	0,04	-0,05	0,03	-0,09	0,01	0,05	0,05	0,25
ssGBLUP	-0,03	0,07	0,00	0,15	0,05	-0,05	0,06	-0,06	0,05	0,06	0,07	0,27

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la producción de CH₄ tiene una componente genética relevante que explica alrededor de una cuarta parte de la varianza fenotípica. Además, las correlaciones genéticas con los principales caracteres del objetivo de selección son cercanas a cero, y por tanto hay un parece que habría margen de mejora del carácter sin perjudicar la productividad de la población. Sin embargo, es importante tener en cuenta la correlación desfavorable con la fertilidad en este estudio y debería en tal caso ponderarse correctamente en los índices de selección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Browning, B.L. & Browning, S.R. 2009. The American Journal of Human Genetics 84:210-223.
- de Haas, Y. et al. 2011. Journal of Dairy Science 94(12): 6122–6134.
- Garnsworthy, P.C., et al. 2012. Journal of Dairy Science 95(6): 3166-3180.
- Hammond, K.J. et al. 2016. Animal Feed Science and Technology 219: 13-30.
- Havlík, P. et al. 2014. PNAS 111 (10): 3709-3714.
- Kandel, P.B. et al. 2017. Journal of Dairy Science 100(7): 5578-5591.
- Lassen, J. & Løvendahl, P. 2016. Journal of Dairy Science 99(3): 1959-1967.
- Leip, A. et al. 2010. Evaluation of the livestock sector's contribution to the EU greenhouse gas emissions (GGELS).
- Misztal, I. et al. 2002. In Proceedings of the 7th world congress on genetics applied to livestock production 33: 743-744.
- Negussie, E. et al. 2017. Animal 11(5): 890-899.
- Pszczola, M. et al. 2017. Journal of Animal Science 95(11): 4813-4819.

Agradecimientos: Los autores agradecen la colaboración de los ganaderos participantes, y de la Federación Frisona de Euskadi (EFRIFE).

VARIANCE COMPONENT OF METHANE EMISSION IN SPANISH HOLSTEIN POPULATION

ABSTRACT: Data from 701 cows of methane production were analyzed through three proceedings: traditional BLUP, single step GBLUP (ssGBLUP) and multiple trait BLUP using Bayesian theory. Heritability for methane was 0.23, 0.28, and 0.34 in BLUP, ssGBLUP, and multiple trait analyses, respectively. Genetic correlations of methane with milk yield, protein and fat production were -0.30, 0.06, and -0.20, respectively. The correlations between EBVs for methane and EBVs from other traits in the ICO were computed, resulting in low to moderate correlations between methane and size or fertility.

Keywords: methane, dairy, single-step GBLUP, genomic selection, heritability.

INTERACCIÓN GENOTIPO-AMBIENTE PARA INTERVALO ENTRE PARTOS EN BROWN SWISS: ANALISIS BIVARIADO Y DE NORMA DE REACCIÓN.

Martinez Castellero¹, M., Tempelman², R., de los Campos³, G., Vazquez³, A.I., Toledo Alvarado⁴, H., Varona⁵, L. y Cecchinato¹, A.

¹Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, University of Padua, Legnaro (PD), Italy. ²Department of Animal Science, y ³Department of Epidemiology and Biostatistics, Michigan State University, East Lansing, USA. ⁴Department of Genetics and Biostatistics, National Autonomous University of Mexico, Mexico City, México. ⁵Unidad de Genética Cuantitativa y Mejora Animal, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain.
mmartinezcastillero@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La presencia de interacción genotipo-ambiente (G x E) implica que la ordenación de los candidatos a la reproducción dependa del ambiente y, por lo tanto, debe tenerse en cuenta en los procedimientos de valoración genética de reproductores. En la literatura, existen varios procedimientos para considerar la interacción G x E como los modelos multivariantes o los de norma de reacción (Standberg et al., 2000). En los modelos multivariantes, los datos se agrupan como distintos caracteres (Falconer, 1960) en función de algún parámetro ambiental (i.e. humedad), mientras que los modelos de norma de reacción, el genotipo se define como función de un gradiente ambiental (Falconer, 1990). En este trabajo se utilizan modelos bivariantes y de norma de reacción para el intervalo entre partos (CI) de la población Brown Swiss italiana. El criterio ambiental es el nivel de energía de la leche (dMEO, MJ/día) promedio por año y rebaño, que se usa para definir ambientes en función del tipo del manejo recibido por los animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio, se han utilizado datos procedentes de la base de datos Bolzano (Italia). En concreto se utilizaron los registros de intervalo entre partos obtenidos entre 2010 y 2017, que se filtraron del siguiente modo: animales con el primer parto registrado y procedentes de machos con al menos 5 hijas localizadas en rebaños con más de 10 registros. Además, la genealogía se expandió 3 generaciones. La base de datos final consistió en 11.425 datos, localizados en 850 rebaños y una genealogía de 28.191 animales que incluyeron 1.652 machos.

El nivel de energía (dMEO -MJ/día-) se utilizó para definir ambientalmente a las combinaciones de año y rebaño. El dMEO se calculó teniendo en cuenta la producción de leche, grasa, proteína y porcentaje de lactosa (Stocco et al., 2017), después de corregir por orden de parto, estación, días de producción y rebaño-año. Los valores medios de dMEO para cada combinación de año y rebaño se convirtieron en polinomios de legendre (Mrode, 2016). El modelo de análisis bajo los dos modelos incluyó los efectos ambientales orden de parto, año-estación y rebaño. Los modelos resultantes fueron los siguientes. El modelo bivariado fue definido como:

$$y_{ENV} = Xb + Wh + Za + e$$

donde y_{ENV} son los vectores de fenotipos para los dos ambientes, HEL (alta energía) y LEL (baja energía); X, W, Z y b, h y a corresponden a las matrices de incidencia y vectores de los correspondientes efectos ambientales y genéticos, y e . El modelo de norma de reacción fue definido como:

$$y_j = \beta_1 + b_F + W_{h_j} + A_{a_j} + A_{b_j}X_j + e_j$$

donde y_j es el vector de fenotipos de CI para la vaca j , β_1 corresponde con la covariada fija de MEO, b_F y W_{h_j} corresponde a los efectos ambientales; X_j corresponde al ambiente definido de nivel de energía y A_{b_j} corresponden al intercepto y pendiente de la norma de reacción sobre la vaca j , y e_j corresponde a los efectos residuales. Los análisis se implementaron mediante máxima verosimilitud restringida (Patterson y Thompson, 1971) mediante el programa AIREMLF90 (Misztal et al., 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis bivariado se presentan en la Tabla 1 para los ambientes HEL y LEL. En general, se obtuvieron estimaciones mayores (8,3, 11,7 y 9,5%) para el LEL, aunque las estimaciones de heredabilidad fueron similares (0,054 y 0,055). Finalmente, la correlación genética entre ambientes fue 0,707.

Los resultados del modelo de norma de reacción se presentan en la tabla 2. A lo largo del gradiente ambiental desde el nivel más bajo al más alto de energía (dMEO 30-110 MJ/día), la varianza genética se incrementa en un 33,7% (317,4 vs. 424,4) y la varianza residual se reduce en un 39,9% (6375,3 vs. 3831,5). Como consecuencia, la estimación de la heredabilidad se duplica (0,047 vs 0,100), aunque el incremento de produce sobre todo en ambientes con dMEO > 90.

Los resultados de correlación genética a lo largo del gradiente ambiental se presentan en la tabla 3. A nivel general, la correlación genética fue cercana a la unidad entre ambientes adyacentes y se redujo hasta 0,59 en los niveles de energía menores (30 MJ/día) y mayores (110 MJ/día).

En los dos modelos se observa como la varianza residual es mayor para los niveles más bajos de energía. Este resultado puede ser indicativo de un mejor manejo en los ambientes de alta producción. Sin embargo, los resultados de la varianza aditiva no son claros, ya que en el modelo de norma de reacción se incrementa, y con ella la heredabilidad, con los niveles de energía, mientras que en el modelo bivalente se reduce. Aparentemente, el modelo de norma de reacción proporciona una visión más profunda de la interacción genotipo-ambiente, aunque los resultados de comparación de modelo mediante el logaritmo de la verosimilitud (131194,6 vs 131197,09 para los modelos bivariados y de norma de reacción, respectivamente) y AIC (131208,60 vs. 131209,09) no son concluyentes. Por lo tanto, es necesario un análisis más profundo que incluya más categorías ambientales en el caso bivalente o definiciones más precisas del nivel de energía.

Tabla 1. Estimaciones de máxima verosimilitud restringida de los componentes de varianza para el carácter intervalo entre partos con el modelo bivariado.

	σ_A^2	σ_{herd}^2	σ_e^2	h^2 (SE)	r
CI_HEL ¹ ,d	285,5	490,8	4898,0	0,055 _(0,015)	0,707
CI_LEL ² ,d	311,5	555,5	5409,1	0,054 _(0,006)	

CI_HEL¹,d = intervalo entre partos y ambiente de alta energía, CI_LEL²,d= intervalo entre partos ambiente de baja energía

Tabla 2. Estimaciones de máxima verosimilitud restringida de los componentes de varianza para el carácter intervalo entre partos a lo largo del gradiente ambiental definido por dMEO (MJ/día) mediante un modelo de norma de reacción.

dMEO	σ_A^2	σ_e^2	h^2 (SE)
30	317,4	6375,3	0,047 _(0,003)
40	297,3	5982,2	0,047 _(0,003)
50	286,8	5613,3	0,049 _(0,003)
60	285,8	5267,2	0,051 _(0,003)
70	294,4	4942,4	0,056 _(0,003)
80	312,6	4637,6	0,063 _(0,003)
90	340,3	4351,6	0,073 _(0,004)
100	377,6	4083,3	0,085 _(0,004)
110	424,4	3831,5	0,100 _(0,004)

Tabla 3. Estimadores de máxima verosimilitud restringida de la correlación genética a lo largo del gradiente ambiental definido por dMEO (MJ/día) para el carácter intervalo entre partos y mediante un modelo de norma de reacción.

dMEO	30	40	50	60	70	80	90	100	110
30	1,00	0,99	0,97	0,93	0,88	0,81	0,74	0,67	0,59
40		1,00	0,99	0,97	0,93	0,88	0,81	0,75	0,69
50			1,00	0,99	0,97	0,93	0,88	0,83	0,77
60				1,00	0,99	0,97	0,93	0,89	0,85
70					1,00	0,99	0,97	0,94	0,91
80						1,00	0,99	0,98	0,95
90							1,00	0,99	0,98
100								1,00	0,99
110									1,00

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Falconer, D.S.S. 1960. Introduction to Quantitative Genetic. • Falconer, D. S. 1990. Selection in different environments: effects on environmental sensitivity (reaction norm) and on mean performance. Genet. Res. 56: 57–70 • Misztal, I., Tsuruta, S., Lourenco, D., Aguilar, I., Legarra, A., & Vitezica, Z. 2015. Manual for BLUPF90 family of programs. University of Georgia, Athens, USA, 125. • Mrode, R. A. 2016. Linear Models for the Prediction of Animal Breeding Values. 3rd edition • Strandberg, E., Kolmodin, R., & Madsen, P. 2000. Genotype by environment interaction in Nordic dairy cattle studied by use of reaction norms. Interbull Bulletin 25: 41–45

Agradecimientos: Agradecemos a la “Associazione Provinciale delle Organizzazioni Zootecniche Altoatesine/Vereinigung der Südtiroler Tierzuchtverbände”, de Bolzano, Italia, por proporcionar los datos. También agradecemos a la asociación italiana de ganaderos de Brown Swiss (ANARB, Verona, Italia) y a la asociación italiana de ganaderos de Simmental (ANAPRI, Udine, Italia) por facilitar los datos de pedigrí para el estudio.

GXE INTERACTION IN FERTILITY TRAIT CALVING INTERVAL IN BROWN SWISS CATTLE. BIVARIATE ANALYSIS AND LINEAR REACTION NORM.

ABSTRACT: Different environments can contribute to differential expression of polygenic effects in dairy cows, leading to re-ranking of sires across environments. For this study, genetic parameter estimation and inference of GxE was done by bivariate and linear reaction norm with heterogeneous residual variance (RN) models in Italian breed Brown Swiss for fertility trait calving interval (CI) (records from database of Alto Adige, Italy). Herd-year specific daily milk energy levels (dMEO, MJ/day) were defined as environments in terms of production management. The animal model included parity, year-season of calving and herd as non-genetic effects, analyzed by software program AIREMLF90. In bivariate model, genetic and residual effects showed a higher variation in LEL environments compared to HEL. Heritability estimates were almost the same in both environments and genetic correlation between environments was 0.707. In RN models, genetic parameter estimates and heritability increased while residual effects decreased across the environmental gradient from lowest to highest energy levels of dMEO (30-110 MJ/day). Log-likelihood test and AIC values obtained were similar for both models. In conclusion, RN models seemed to capture some interaction between GxE across the environmental gradient compared to bivariate models, which should be taken into account for breeding programs.

Keywords: GxE, fertility, reaction norm model

PÉRDIDAS DE PRODUCCIÓN DEBIDAS A PATOLOGÍAS POSTPARTO EN VACUNO LECHERO

Pérez-Cabal¹, M.A., Blanco¹, J. y Charfeddine², N.

¹Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Avda. Puerta de Hierro, s/n 28040 Madrid. ²Dpto. Técnico CONAFE. Ctra. de Andalucía, Km. 23,6. 28340 Madrid. mapcabal@vet.ucm.es

INTRODUCCIÓN

La mejora de la salud de los animales se está convirtiendo en una tarea de máxima prioridad en todo el mundo debido a su efecto sobre la economía de la ganadería, el bienestar de los animales y, sobre todo, porque la seguridad alimentaria es de creciente interés tanto para el consumidor como para las autoridades sanitarias. CONAFE, consciente de la magnitud del problema, ha diseñado en colaboración con la Facultad de Veterinaria de Madrid un proyecto llamado proyecto I-SA para la recogida de información sobre salud animal en las ganaderías de vacuno de leche. El objetivo de este trabajo es cuantificar las pérdidas que ocasionan algunas patologías que afectan la salud de la vaca en los primeros días post parto sobre la producción de leche y los costes que suponen para el ganadero.

MATERIAL Y MÉTODOS

La recogida de datos del proyecto I-SA comenzó en 2016. En la provincia de Lugo (Galicia), los datos son registrados por el controlador en el segundo control de cada lactación. En el resto de España los datos los recogen los propios ganaderos, que previamente fueron seleccionados y entrenados para la recogida de información. Aunque se recoge información sobre 12 patologías, en este trabajo se han tenido en cuenta solo las siguientes enfermedades, que afectan a las vacas en el postparto: Desplazamiento de abomaso (ABO), cetosis subclínica (CETSUB), cetosis clínica (CETCL), mastitis (MAM), metritis (MET) y retención de placenta (RPL). La CETCL corresponde a los datos recogidos por los ganaderos mientras CETSUB son datos recogidos por el controlador. En este trabajo se consideró que una vaca presenta CETSUB cuando el nivel de BHBA en leche fue igual o superior a 0,10 μmol/L. Las vacas fueron clasificadas como sanas (0) o enfermas (1) para cada uno de los caracteres de salud registrados por lactación. La información utilizada correspondió a registros entre enero 2016 y junio 2018. Sólo se consideraron los datos de vacas que presentaron una única patología en los primeros 67 días de lactación para evitar solapar los efectos. Se han utilizado los datos de los dos primeros controles facilitados por el control lechero para calcular la leche producida a 67 días corregida por energía para un contenido del 4% de grasa y 3,3% de proteína (ECM67).

Las pérdidas de producción debidas a cada una de los problemas de salud se estimaron mediante análisis de asociación realizados con el procedimiento GLIMMIX de SAS, diferenciando entre vacas primíparas y múltiparas y el origen de los datos (Galicia; Resto). El modelo mixto de análisis para los datos de primera lactación incluyó el valor genético de producción de leche como covariable, la enfermedad, la estación de parto y el grupo de comparación lactación edad como efectos fijos y el rebaño como efecto aleatorio. Para las vacas de segundo parto en adelante se consideraron, además, el efecto fijo número de lactación y el efecto ambiental permanente como aleatorio para tener en cuenta las medidas repetidas. En la Tabla 1 se resume la información de cada set de datos.

Las pérdidas económicas se calcularon teniendo en cuenta un precio base de 0,32 €/kg de leche y una bonificación por grasa y proteína de 2,4 c€/décima y 3,0 c€/décima, respectivamente. Para calcular el coste de producir 1 kg de ECM se asumió que la pérdida de producción va acompañada de una pérdida de ingesta de la energía necesaria para producir dicho kilo leche. Para estimar las necesidades energéticas de producir un kilo de leche a un % de grasa y un % de proteína determinados se siguieron las pautas del INRA (Wilmink, 1988). El coste considerado de la unidad forrajera para producir leche es de 0,26 €/UFL.

Tabla 1. Número de registros en cada set de datos (n), prevalencia por lactación de cada patología y niveles de los efectos incluidos en el modelo para los análisis (LAE: Lactación-edad; Reb: rebaño; Perm: efecto ambiental permanente).

Patología ¹	Primíparas				Múltiparas				
	n	Prevalencia	LAE	Reb	n	Prevalencia	LAE	Reb	Perm
Galicia									
ABO	2318	2,9%	5	37	4509	2,1%	62	37	3360
MAM	2318	3,2%	5	37	4509	3,3%	62	37	3360
MET	2008	6,7%	5	36	4024	4,8%	58	36	2999
RPL	2616	4,3%	5	46	5145	4,7%	62	36	4836
CETSUB	2823	8,29%	5	52	5553	15,70%	64	52	4143
Resto									
ABO	5483	0,7%	5	22	8360	1,3%	69	22	6110
MAM	6141	1,8%	6	29	9344	5,1%	68	29	7008
MET	5580	3,6%	5	24	8516	2,7%	68	24	6336
RPL	5805	2,6%	6	26	8777	3,3%	68	26	6572
CETCL	4565	1,1%	5	17	6959	1,7%	66	17	5110

¹ABO: Desplazamiento de abomaso; MAM: Mamitis; MET: Metritis; RPL: Retención de placenta; CETSUB: Cetosis subclínica; CETCL: Cetois clínica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las prevalencias de las patologías estudiadas fueron mayores en las primíparas que en partos posteriores, excepto para MAM y cetosis. En general los valores fueron bajos, salvo la prevalencia de CETSUB. Así, de entre las demás, ABO es la patología menos frecuente (0,73%-2,90%) y MET la más prevalente (2,65%-6,67%). Se observaron diferencias entre los datos recogidos por los controladores en Galicia y por los ganaderos en el resto de España, en cualquiera de las lactaciones (Tabla 1). Las prevalencias podrían estar indicando que los ganaderos no son tan exhaustivos registrando la información como los controladores. Es complicado comparar las prevalencias con otros estudios dado que los periodos de estudio son distintos.

Tabla 2. Estimación de las pérdidas en producción de leche a 67 días debidas a las diferentes patologías de estudio, en vacas de primera lactación y segunda o posteriores.

	ECM67 (kg/d)	Porcentaje ¹	ECM67 (kg/d)	Porcentaje ¹
Galicia				
ABO	-1,43 ^{n.s.}	-4 ^{n.s.}	-6,79	-15
MAM	-1,17	-4	-2,39	-6
MET	-1,42	-5	-2,21	-5
RPL	-1,52	-5	-3,12	-7
CETSUB	0,95	3	1,95	4
Resto				
ABO	-3,35	-11	-7,73	-19
MAM	-1,15	-4	-1,42	-3
MET	-1,53	-5	-1,72	-4
RPL	-2,16	-7	-2,20	-5
CETCL	-1,07 ^{n.s.}	-4 ^{n.s.}	-1,07 ^{n.s.}	-3 ^{n.s.}

^{n.s.} Estadísticamente no significativo

¹ Respecto a la media de producción de vacas sanas

Las pérdidas de producción presentaron ciertas similitudes en ambos set de datos (Tabla 2). ABO fue la patología que más afectó a la producción tanto en vacas primíparas como múltiparas respecto a las sanas (entre 11% y 19%), seguido de RPL (entre 5% y 7%), MET (entre 4% y 5%) y MAM (entre 3% y 6%). La cetosis clínica no ha resultado estadísticamente significativa para ninguna lactación, pero sorprendentemente, la subclínica ha dado lugar a un efecto positivo tanto en primer parto como en partos posteriores. Otros estudios encontraron pérdidas entre 0,5kg/d y 2,3kg/d por CETSUB en los días cercanos al diagnóstico pero sin consecuencias significativas en el total de la lactación, al igual que ocurría con CETCL (p.e., Deluyker et al., 1991). Rowlands y Lucey (1986) también observaron un aumento de la

producción lechera en la lactación completa en vacas con CETCL y CETSUB, respectivamente. La cetosis es un desorden metabólico que está asociado generalmente con vacas de alta producción. Dado que el nivel productivo está ajustado en el modelo, el efecto positivo podría ser debido a que el umbral de BHBA utilizado para definir las vacas con CETSUB podría no ser apropiado. La RPL dobla las pérdidas de las vacas multíparas de Galicia respecto a en las primíparas mientras que en el resto de España no hubo diferencias por lactación, aunque los porcentajes en ambas zonas fueron similares. La reducción de producción por MAM y MET estuvo comprendida entre 1,15 kg EMC/d y 3,12 kg EMC/d, siendo ligeramente más importante las de MET probablemente porque es una patología que se concentra en el periodo de tiempo analizado mientras que MAM puede ocurrir también en otros periodos más amplios. En la Figura 1 se muestran el coste medio de las pérdidas de producción ocasionado por las patologías estudiadas. Teniendo en cuenta que el beneficio neto medio de 1 kilo de ECM en Galicia fue de 0,21 €/kg y en el resto de granjas 0,22 €/kg, el coste medio de las pérdidas de producción acumulada a 67 días estadísticamente significativas estuvo comprendido entre 16 €/vaca y 105 €/vaca. Como conclusión, en este estudio sólo se ha considerado una a una cada patología y los costes derivados de una disminución de la producción al principio de la lactación. Sería interesante estimar las pérdidas por lactación completa y cuantificarlas junto con otros costes directos e indirectos.

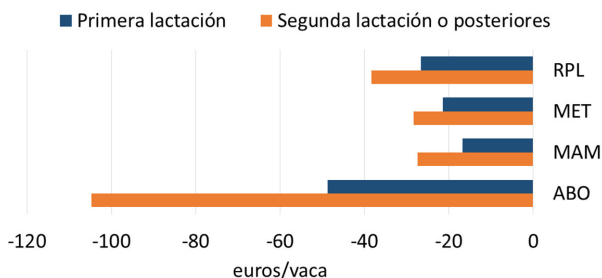


Figura 1. Coste económico medio de las pérdidas de producción a 67 días debido a desplazamiento de abomaso (ABO), mastitis (MAM), metritis (MET), y retención de placenta (RPL).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Deluyker, H.A. et al. 1991. J. Dairy Sci. 74: 436-445.
- Rowlands, G.J & Lucey, S. 1986. Prev. Vet. Med. 4: 205-221.
- Wilmink J.B.M. 1988. Livest. Prod. Sci. 20: 299-316.

Agradecimientos: Los autores agradecen a CONAFE la financiación (convenios 4155680 y 4156558 UCM-CONAFE), así como a AFRICOR Lugo, a todos los controladores y ganaderos involucrados en el programa I-SA por colaborar en la recogida de la información.

MILK LOSSES DUE TO POSTPARTUM PATHOLOGIES IN DAIRY MILK

ABSTRACT: The aim of this study was to quantify milk losses in performance at 67 days in milk due to six postpartum pathologies: displaced abomasum (ABO), mastitis (MAM), metritis (MET), retained placenta (RPL), clinical ketosis (CETCL), and subclinical ketosis (CETSUB). Either for cows in first lactation or for cows in later lactations, CETCL was not statistically significant, while CETSUB showed a positive effect on energy corrected milk (ECM67) probably due to the BHBA threshold set to indicate the positive diagnosis of this pathology. The disease with most impact on milk performance was ABO, followed by RPL, MAM, and MET. The costs of milk losses at 67 days in milk ranged from 16€/cow to 105€/cow.

Keywords: milk loss, cost.

ANÁLISIS INTEGRATIVO DE DATOS GENÓMICOS RELACIONADOS CON LA GRASA INTRAMUSCULAR DEL CERDO

Gonzalez-Prendes¹, R., Ramayo-Caldas², Y., Ros-Freixedes¹, R., Solé¹, E., Estany¹, J. y Pena¹, RN.

¹ Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida–Agrotecnio Center, Lleida. ²Animal Breeding and Genetics Program, IRTA, Torre Marimon, Caldes de Montbui. rayner.prendes@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

Los avances en la genómica han permitido el análisis de diferentes fuentes de información biológica en paralelo, incluyendo información genómica, transcriptómica, epigenómica, proteómica y metabolómica (Hasin et al., 2017). En cerdos el estudio de cada uno por separado ha permitido obtener importantes avances en el conocimiento de las bases moleculares de los caracteres como la grasa intramuscular (GIM; Wang et al., 2017) y su composición (Estany et al., 2017). Los análisis integrativos prometen brindar información más completa sobre los sistemas biológicos en estudio (Cesar et al., 2018). En este trabajo se ha implementado un análisis integrativo de información genotípica y transcriptómica con fenotipos de GIM y su composición medidos en cerdos Duroc con el fin de identificar SNPs, factores de transcripción y genes candidatos asociados al metabolismo de los lípidos en esta población.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras biológicas y diseño experimental: Se partió de una población de 256 cerdos Duroc criados en condiciones comerciales. Se realizó la extracción de los lípidos totales de las muestras de *gluteus medius* de toda la población y el contenido de GIM y su composición fueron cuantificados por cromatografía de gases (Bosch et al., 2009). Se seleccionaron 40 animales distribuidos equilibradamente entre dos tratamientos de vitamina A (con y sin suplemento) en la dieta para secuenciar el transcriptoma del músculo semimembranoso. **Datos de genotipado y control de calidad:** Toda la población fue genotipada con el Porcine SNP 70K BeadChip (GeneSeek, Illumina). En el control de calidad se eliminaron los SNPs localizados en más de dos posiciones, los que tenían una frecuencia alélica inferior al 5 % y los que mapearon en los cromosomas sexuales. Finalmente, se obtuvieron un total de 41.135 SNPs informativos con una tasa de genotipado superior al 95%. **Medición de la expresión génica mediante RNA-seq:** Se aisló el ARN de las 40 muestras de músculo semimembranoso mediante TRI Reagent (Invitrogen) y el kit *Direct-zol™ RNA Miniprep Plus* (Zymo Research). Después de comprobar la integridad, las muestras fueron secuenciadas en el Centre Nacional d'Anàlisi Genòmica en un equipo HiSeq 2500XL (Illumina, Inc.). Las muestras fueron mapeadas con el programa STAR (Dobin et al., 2013) de acuerdo al genoma de referencia porcino Sscrofa11.1 y los transcritos se cuantificaron con el programa Feature Counts (Liao et al., 2014). **Análisis de los datos:** Se realizó un análisis de asociación GWAS y se seleccionaron los genes y SNPs localizados en las regiones asociadas a GIM y su composición. Mediante un análisis factorial entre grupos con el programa *Multi-Omics Factor Analysis* (Argelaguet et al., 2018), detectamos los factores que mejor capturan la variación en las tres fuentes de información: fenotipos, SNPs y RNAseq en el subgrupo de 40 cerdos seleccionados. De esta forma, se obtuvieron tanto los ejes que mejor describen/capturan las variables latentes de heterogeneidad específicas de cada uno, así como las compartidas por las tres fuentes de datos y que por consecuencia sugieren fuentes de interacción. Por último, para detectar factores de transcripción (TF) relacionados con los genes candidatos obtenidos con MOFA, se calculó el factor de impacto de regulación génica (RIF) (Reverter et al., 2010). Con este valor RIF identificamos los TF co-expresados con genes diferencialmente expresados según la suplementación con vitamina en el pienso de los cerdos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio GWAS con los 256 animales se identificaron 30 regiones génicas asociadas a 8 caracteres de GIM y su composición, distribuidas en los cromosomas SSC1, SSC2, SSC3, SSC4, SSC5, SSC7, SSC8, SSC9, SSC12 y SSC14. En total, se seleccionaron 290 genes y 555 SNPs en estas regiones con los que se realizó el análisis multifactorial para identificar genes y SNPs candidatos relacionados con el metabolismo de los ácidos grasos.

Se encontraron un total de 5 factores de variación latentes (LF1 a 5) que explican al menos un 2 % de la varianza en uno de los grupos de datos. De forma acumulativa, los 5 factores identificados explicaron el 23% de la variabilidad de la expresión de los genes, el 60 % de los fenotipos estudiados y el 68 % de la variación de los SNPs (**Figura 1**). De ellos, 4 fueron específicos de uno de los grupos de datos (LF2 – fenotipos, LF3 – SNPs y LF4/5 - expresión). En cambio, LF1 fue el que mayor porcentaje de la varianza explicó en las 3 matrices (SNPs, RNAseq y fenotipos), indicando una co-variación conjunta (interacción) de las tres fuentes de información. Como estudio preliminar, nos centramos en el factor LF1 y seleccionamos los 40 genes y 40 SNPs con valores más extremos de **loading factor** (cargas de las variables en el factor latente).

Entre los genes seleccionados se encuentran, entre otros, el gen “*stearoyl-CoA desaturase*” (*SCD*) que interviene en la formación de ácidos grasos monoinsaturados, ampliamente estudiado en nuestra población (Ros-Freixedes et al., 2016; Estany et al., 2014), el “*cytochrome c oxidase homologo 15*” (*COX15*), que participa en la cadena respiratoria mitocondrial (Petruzzella et al, 1998) y el “*ATP binding cassette subfamily C member 2*” (*ABCC2*) cuya función está relacionada con el transporte de moléculas a través de las membranas celulares. De los 40 genes y 40 SNPs, el 30 % co-localizaron en la misma región genómica SSC14 (108-114 Mb; **Tabla 1**) mientras que el resto mapearon en regiones diferentes. La sobrerepresentación de la región del SSC14 probablemente responda a un efecto de arrastre del gen *SCD* sobre la expresión de los genes vecinos, un efecto conocido como “*expression piggybacking*”, descrito en varias especies y que representa una fuente más de variabilidad en la expresión de los genes (Ghanbarian y Hurst, 2015).

Tabla 1. Colocalización de genes y SNPs con valores extremos en el Factor de variación latente 1 (LF1) en la región SSC14:108-114 Mb.

Región	Gen (acrónimo)	loading factor	SNPs en la región	loading factor
SSC14(108,9-108,9 Mb)	<i>HOGA1</i>	0,02	INRA0046585	0,81
SSC14(109,0-109,1 Mb)	<i>ZFYVE27</i>	0,03	ASGA0066024	0,81
SSC14(110,9-111,0 Mb)	<i>ABCC2</i>	-0,05	ASGA0066098	1,13
SSC14(111,5-111,6 Mb)	<i>SEC31B</i>	0,07	MARC0050687	1,00
			WU 10,2 14 122239321	-1,85
SSC14(112,3-112,5 Mb)	<i>BTRC</i>	-0,03	INRA0046731	-1,85
			MARC0083967	-1,85
SSC14(112,6-112,7 Mb)	<i>FBXW4</i>	-0,07	ASGA0066158	-1,85
SSC14(113,8-113,8 Mb)	<i>AS3MT</i>	-0,02	INRA0046767	0,98
SSC14(113,4-113,4 Mb)	<i>CUEDC2</i>	-0,03	DIAS0004744	-1,72
SSC14(114,4-114,5 Mb)	<i>NEURL1</i>	-0,02	H3GA0042130	0,98
			ASGA0066225	0,98

Con el objetivo de comprender mejor la regulación de los genes que más discriminan según el LF1 y conocer si existe un efecto de la vitamina A sobre su regulación se calculó el factor RIF. Con este enfoque, seleccionamos los 60 TF más extremos según el valor RIF, donde destacan el receptor del ácido retinoico beta (RARβ), cuya función se ha demostrado que promueve la oxidación de los ácidos grasos y contribuye el control de la homeostasis (Li et al., 201; Levi et al., 2015), y algunas de sus parejas con las que forman heterodímeros (LXRβ), o con los que compiten (YY1); dos miembros de la familia homeobox (HOXA13 y

HOXD8), cuya expresión es afectada directamente por el ácido retinoico (Szatmari et al., 2010; Marshall et al., 1996); o el regulador de la actividad mitocondrial PPRC1.

En conclusión, aunque los resultados son preliminares, la integración de datos fenotípicos, genotípicos y transcriptómicos nos ha permitido identificar fuentes de variación entre los genes expresados y los SNPs, así como posibles fenómenos de arrastre de expresión.

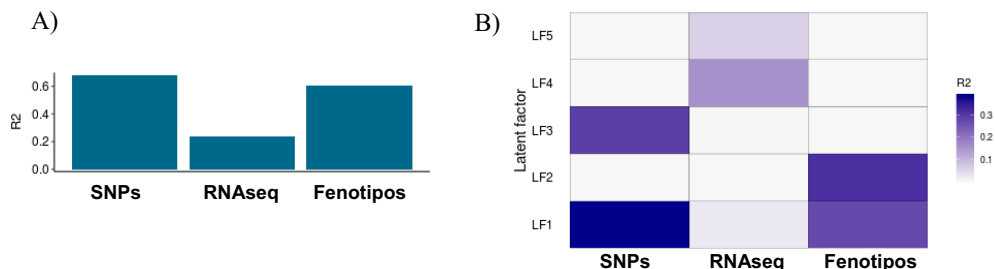


Figura 1. Varianza explicada por los factores latentes (LF). A) Total de la varianza explicada (R^2) por los 5 factores en cada grupo de datos. B) Varianza capturada por cada factor en los tres grupos de datos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Argelaguet, R. et al. 2018. *Mol. Syst. Biol.* 14: e8124. • Bosch, L. et al. 2009. *Meat Sci.* 82: 432-437. • Cesar, A.S.M. et al. 2018. *BMC Genomics.* 19: 499. • Dobin, A. et al. 2013. *Bioinformatics* 29:15-21. • Estany, J. et al. 2017. *J Anim. Sci.* 95: 2261-2271. • Ghanbarian, A.T. & Hurst, L.D. 2015. *Mol. Biol. Evol.* 32: 1748-66. • Hasin, Y. et al. 2017. *Genome Biol.* 18:83. • Levi, L., et al. 2015. *Nat. Commun.* 6: 8794. • Li, Y. et al. 2013. *J. Biol. Chem.* 288: 10490-504. • Liao, Y. et al. 2014. *Bioinformatics* 30: 923-30. • Marshall, H. et al. 1996. *FASEB J.* 10:969-78. • Petruzzella, V. et al. 1998. *Genomics* 54:494-504 • Reverter, A. et al. 2010. *Bioinformatics* 26:896-904. • Ros-Freixedes, R. et al. 2016. *PLoS One* 11: e0152496. • Szatmari, I. et al. 2010. *Sytem Cells* 28:1518-29. • Wang, Y. et al. 2017. *BMC Genomics* 18:780.

Agradecimientos: Experimento financiado MINECO y fondos FEDER (AGL2015-65846-R). E. Solé disfruta de una beca predoctoral de la Universidad de Lleida.

INTEGRATIVE ANALYSIS OF GENOMIC DATA RELATED WITH PIG INTRAMUSCULAR FAT

ABSTRACT: In the present study an integrative approach with DNA variants, mRNA and lipid related traits was used to identify transcription factors and candidate genes related to lipid metabolism. With this objective, a population of 256 Duroc pig was genotyped with the 70k porcine BeadChip, and 22 intramuscular and fat composition traits determined in the *gluteus medius* muscle. From a subgroup of 40 pigs, the transcriptome of the semimembranosus muscle was sequenced with the HiSeq 2500XL (Illumina, Inc.). A total of 290 genes and 555 SNPs from the genome wide association study (GWAs) candidate regions were selected for the multi-omics factor analysis. With this approach, we identify 5 hidden factors which together explained 23% of variation in gene expression, 60% of SNPs and 68% of lipid traits data. Latent Factor 1 (LF1) was active in all datasets (SNPs, RNAseq and traits) whereas factors 2, 3, 4 and 5 were active in a single data modality. The 30% most extreme genes co-localized with SNPs in the SSC14 (108-114 Mb) genome region indicating a gene *expression piggybacking* effect. In addition we provide a list of genes and transcription factors that contribute to broaden knowledge of the genetic regulation of fatty acids traits.

Keywords: fatty acids, pigs, integrative analysis

PERFIL TRANSCRIPCIONAL DE LA GLÁNDULA MAMARIA DURANTE LA LACTACIÓN Y EL SECADO EN CABRAS MURCIANO-GRANADINAS.

Guan¹, D., Mármol-Sánchez¹, E., Gracia-Luigi¹, M.,
Such², X., Jordana², J., Landi³, V., Martínez³, A., Delgado³, J.V. y Amills^{1,2}, M.
¹Centre de Recerca Agrigenòmica (CRAG), Consorci CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus UAB, Bellaterra 08193. ²Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193. ³Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Córdoba. marcel.amills@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Los estudios de RNA-Seq realizados en bovino (Yang et al., 2016) y ovino (Suárez-Vega et al., 2015) han revelado que cientos de genes se expresan diferencialmente en la glándula mamaria al comparar los periodos de lactación y secado. Muchos de estos genes están relacionados con el metabolismo de proteínas y lípidos, la transducción de señales, la diferenciación de la glándula mamaria y la función inmune, siendo muy significativa la disminución de la expresión de los genes de las caseínas y proteínas del suero (Suárez-Vega et al., 2015; Yang et al., 2016). No obstante, el nivel de conocimiento sobre el perfil de expresión de ARNm de la glándula mamaria es relativamente escaso en cabras, habiéndose publicado un único estudio que comparó los transcriptomas mamaros de cabras que producen calostro versus leche (Crisà et al., 2016). El presente trabajo tiene como objetivo caracterizar la dinámica de la expresión génica durante la lactación en cabras de la raza Murciano-Granadina mediante el uso de un enfoque RNA-seq.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron biopsias de tejido mamarario (N = 21) de cabras Murciano-Granadinas en tres puntos temporales: T1 (60 días después del parto), T2 (210 días después del parto) y T3 (270 días, secado), tal como puede verse en la **Figura 1A**. El ARN se purificó de acuerdo a lo descrito por Cardoso et al. (2017, 2018). Se realizó una secuenciación "paired-end" del ARN en el Centro Nacional de Análisis Genómico (CNAG-CRG, <http://www.cnag.crg.eu/>). La calidad de secuenciación se evaluó con el software FastQC v0.11.7 (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). El programa TrimGalore 0.5.0 (https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim_galore/) se utilizó para eliminar los adaptadores de secuenciación, así como para suprimir lecturas de menos de 30 pb o con más de 5 posiciones ambiguas (Ns). Además, también se eliminaron 15 pb de ambos extremos de cada lectura. Las lecturas que pasaron este control de calidad se alinearon contra el genoma de referencia de cabra ARS1 (Bickhart et al., 2017) con el software HISAT2 (Kim et al., 2015, Pertea et al., 2016).

El programa StringTie se empleó para reconstruir transcritos potenciales a partir de las secuencias alineadas (Pertea et al., 2015; Pertea et al., 2016). Los niveles de expresión se cuantificaron a nivel de gen y de transcrito mediante el uso de un script Python (<https://ccb.jhu.edu/software/stringtie/dl/prepDE.py>). Los análisis de expresión diferencial se llevaron a cabo posteriormente utilizando el software DESeq2 (Love et al., 2014). Se consideró que existía expresión diferencial significativa para aquellos genes/transcritos en los que el *fold-change* (FC) > 1.5 y el q-valor < 0.05. La anotación funcional de los genes expresados diferencialmente (DE) se realizó mediante el uso de la plataforma DAVID Bioinformatics Resources 6.8 (Huang et al., 2008, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total, se secuenciaron por separado 21 muestras que representan el inicio (T1) y el final (T2) de la lactación, así como el periodo de secado (T3), tal como puede verse en la **Figura 1A**. Se produjeron 100 Gb de datos de secuencia y más de 58 millones de lecturas para cada muestra. La tasa de alineamiento obtenida con el programa HISAT2 fue superior al 92% (Kim et al., 2015, Pertea et al., 2016). La similitud entre las muestras analizadas mediante el análisis de componentes principales (PCA, **Figura 1B**) evidenció que T3, que corresponde al periodo de secado, se diferencia claramente de T1 y T2, con la única excepción de un individuo (T3-22), que probablemente no fue secado con éxito (y por tanto se procedió a su

eliminación). También observamos una gran semejanza entre las muestras T1 y T2 a pesar del hecho de que representaban el inicio y el final de la lactación (**Figura 1B**).

Para comprender cómo evoluciona la expresión génica durante y después de la lactación, se realizaron análisis de expresión diferencial T1 vs T3 y T2 vs T3. El análisis de los datos con DESeq2 (Love et al., 2014) permitió identificar 1.348 (T1 vs T3) y 1.567 (T2 vs T3) genes expresados diferencialmente, así como 2766 (T1 frente a T3) y 2400 (T2 frente a T3) transcritos con expresión diferencial (**Figura 1C**). Asimismo, 414 genes y 1882 transcritos se ensamblaron *de novo* con StringTie (Pertea et al., 2015). Hemos observado que en T3 (secado) hay un aumento de la expresión de los genes relacionados con la vía de señalización AMPK (p.e. *PRKAG3*), siendo AMPK uno de los principales sensores de energía celular que se activa cuando hay un déficit de energía. También hemos detectado un incremento de la expresión de *PFKFB1*, que está regulada por AMPK y activa la glucólisis (Ros et al., 2013). Estos resultados son consistentes con el hecho de que durante el período de secado, las cabras se alimentan con una dieta rica en forraje y baja en energía. De hecho, hemos encontrado que en T3 el gen de la adiponutrina (*PNPLA3*) tiene una expresión bastante disminuida, un hallazgo consistente con estudios que indican que la actividad de este gen se reduce cuando hay escasez de alimentos (Huang et al., 2010). En paralelo, hemos encontrado que el secado de las cabras implica la desactivación de numerosas rutas biosintéticas. Por ejemplo, los genes lipogénicos *FASN* y *ACACA* están infra-expresados en T3, y también *SCD*, que es fundamental para la síntesis de ácidos grasos insaturados (Bernard et al., 2018). Otros genes relevantes con una expresión disminuida son *DHCR7*, que está involucrado en la biosíntesis del colesterol (Prabhu et al., 2017), *INSIG1*, que regula la homeostasis del colesterol (Janowski et al., 2002), *ACSS2*, que produce acetil-CoA (Mews et al., 2017), y *FA2H*, que participa en la síntesis de 2-hidroxiesfingolípidos (Alderson et al., 2004). También hemos detectado una reducción importante en la expresión de los cuatro genes de las caseínas, así como de *LALBA*, que es necesaria para la síntesis de lactosa. Finalmente, cabe destacar que la marcada disminución de la actividad anabólica de la glándula mamaria está acompañada por la reducción de la expresión de *CD36*, así como de numerosos genes pertenecientes a las familias *ATP-binding cassette transporters* y *solute carriers* (Bernard et al., 2018; Bionaz et al., 2008). Los transportadores de membrana son esenciales para la absorción de lípidos, aminoácidos y otras moléculas empleadas como sustratos en procesos biosintéticos, por lo que su infra-expresión probablemente contribuya a la importante reducción del anabolismo de la glándula mamaria que se observa durante el periodo de secado.

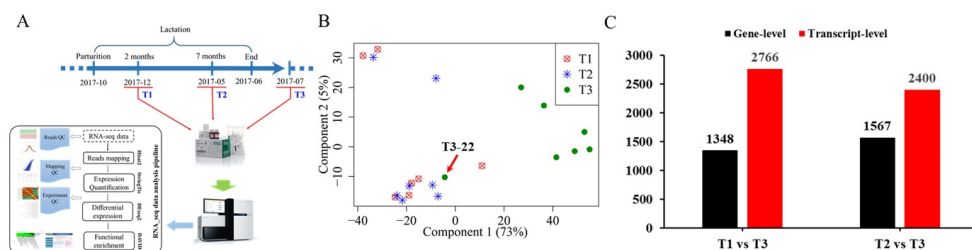


Figura 1. Protocolo experimental (A), evaluación de la similitud entre muestras mediante el análisis de componentes principales (PCA, B), y número de genes y transcritos diferencialmente expresados en T1-T3 y T2-T3 (C).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bernard, L. et al. 2018. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 120(5): 1700039. • Bickhart, D. M. et al. 2017. *Nat Genet.* 49(4): 643-650. • Bionaz, M. et al. 2008. *BMC Genom.* 9(1): 366. • Cardoso, T. F. et al. 2017. *BMC Genom.* 18(1): 603. • Cardoso, T. F. et al. 2018. *BMC Genom.* 19(1): 145. • Crisà, A. et al. 2016. *BMC Vet. Res.* 12(1): 264. • Huang, D. W. et al. 2008. *Nat. Protoc.* 4(1): 44-57. • Huang, D. W. et al. 2009. *Nucleic Acids Res.* 37(1): 1-13. • Huang, Y. et al. 2010. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107(17): 7892-7897. • Janowski, B. A. 2002. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99(20): 12675-12680. • Kim, D. et al. 2015. *Nat. Methods* 12(4): 357-360. • Love, M. I. et al. 2014. *Genome Biol.* 15(12): 550. • Mews, P. et al. 2017. *Nature* 546: 381. • Pertea, M. et al. 2015. *Nat. Biotechnol.* 33: 290. • Pertea, M. et al. 2016. *Nat. Protoc.* 11(9): 1650-1667. • Prabhu, A. V. et al. 2017. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 165: 363-368. • Ros, S. et al. 2013. *Cancer Metab* 1(1): 8. • Suárez-Vega, A. et al. 2015. *Sci. Rep.* 5: 18399. • Yang, J. et al. 2016. *Animal Genet.* 47(2): 174-180.

Agradecimientos: este proyecto ha sido financiado mediante el proyecto AGL2016-76108-R otorgado por el Ministerio de Economía y Ciencia (MINECO). Dailu Guan fue financiado con una beca de doctorado del China Scholarship Council (CSC). Emilio Mármol-Sánchez fue financiado con un contrato FPU (FPU15/01733). María Gracia-Luigi recibió un contrato FPI del MINECO (BES-2017-079709). Nuestro especial reconocimiento a todo el personal del Servei de Granges i Camps Experimentals de la UAB, y especialmente al Dr. José Luis Ruiz de la Torre Casañas, por toda su valiosa ayuda durante la recolección de biopsias mamarias.

TRANSCRIPTIONAL PROFILE OF MAMMARY GLAND TISSUE DURING THE LACTATION AND DRY OFF PERIODS IN MURCIANO-GRANADINA GOATS

ABSTRACT: The study presented here aimed to characterise the gene profile of the caprine mammary gland during lactation by RNA Sequencing. Biopsies of mammary tissue (N = 21) were collected at three lactation points representing 60 days (T1), 210 days (T2) and 270 days (T3, dry period) after parturition. The analysis of expression data revealed 1,348 (T1 vs T3) and 1,567 (T2 vs T3) differentially expressed (DE) hits at the gene-level, as well as 2766 (T1 vs T3) and 2400 (T2 vs T3) DE hits at the transcript-level by employing the HISAT2-StringTie-DESeq2 pipeline. Functional annotation of DE genes captured terms linked to the synthesis of milk components, such as steroid biosynthesis, lipid biosynthesis and milk proteins. Our results indicate that the reduction of energy supply during the dry period involves an activation of the AMPK signalling pathway and a shutdown of anabolic processes in the mammary gland.

Keywords: mammary gland, lactation, differential expression, goat

EFECTO DEL GENOTIPO SOBRE EL TRANSCRIPTOMA HIPOTALÁMICO Y SU POSIBLE RELACIÓN CON EL CRECIMIENTO Y LA VIABILIDAD EN LECHONES

Heras-Molina¹, A., García-Contreras¹, C., Vázquez-Gómez², M., Benítez¹, R., Núñez¹, Y., Ballesteros¹, J., Pesántez-Pacheco^{1,3}, J.L., Sanz-Fernández¹, V., Astiz¹, S., Isabel², B., González-Bulnes¹, A. y Óvilo¹, C.

¹SGIT-INIA.Madrid. ²UCM. Madrid. ³Universidad de Cuenca.
delasheras.ana@inia.es

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la producción porcina está basada en razas muy seleccionadas para la optimización de la productividad y la eficiencia reproductiva (Chang et al., 2003), así como en otras razas rústicas como el cerdo ibérico (Gonzalez-Añover et al., 2010). Esta raza se caracteriza por un crecimiento más lento, una elevada tendencia al engrasamiento y una menor eficiencia productiva que las razas magras (Barea et al., 2007). En estudios recientes (Ayuso et al., 2016; Benítez et al., 2017), se han visto diferencias marcadas en los patrones de crecimiento entre estos genotipos, con un elevado potencial de crecimiento temprano de los individuos ibéricos puros, así como diferencias en el transcriptoma muscular durante estas etapas de desarrollo. El correcto crecimiento de los animales resulta fundamental para el mantenimiento de los niveles productivos y evitar posibles pérdidas económicas (Houška et al., 2010). Asimismo, se ha comprobado que el ambiente materno tiene una importancia fundamental en el desarrollo posterior de las crías (Óvilo et al., 2014). Por ello, es importante que, a la hora de estudiar la causa genética de las diferencias en el crecimiento de razas tan distintas como son las comerciales y las rústicas, se minimicen posibles efectos ambientales que actúan durante el desarrollo prenatal; lo que puede conseguirse eliminando los efectos maternos, utilizando para ello las mismas madres. El objetivo de este trabajo fue el estudio de los patrones de crecimiento y de expresión del transcriptoma a nivel hipotalámico en lechones ibéricos puros (IBxIB) y cruzados con Large White (IBxLW) para comprender los mecanismos moleculares responsables de sus diferencias fenotípicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 16 cerdas multíparas ibéricas puras fueron inseminadas con semen heterospérmico (mezcla de semen de verraco ibérico y Large White 1:1) en la granja Ibéricos de Arauzo S.L. (Zorita de la Frontera, Salamanca), seleccionándose 72 lechones (44 ibéricos y 28 cruzados, la mitad hembras y la mitad machos). Los lechones fueron pesados al nacimiento, destete y mensualmente hasta los 7 meses, y se midieron al nacimiento, destete y a los 2 y 7 meses. A los 2 meses se sacrificaron y se obtuvieron los hipotálamos de 20 individuos (5 hembras y 5 machos de cada genotipo), representativos de los grupos originales, para los análisis del transcriptoma. La extracción del ARN total se llevó a cabo mediante el kit Ribopure (Ambion). Se generaron librerías que fueron secuenciadas utilizando la plataforma HiSeq2000 (Illumina, Inc.). La calidad de las secuencias generadas fue analizada por la herramienta FastQC. A continuación, se usó la herramienta Trim Galore (v.0.4.1) para la eliminación de los adaptadores y las colas Poly A y Poly T. Posteriormente, estas lecturas se mapearon frente al genoma de referencia (Scrofa11.1) usando TopHat v.2.1.0 (Trapnell et al., 2009). Para el ensamblado, se usó la herramienta Cufflinks v.2.0.2, seguido de Cuffmerge, para unir los transcritos ensamblados de todas las muestras en un único archivo. Finalmente, se utilizó Cuffdiff para el análisis de las diferencias de expresión. El filtrado de los genes diferencialmente expresados (DE) se llevó a cabo teniendo en cuenta tres factores: una expresión media mayor de 0,5 FPKM en al menos uno de los grupos, un valor de Fold Change (FC) $\geq 1,25$ y un FDR $< 0,10$. La interpretación funcional de los datos obtenidos se realizó mediante el software Ingenuity® Pathway Analysis (IPA®), la cual permite detectar la

activación o inhibición de funciones biológicas, rutas metabólicas y potenciales reguladores en cada grupo experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso al nacimiento y a los dos meses fue mayor en los lechones IBxLW que en los IBxIB ($1,37 \pm 0,41$ kg vs. $1,24 \pm 0,31$ kg, $P < 0,05$ y $21,1 \pm 4,7$ kg vs $16,7 \pm 3,8$ kg, $P < 0,0001$). Sin embargo, a destete (24 días) estas diferencias no fueron significativas. Entre los 2 y 7 meses, las diferencias se mantuvieron constantes con una magnitud de una desviación típica sobre la media global. En el análisis del transcriptoma hipotalámico a dos meses de edad, se encontraron 313 transcritos diferencialmente expresados de los cuales 192 estuvieron sobre expresados (SE) en los animales IBxIB y 121 en los IBxLW, correspondiendo a 204 genes anotados. El rango de FC en los genes SE en los individuos ibéricos puros osciló entre 1,25x y 414,06x, mientras que en los genes SE en los cruzados este rango fue de 1,23x a 105,20x. Los genes con mayores niveles de FC fueron *PRL*, *FSHB*, *GH1* y *TSH*, todos ellos sobre expresados en IBxIB y relacionados con el sistema endocrino. En el caso de los animales cruzados, los genes más SE fueron *ZNF394*, *TNNT1* y *S100A4*. La interpretación funcional mostro diferentes funciones fisiológicas enriquecidas en el conjunto de genes DE, entre las que cabe destacar el desarrollo del organismo, la morfología tisular, la supervivencia del organismo y el desarrollo y funcionamiento del sistema endocrino. A nivel molecular y celular, destacan la afectación de la morfología y movimiento celular, la síntesis proteica, el transporte molecular y la bioquímica de pequeñas moléculas. En cuanto a las funciones relacionadas con el desarrollo corporal, se detectó un enriquecimiento en los individuos ibéricos puros en las referidas al desarrollo de la cabeza, del eje corporal, del tronco, del sistema reproductor, del aparato genital y gonadogénesis ($P < 0,0001$). Con relación a la morfología tisular, cabe destacar que la cantidad de monocitos ($P < 0,0001$), así como el desarrollo del sistema endocrino y la concentración hormonal ($P < 0,0001$), estaban aumentados en ibérico. Las funciones relacionadas con morbilidad y mortalidad estaban disminuidas en los animales ibéricos puros ($P < 0,0001$). Se realizó la predicción de potenciales reguladores para las diferencias de expresión detectadas, observándose algunas moléculas relevantes potencialmente activadas en el grupo ibérico como RETNB ($P < 0,001$), Jnk ($P < 0,001$) y PRL ($P < 0,0001$). RETNLB lleva a cabo un papel regulador de la inmunidad innata del individuo (Propheter et al., 2017). Las Jnks se encargan de la respuesta a una gran cantidad de factores estresantes y de la regulación de funciones neuronales, inmunológicas y de desarrollo embrionario (Zeke et al., 2016). La PRL tiene una gran relevancia en la regulación de procesos a nivel celular (proliferación, diferenciación, supervivencia...), y en varios tejidos (reproductor, nervioso o conectivo) (Sackmann-Sala et al., 2015). La construcción de una red de regulación de las diferencias de expresión relacionadas con las funciones más importantes detectadas, permitió comprobar el papel de RETNLB y Jnk en las moléculas implicadas, tanto en la muerte/supervivencia del organismo como en el desarrollo de la cabeza (Figura 1). Todos estos datos indican una activación de rutas relacionadas con la viabilidad y crecimiento en los individuos ibéricos puros, aunque, a diferencia de resultados previos obtenidos en contrastes de genotipos Ibérico y Duroc (Ayuso et al., 2016; Benítez et al., 2017), los datos fenotípicos muestran un mayor tamaño de los cruzados durante todo el crecimiento, posiblemente debido a la mayor capacidad de desarrollo y potencial de crecimiento de la genética Large-White.

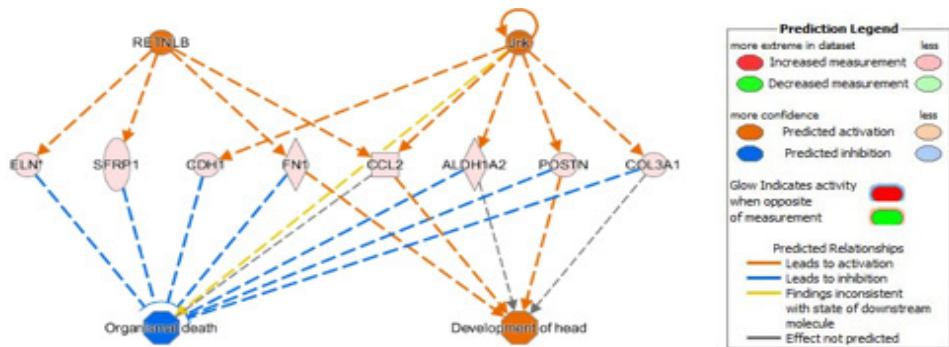


Figura 1. Red de regulación de la muerte del organismo y del desarrollo de la cabeza por RETNLB y Jnk, obtenida con el software IPA® a partir de los genes DE entre genotipos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayuso, M. et al. 2016. Plos One. 11
- Barea, R. et al. 2007. Animal. 1: 357-65.
- Benítez, R. et al. 2017. Int. J. Mol. Sci. 19:22
- Chang, K.C. et al. 2003. Meat Sci. 64: 93-103.
- Gonzalez-Añover, P. et al. 2010. Reprod. Domest. Anim. 45: 1003-7.
- Hennighausen, L. et al. 2005. Nat. Rev. Mol. Cell. Bio. 6: 715.
- Houška, L. et al. 2010. Czech. J. Anim. Sci. 55:139-48.
- Óvilo, C. et al. 2014. Brit. J. Nutr. 111: 735-46
- Propheter, D.C. et al. 2017. Proc. Natl. Acad. Sci. 114: 11027-33.
- Sackmann-Sala, L. et al. Mol. Endocrinol. 29: 667-81.
- Trapnell, C. et al. 2012. Nat. Protoc. 7: 562-78.
- Zeke, A. et al. 2016. Microbiol. Mol. Biol. R. 2016. 80:793-835.

Agradecimientos: Trabajo financiado con el proyecto AGL2016-79321-C2-1-R. A. de las Heras Molina y C. García Contreras disfrutan de un contrato FPI del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (BES-2017-080541 y BES-2014-0700464, respectivamente).

EFFECT OF PIGLET GENOTYPE ON HYPOTHALAMIC TRANSCRIPTOME AND ITS RELATIONSHIP WITH GROWTH AND VIABILITY TRAITS

ABSTRACT: In swine production, both commercial and traditional breeds (such as Iberian pig), are used, with commercial pigs being more efficient in reproductive and productive traits. For understanding the molecular events behind early growth, the hypothalamic transcriptomes of 10 IBxIB and 10 IBxLW animals at 2 months of age were studied, with 313 DE transcripts being detected. Some relevant genes involved in endocrine system regulation showed large FC values, being upregulated in Iberian animals, such as *PRL*, *FSHB*, *GH1* and *TSH*. The functional analysis, showed differences in the activation of some metabolic routes and regulators (Jnk, RETLB, PRL). Results indicated that genes, biological functions and upstream regulators related to viability, growth and endocrine system development were enriched in IBxIB animals, although the IBxLW individuals were heavier, possibly due to a major growth potential from Large White genetics.

Keywords: transcriptome, viability, early growth, hypothalamus.

IDENTIFICACIÓN DE RNAS LARGOS NO-CODIFICANTES EN RESPUESTA A LA INGESTA DE ALIMENTOS

Mármol-Sánchez, E.¹, Quintanilla, R.², Cardoso, T. F.^{1,3}, Tibau, J.⁴ y Amills, M.¹.

¹Departament de Genètica Animal, Centre de Recerca en Agrigenòmica (CRAG) CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193.

²Genètica y Mejora Animal IRTA, Torre Marimón, Caldes de Montbui, 08140.

³Fundación CAPES, Ministerio de Educación de Brasil, Brasilia – DF 70040-020, Brasil. ⁴IRTA-Monells, Finca Camps y Armet s/n 17121 Monells. emilio.marmol@cragenomica.es

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se ha producido un avance significativo en la identificación de los distintos tipos de RNAs que integran el transcriptoma y en la determinación de sus características funcionales. Los RNAs largos no-codificantes intergénicos (lincRNAs) y transcritos *cis*-antisentido (*cis*-NATs) se caracterizan por tener una longitud superior a los 200 nucleótidos y una estructura exónica similar a los transcritos codificantes (Ullitsky y Bartel, 2013). Los genes que codifican lincRNAs se localizan en regiones intergénicas y algunos de ellos han sido previamente caracterizados en porcino (Esteve-Codina et al., 2011; Zhao et al., 2015; Xia et al., 2016; Kern et al., 2018). Por otra parte, los *cis*-NATs son transcritos cuya secuencia es parcial o totalmente complementaria a la de otra molécula de RNA (*p.e.* RNA mensajeros). Estudios previos han determinado la presencia de *cis*-NATs en aproximadamente el 30% de los genes anotados en el genoma porcino (Chen et al., 2012). Pese a ello, existe aún un gran desconocimiento de la complejidad y diversidad de funciones del repertorio de RNAs largos no codificantes (lincRNAs) en la mayoría de especies, entre ellas, el porcino.

Con el objetivo de incrementar el catálogo de lincRNAs en la especie porcina y desentrañar el efecto de la nutrición sobre su expresión, hemos realizado un análisis de predicción de nuevos candidatos lincRNAs y *cis*-NATs en músculo *gluteus medius* de porcino. Además, hemos analizado su patrón de expresión en respuesta a la ingesta de alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras biológicas y diseño experimental: Para el experimento de análisis de la expresión de nuevos transcritos lincRNA se obtuvieron muestras biológicas del músculo *gluteus medius* de 48 cerdas Duroc alimentadas *ad-libitum* y muestreadas en tres puntos temporales: ALT0 (ayuno, n = 12), ALT1 (5 h post-ingestión, n = 12) y ALT2 (7 h post-ingestión, n = 12), así como otro grupo sometido a restricción calórica en la segunda fase de engorde y muestreado en ayunas (ART0, n = 12), según lo descrito por Cardoso et al. (2017) y Ballester et al. (2018).

Secuenciación y cuantificación de la expresión: De cada muestra de tejido se extrajo la fracción total de RNA mediante el preparado comercial RiboPure RNA Purification kit (Ambion, Austin, TX). Se prepararon librerías mediante el TruSeq Stranded mRNA Library Preparation Kit (Illumina Inc., CA) y fueron secuenciadas mediante un equipo HiSeq 2000 (Illumina Inc., CA) en el Centre Nacional d'Anàlisi Genòmica (CNAG, <https://cnag.cat>). Las secuencias fueron examinadas de acuerdo a su calidad y filtradas mediante el software FASTQC, y se eliminaron los adaptadores con el software Trimmomatic v0.32 (Bolger et al., 2014). Seguidamente fueron alineadas respecto al genoma de referencia porcino (versión 11.1) mediante el software de alineamiento HISAT2 (Kim et al., 2015). Se hizo uso del software Stringtie (Pertea et al., 2015) para la cuantificación de la expresión, permitiendo la reconstrucción de nuevos transcritos carentes de anotación en el genoma porcino de referencia.

Predicción de genes candidatos lincRNA y mapeo de QTLs: Del total de nuevos transcritos identificados, se filtraron aquellos que cumplieran los siguientes requerimientos: (1) longitud de secuencia ≥ 200 nucleótidos para transcritos con 2 o más exones, y (2) ≥ 2000 nucleótidos para transcritos monoexónicos. Por otra parte, se clasificaron como transcritos intergénicos (ITs) aquellos que no solapasen con ningún gen codificante de proteína (PC) conocido, mientras que se consideraron como

tránscritos antisentido (ATs) aquellos complementarios a RNAs mensajeros (mRNAs), con un margen de 1 kilobase para ambas clases.

Se analizó el potencial codificante de los tránscrios candidatos mediante los softwares CNCI (Sun et al., 2013), CPC2 (Kang et al., 2017) y CPAT (Wang et al., 2013), reteniendo sólo aquellos consistentemente clasificados como no codificantes por los tres programas. Posteriormente, se hizo uso del software LncFinder (Han et al., 2018) para identificar aquellos tránscrios clasificados como genes lncRNAs. Finalmente se consideró que los tránscrios con valores FPKM > 5 (tránscrios monoexónicos) y FPKM > 1 y coverage > 3 (poliexónicos) se hallan realmente expresados en el músculo porcino.

Análisis de expresión diferencial, correlación y variabilidad: Se analizó la expresión diferencial de los tránscrios lncRNAs entre los grupos ALT0 vs ALT1, ALT0 vs ALT2 y ALT0 vs ART0, mediante el software DESeq2 (Love et al., 2014). Además, se calculó la correlación lineal entre la expresión de tránscrios ATs y mRNAs complementarios, así como su significación estadística, y la correspondiente a ITs y genes PC localizados a 100 kilobases de distancia. Por otra parte, se determinó el coeficiente biológico de variación (BCV) para los tránscrios lncRNAs y mRNAs (Robinson et al., 2010) en cada grupo analizado (ALT0, ALT1, ALT2, ART0).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De un total de 933 ATs y 456 ITs seleccionados a partir de la reconstrucción de nuevos tránscrios, 823 ATs (88,21%) y 353 ITs (74,41%) fueron clasificados como no codificantes por los softwares CNCI, CPC2 y CPAT. De estos, un total de 396 ATs (48,11%) y 49 ITs (13,88%) se clasificaron como lncRNAs mediante el software LncFilter. Se detectaron un total de 111 (ALT0), 110 (ALT1), 124 (ALT2) y 80 (ART0) lncRNAs expresados en el músculo *gluteus medius*, 113 de los cuales presentaron expresión en todas las muestras analizadas.

El análisis de expresión diferencial destacó la presencia de 4 tránscrios diferencialmente expresados (*fold-change* |FC| > 1.5; *q-value* < 0.05) tal y como se observa en la **Tabla 1**. Por otra parte, al comparar los niveles de expresión y BCV para la *cis*-interacción de genes lncRNAs y mRNAs, se observó una menor expresión y mayor variabilidad en los tránscrios no-codificantes, resultados que coinciden con los obtenidos en trabajos previos (Chen et al., 2012; Sigova et al., 2013). Se evidenció la presencia de correlaciones tanto positivas como negativas para cada tránscrio lncRNA y sus correspondientes mRNAs complementarios, así como cambios en el signo de la correlación para las mismas interacciones en los diferentes grupos analizados, lo cual podría indicar la existencia de efectos *cis*-reguladores. Por ejemplo, el tránscrio MSTRG.7723.1 mostró un aumento significativo de la expresión tras la ingesta de alimento (grupos ALT1 y ALT2 respecto a ALT0), como puede observarse en la **Tabla 1**. Este tránscrio fue mapeado en la región 3'-UTR del gen *PPP1R3D*, que ha sido relacionado con la regulación de la concentración de glucosa en estados postprandiales, el metabolismo de lípidos, y la resistencia a la insulina asociada a obesidad (Morton et al., 2011; Zhang et al., 2014). La correlación positiva detectada entre MSTRG.7723.1 y *PPP1R3D* ($r = 0.6626$; $P\text{-value} = 0.0189$) en ALT2 podría ser indicativa de la unión de dicho tránscrio a la región 3'-UTR de *PPP1R3D*, enmascarando su interacción con otros elementos reguladores inhibidores, aunque dicha hipótesis debe analizarse experimentalmente. Por otra parte, cabe destacar el tránscrio intergénico MSTRG.6412.1, localizado en el cluster *HOXD*, y cuyo ortólogo, en la especie humana, es el lincRNA *HAGLROS*. Este lincRNA ha sido asociado a la inhibición de la función reguladora de miR-100-5p sobre la expresión del gen *MTOR* y la activación del eje PI3K/AKT/NF- κ B en la proliferación celular y estados proinflamatorios (Chen et al., 2018; Liu et al., 2018). A modo de resumen, nuestros resultados indican la existencia de cambios en la expresión de lncRNAs en respuesta a la ingesta de alimentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ullitsky, I. & Bartel, D.P. 2013. *Cell*. 154(1): 26-46. ● Esteve-Codina, A. et al. 2011. *Heredity*. 107(3): 256-64. ● Zhao, W. et al. 2015. *Sci Rep*. 5: 8957. ● Xia, J. et al. 2016. *Sci Rep*. 6: 30709. ● Kern, C. et al. 2018. *BMC Genom*. 19: 684. ● Chen, C. et al. 2012. *PLoS One*. 7(12): e52433. ● Cardoso, T. F. et al. 2017. *BMC Genom*. 18(1): 603. ● Ballester, M. et al. 2018. *BMC Genom*. 19(1): 682. ● Bolger, A. et al. 2014. *Bioinformatics*. 30(15): 2114-2120. ● Kim, D. et al. 2015. *Nat Meth*. 12: 357-360. ● Pertea, M. et al. 2015. *Nat Biotechnol*. 33(3): 290-295. ● Sun, L. et al. 2013. *Nucl Acid Res*. 41(17): e166. ● Kang, Y. J. et al. 2017. *Nucl Acid Res*. 45(W1): W12-W16. ● Wang, L. et al. 2013. *Nucl Acid Res*. 41(6): e74. ● Han, S. et al. 2018. *Brief Bioinform*. bby065. ● Love, M. et al. 2014. *Genome Biol*. 15: 550. ● Robinson, M. D. et al. 2010. *Bioinformatics*. 26(1): 139-140. ● Sigova, A. A. et al. 2013. *Proc Natl Acad Sci USA*. 110(8): 2876-81. ● Morton, N. M. et al. 2011. *PLoS One*. 6(9): e23944. ● Zhang, Y. et al. 2014. *Mol Endocrinol*. 28(1): 116-126. ● Chen, J. F. et al. 2018. *Mol Cancer*. 17(1):6. ● Liu, M. et al. 2018. *Biochem Biophys Res Comm*. 500(3): 589-596.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado con los proyectos AGL2013-48742-C2-1-R and AGL2013-48742-C2-2-R concedidos por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO). Emilio Mármol-Sánchez es beneficiario de un contrato predoctoral FPU15/01733. 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. *lncRNAs diferencialmente expresados* ($|FC| > 1.5$; q -value < 0.05) en los grupos ALT0 vs ALT1, ALT0 vs ALT2 y ALT0 vs ART0. *mean = expresión media medida en conteos normalizados.

ALT0 vs ALT1					
ID	FC	P-value	q-value	Mean (ALT0)	Mean (ALT1)
MSTRG.3527.1	-1,9093	0,0009	0,0343	199,1875	75,2540
MSTRG.7723.1	1,7078	0,0005	0,0343	1139,2332	2028,9169
MSTRG.14178.1	-1,8519	0,0009	0,0343	283,5238	177,7682
ALT0 vs ALT2					
ID	FC	P-value	q-value	Mean (ALT0)	Mean (ALT2)
MSTRG.7723.1	1,6188	0,0008	0,0497	1139,2332	2004,5894
MSTRG.1736.1	1,9624	0,0007	0,0497	116,7764	231,7182
ALT0 vs ART0					
ID	FC	P-value	q-value	Mean (ALT0)	Mean (ART0)
MSTRG.1736.1	-2,1213	0,00001	0,0011	116,7764	48,1149

PROFILING MUSCULAR LONG NON-CODING RNAS IN RESPONSE TO FOOD INTAKE

The landscape of the long non-coding RNA transcriptome remains to be fully characterized in domestic animals. We aimed to identify and characterize the expression of long intergenic non-coding RNAs (lincRNAs) and natural antisense transcripts (NATs) in *gluteus medius* skeletal muscle samples from 48 Duroc pigs. We implemented a bioinformatics pipeline to accurately detect expressed non-coding lincRNAs and, moreover, we evaluated whether they are differentially expressed in feeding-fasting and food-restricted pigs. Our results indicate the presence of novel lincRNAs in the porcine skeletal muscle with known roles in glucose metabolism and cell proliferation.

Keywords: lincRNA, RNA-sequencing, food intake.

INFLUENCIA DE LA RESTRICCIÓN PROTEICA EN EL TRANSCRIPTOMA DE MÚSCULO DE CERDOS CRUZADOS DURANTE LA FASE DE CRECIMIENTO

Muñoz^{1,2}, M., Fernández-Barroso^{1,2}, M. A., López-García², A., Caraballo^{1,2}, C, Nuñez², Y., García-Casco^{1,2}, J.C. y González³, E.

¹INIA, Departamento de Mejora Genética Animal, 28040 Madrid. ²Centro de I+D en Cerdo Ibérico, Zafra (Badajoz). 06300. ³Instituto Universitario de Investigación de Recursos Agrícolas (INURA), Universidad de Extremadura
mariammm@inia.es

INTRODUCCIÓN

Los cerdos pertenecientes a la raza ibérica se caracterizan por tener unos índices bajos de crecimiento, un gran apetito y unos depósitos de grasa superiores a los de otras razas comerciales lo que se asocia con una carne y unos productos derivados curados de una excelente calidad sensorial (Lopez-Bote, 1998). La tendencia dominante de la producción de Ibérico se ha enfocado a la cría de cerdos cruzados Duroc x Ibérico para conseguir un equilibrio entre un mayor crecimiento y rendimiento de canal manteniendo la calidad de la carne y de la grasa.

La norma de calidad del cerdo ibérico (R.D. 4/2014) establece que los individuos deben ser sacrificados con una edad mínima de 10 meses y con un peso mínimo individual de canal de 115 kgs. La problemática radica en que los animales cruzados que se alimentan *ad libitum* pueden alcanzar este peso a los 8 meses de edad, y con ello se complica el poder cumplir la legislación. Una posible solución consistiría en aplicar una restricción proteica durante la fase de crecimiento para disminuir el crecimiento de los animales (Lebret, 2008).

La identificación de genes con una expresión modificada debido a alteraciones en la dieta puede proporcionar un mejor entendimiento de los procesos fisiológicos y bioquímicos que están implicados en el crecimiento y en la deposición de la grasa. El objetivo de este trabajo consiste en analizar el efecto de una dieta baja en proteína en el transcriptoma del músculo *longissimus dorsi* (LD) en cerdos cruzados Duroc x Ibérico a 45 y 90 kg de peso corporal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y dietas. Se seleccionaron 20 animales cruzados Duroc x Ibérico que fueron divididos al alcanzar 25 kg de peso en dos lotes con una dieta de recría diferencial: 1) dieta control (C) con pienso de trigo, cebada y soja formulada según las recomendaciones de FEDNA (2006) consistente en 3.180 kcal/kg de energía (EM), 16,5% de proteína total (PT) y 0,82% de Lys total; 2) dieta baja en proteína BP, de pienso isoenergético respecto al control, pero con un menor nivel de proteína total (11,5% PT). Los piensos se suministraron *ad libitum* durante la recría. Se realizaron dos series de sacrificio, uno a 45 (mitad del periodo de recría) y el segundo a 90 kg (final del periodo de recría). Los cerdos sacrificados a 45 kg de ambas dietas tenían una edad media de sacrificio de 103 ($\pm 0,01$) días y los que se sacrificaron a 90 kg tenían una media de edad de 165 ($\pm 0,08$) y 174 ($\pm 0,08$) días para las dietas C y BP, respectivamente. Por cada una de las categorías de peso se sacrificaron un total de 10 animales, cinco por cada dieta.

Extracción de ARN y secuenciación. Después del sacrificio se cogieron muestras de músculo LD, estas muestras se conservaron en N₂ líquido y posteriormente se almacenaron a -80°C. Se extrajo el RNA total utilizando el kit de extracción Ribopure High Quality total RNA kit (Ambion, Austin, TX). Se evaluó la integridad del RNA mediante el dispositivo Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Se prepararon librerías de lecturas pareadas para ser secuenciadas en un secuenciador Illumina Hi-Seq 2000 (Fasteris, Plan-les-Quates, Switzerland) con 5 muestras por carril generando lecturas pareadas de un tamaño de 75 pb.

Se evaluó la calidad de las secuencias brutas usando el programa *FastQC* y se eliminaron los adaptadores utilizando *Trim Galore*. Las lecturas filtradas se mapearon contra la última versión disponible del genoma porcino de referencia (Sscrofa11.1) utilizando *TopHat v2.1.0* (Trapnell et al., 2009) mediante el alineamiento previo de las lecturas con la anotación del transcriptoma ENSEMBL (11.1). Después se ensamblaron los transcritos usando el software *Cufflinks v2.2.1* (Trapnell et al., 2012). Dentro de este software, se usó la herramienta *cuffcompare* para clasificar los transcritos.

Análisis de expresión diferencial, clasificación funcional de genes y análisis de redes.

La herramienta *Cuffdiff* se usó para calcular los valores de expresión y llevar a cabo los análisis de expresión diferencial entre las dos dietas a 45 y 90 kg de los genes anotados y las nuevas isoformas. Se filtraron las nuevas isoformas y los genes anotados con una media mínima de expresión de 0,5 FPKM y un \log_2 del *fold change* (FC) de expresión de 1,2. Además, se usó el paquete del entorno R, *q-value* (Storey y Tibshirani, 2003) para ajustar la significación del test múltiple. Finalmente, se consideraron como diferencialmente expresados (DE) aquellos genes con un *p-value* nominal menor de 0,05 y un *q-value* menor de 0,10.

Por último, se hicieron análisis funcionales de los genes diferencialmente expresados mediante análisis de enriquecimiento funcional GO con FatiGO usando la base de datos de *gene ontology* (GO). Además se usó STRING para generar redes y explorar las relaciones entre las proteínas codificadas por los genes DE.

Análisis por RT-qPCR. Se analizó la expresión mediante RT-qPCR de 13 y 12 genes expresados en LD a 45 y 90 kg, respectivamente. La expresión de estos genes se cuantificó mediante el kit SYBR Green Mix (Roche, Basel, Switzerland) en el dispositivo LightCycler480 (Roche, Basel, Switzerland). Se calculó la estabilidad de los genes endógenos *B2M* and *ACTB* mediante el software Genorm (Vandesompele et al., 2002) y se usaron los factores de normalización para llevar a cabo la normalización. Se calcularon las correlaciones de Pearson entre los valores de expresión de los datos de RNA-Seq (FPKM) y los datos normalizados de expresión de la RT-qPCR. Además se estimó el coeficiente de correlación de concordancia (CCC) (Miron et al., 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de eliminar los adaptadores, se obtuvieron un total de 911 y 863 millones de lecturas a 45 y 90 kg, respectivamente. Aproximadamente mapearon contra el genoma de referencia de porcino (Build 11.1) un total de 94,70% de las lecturas a 45 kg y 95,22% a 90 kg. El número total de transcritos ensamblados fue mayor a 45 (115.476) que a 90 kg (101.083). El porcentaje de tipos de transcritos clasificados por Cuffcompare fue similar a 45 y 90 kg, observándose que a 45 kg, el 43,3% de los transcritos eran nuevas isoformas y a 90 kg, un 40,0%. En cuanto al análisis de expresión diferencial a 45 kg se observaron un total de 139 genes e isoformas y 80 nuevas isoformas DE entre los dos tipos de dietas y a 90 kg, se observaron 43 genes e isoformas y 41 nuevas isoformas DE. Se observaron un total de 18 transcritos DE en común en los dos pesos, que representa un 8,22% de los transcritos DE a 45 kg y un 21,43% a 90 kg (Figura 1).

El análisis de enriquecimiento funcional de genes DE en términos GO reveló diferentes procesos biológicos en los dos pesos. Los principales procesos biológicos GO (GO_{BP}) se relacionan con el sistema inmune como defensa en la respuesta a virus (GO: 0051607) o respuesta a interferón de tipo I (GO: 0034340). Estos resultados ya fueron observados en hígado en un trabajo previo con los mismos animales y dietas (Muñoz et al., 2018). Por otro lado, muchos de los términos GO_{BP} observados a 90 kg estaban relacionados con el desarrollo y crecimiento del hueso como la regulación del remodelado del hueso (GO:0046850) o la reabsorción del hueso (GO:0045124) sugiriendo una alteración de rutas relacionadas con el crecimiento. Los resultados de interacción de proteínas realizados con STRING revelaron dos clusters principales de interacciones a 45 kg uno con las proteínas relacionadas con la respuesta inmune. Por otro lado, a 90 kg se detectaron menos interacciones entre las proteínas y los clusters formados tenían menos proteínas que los formados a 45 kg.

Un total de 12 de los 13 genes de los que se midió su expresión mediante RT-qPCR mostraron una correlación positiva significativa entre los datos de expresión del RNAseq y RT-qPCR a 45 kg. Mientras que a 90 kg, se observaron 9 genes con correlación positiva significativa entre los datos medidos con las dos técnicas. Además el CCC estimado fue de 0,949 y 0,847 a 45 y 90 kg, respectivamente. La no validación de alguno de los genes podría deberse a amplificación mediante RT-qPCR de isoformas que no se detectan mediante RNA-seq. Estos resultados indican que la aplicación de la dieta con restricción en proteína durante el periodo de recría afecta de manera diferente a la expresión de los genes en músculo LD según se analice a mitad o final de la aplicación de la dieta. Mientras que a 45 kg se observa una alteración de genes que codifican para proteínas implicadas en el sistema inmune, a 90 kg, la alteración parece más relacionada con el crecimiento y desarrollo de los individuos.

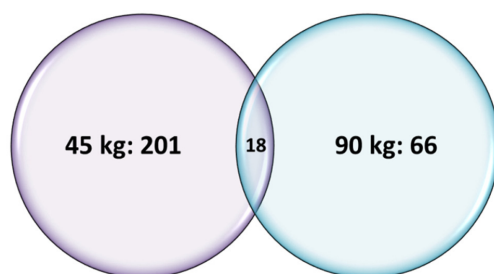


Figura 1. Genes y nuevas isoformas diferencialmente expresadas en el músculo longissimus dorsi de cerdos cruzados Duroc x Ibérico sacrificados a 45 y 90 kg de peso corporal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lebret, B. 2008. *Animal* 2: 1548-1558.
- López-Bote, C. J. 1998. *Meat Sci.* 49 : 17–27.
- Miron, M. et al. 2006. *BMC Bioinformatics.* Jul 5;7:333
- Muñoz, M et al. 2018 *Proc. World Cong. on Genet. App. Lives. Product. Biology - Growth and Development:* 419
- Storey, J. D. & Tibshirani, R. 2003. *Natl. Acad. Sci.* 100 : 9440–9445.
- Trapnell, C. et al. 2009. *Bioinformatics* 25 : 1105–1111.
- Trapnell, C. et al. 2012. *Nat. Protoc.* 7: 562–578.
- Vandesompele, J. et al. 2002. *Genome Biol.* 3: 34–1.

Agradecimientos: Este trabajo está financiado por el proyecto RTA-2013- 00063-C01 del Instituto de Investigaciones Agrarias y Alimentarias (INIA).

INFLUENCE OF A LOW PROTEIN DIET IN LONGISSIMUS DORSI TRANSCRIPTOME DURING THE GROWING PERIOD OF IBERIAN CROSSBRED PIGS

ABSTRACT: Iberian crossbred pigs raise the minimum carcass weight before the age contemplated by the current Iberian Quality Standard (RD 4/2014) as a consequence of their higher growing rate. Protein restriction during growing period could diminish this growth rate reducing the feeding costs. The effect of protein restriction on the transcriptome of muscle longissimus dorsi was analyzed in order to identify gene networks and pathways modified by this restriction, in the middle (45 kg) and at the end (90kg) of growing period. A total of 219 and 84 differentially expressed genes and isoforms were identified in RNA samples of longissimus dorsi at 45 and 90 kg, respectively. The GO enrichment analyses revealed a total of 134 GO terms enriched with DE genes at 45 kg related mainly with immune system and 14 GO terms at 90 kg involved in growth and development of bone and muscles. These results indicate a differential effect of protein restriction on longissimus dorsi transcriptome depending of the growth stage.

Keywords: protein restriction; transcriptome, longissimus dorsi, Duroc x Iberian crossbred

ANÁLISIS DE TERNEZA EN LOMO CURADO DE UNA LÍNEA COMERCIAL DE CERDOS IBÉRICOS PUROS

Fernández-Barroso¹, M.A., Gómez², F., Caraballo¹, C., Sánchez- Esquiliche², F., Ramírez², L., López-García¹, A., Taverro¹, A., Palma-Granados¹, P., García-Casco¹, J.M. y Muñoz¹, M.
¹Centro de I+D en Cerdo Ibérico, INIA, Ctra. EX101 km 4,7. 06300 Zafra, Badajoz. ²Sánchez Romero Carvajal Jabugo S.A. Ctra. San Juan del Puerto, 21290 Jabugo, Huelva
 fernandez.miguel@inia.es

INTRODUCCIÓN

El sistema tradicional de producción del Cerdo Ibérico, unido a las características genéticas de la raza, influyen de manera importante en la calidad de la carne y en el valor económico de sus productos curados, la cual está afectada considerablemente por el contenido en grasa intramuscular y el perfil de ácidos grasos (López-Bote, 1998). Además de éstos, la terneza debe ser considerada también como un carácter relacionado con la calidad. Ciertos parámetros del periodo de curación, como temperatura, tiempo de salado y cantidad en sal, y procesos como la proteólisis, pueden afectar a la textura, habiéndose descrito polimorfismos en genes candidatos con efecto en la misma (Gandolfi et al., 2011) que ponen de manifiesto un componente genético. Por todo ello, estos caracteres de calidad pueden ser tenidos en cuenta en un programa de mejora para Cerdo Ibérico (Silió, 2000). El objetivo del presente trabajo consistió en realizar estimas de componentes de varianza y covarianza sobre la resistencia al corte (F_{max}) y la fuerza de compresión (F_0), inversamente relacionadas con terneza, además de un análisis de asociación del efecto de determinados SNPs, en muestras del músculo *longissimus dorsi* curado procedentes de cerdos de sacrificio de un programa de selección que se lleva a cabo en una empresa de elaboración tradicional de productos curados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y datos fenotípicos. Se sacrificaron 490 machos castrados Ibéricos puros de montanera con una edad aproximada de 17 meses y un peso medio de 165 kg, procedentes del programa de mejora genética que la empresa Sánchez Romero Carvajal desarrolla en la finca Montecastilla (Muñoz et al., 2016). Tras el sacrificio, un lomo de cada animal se procesó con el procedimiento habitual de curación de esta industria en sus instalaciones de Jabugo (Huelva), manteniéndose la trazabilidad individual. Al finalizar su curación, los lomos se envasaron al vacío y se realizaron dos determinaciones de textura instrumental: resistencia al corte mediante Warner-Bratzler (WB) y compresión mediante Stress-Relaxation Test (SR) con texturómetro TA.TXplus (Stable micro systems, U.K.), aplicándose una célula de carga de 30 kg. Los parámetros fueron analizados con el software Exponent Lite.

Para la prueba WB con la sonda *Warner Bratzler blade (HDP/BSW)* se prepararon 8 paralelepípedos de 3 x 1 x 1 cm por muestra y se midió la fuerza máxima de corte (F_{max} en kg/cm²), colocando las muestras con las fibras musculares en perpendicular a la dirección del movimiento vertical de la sonda. La velocidad de ensayo fue de 1,5 mm/s y velocidad de adquisición de datos de 250 puntos/s. Para el análisis SR se determinó la fuerza inicial F_0 en kg/cm² según el protocolo descrito por Fernández-Barroso et al. (2017). Además se determinó el contenido en grasa intramuscular (IMF) en porcentaje, medido mediante espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS) (Solís et al., 2001) en otras muestras de los lomos.

Se calcularon las correlaciones de Pearson entre las medias corregidas de cada lomo de F_{max} , F_0 e IMF (software RStudio V. 0.99.902).

Estimas de Parámetros Genéticos y covarianza. Se estimaron los componentes de varianza, la heredabilidad (h^2) y correlación genética mediante VCE (V.6.0.2.) (Groeneveld et al., 1999), utilizando el siguiente modelo bivalente:

$$\begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} X_1 & 0 \\ 0 & X_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} Z_1 & 0 \\ 0 & Z_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_1 \\ a_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} W_1 & 0 \\ 0 & W_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} sm_1 \\ sm_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} e_1 \\ e_2 \end{pmatrix}$$

Dónde, y_1 e y_2 son los valores fenotípicos correspondientes a los caracteres de textura instrumental medidos (F_{max} y F_0), β_1 y β_2 , los vectores de efectos fijos que incluyen la media del peso de los dos lomos e IMF como covariables, a_1 y a_2 son los vectores de los efectos genéticos aditivos, sm_1 y sm_2 , los vectores del efecto aleatorio conjunto debido a la montanera

y a la fecha de sacrificio (21 niveles), y e_1 y e_2 , los vectores que incluyen los efectos residuales. X , Z , W son las matrices de incidencia que relacionan los parámetros con las observaciones fenotípicas.

Análisis de asociación. Estos 490 individuos fueron genotipados para 32 SNPs localizados en 12 genes candidatos (*CAPN1*, *CAPN3*, *CAPNS1*, *CAPNS2*, *CASP3*, *CASP9*, *CTSB*, *CTSL*, *MYH1*, *MYH3*, *MYOD*, *PRKAG3*) mediante la plataforma TaqMan OpenArray.

Para llevar a cabo el análisis de asociación, se utilizó un modelo univariante análogo al usado en la estimación de componentes de varianza, pero incluyendo en β el efecto del SNP analizado, de acuerdo con el número de copias del alelo más frecuente (0, 1, 2).

$$y = X\beta + Za + W_{sm}sm + e,$$

Estos análisis fueron llevados a cabo con el programa *qxpak* 4.0 (Pérez-Enciso y Misztal, 2004). Para corregir la multiplicidad de tests, se fijó un umbral de significación de *p-value* < 0,005, correspondiente a un FDR menor al 10% calculado por Bonferroni.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media para *Fmax* fue de 6,90 kg/cm² (SD = 2,00), mientras que la *F0* media fue de 5,20 kg/cm² (SD = 1,54).

La correlación fenotípica observada entre los caracteres de textura instrumental *Fmax* y *F0* fue significativa ($p < 0,001$) positiva pero moderada ($r = 0,37$). Respecto a las correlaciones entre *Fmax* y *F0* con IMF, fueron significativas ($p < 0,001$) negativas y algo más bajas ($r = -0,27$ y $-0,13$, respectivamente), apuntando a una cierta disminución de la dureza y fibrosidad de la carne para lomos con mayor contenido en grasa intramuscular, puesta ya de manifiesto por Ruiz et al. (2000).

Los valores estimados de h^2 para *Fmax* y *F0* fueron 0,31 (SE=0,07) y 0,20 (SE=0,06), respectivamente. Además, se observó una correlación genética entre ellos positiva y moderada 0,26 (SE=0,2).

Respecto a los análisis de asociación, cuatro de los 32 SNPs presentaban un solo alelo y otro de ellos problemas de genotipado. Los otros 27 tenían un MAF > 0,05, mostrando nueve de ellos frecuencias intermedias. Finalmente, 19 SNPs fueron utilizados en los análisis de asociación ya que los otros ocho co-segregaban. Se observaron un total de 7 asociaciones significativas a nivel nominal para *Fmax*.

La Tabla 1 muestra los SNP con efecto más significativo para *Fmax*. *CAPN1_rs19695409* afecta significativamente la resistencia al corte -0,93 (SE=0,25), por lo que en este caso, la sustitución del alelo G por C estaría asociada con carnes más tiernas. Asimismo, se observaron efectos significativos de la sustitución alélica C por T en el SNP *PRKAG3_rs3304278*, de nuevo sobre resistencia al corte *Fmax* 0.48 (SE=0,15).

En un estudio previo en los que se analizaba la asociación de los mismos SNPs en caracteres relacionados con calidad en carne fresca y cocinada, se observaron efectos de SNPs localizados en los genes *CAPN1* y *PRKAG3* en resistencia al corte y pérdidas de agua en carne fresca, respectivamente (Fernández-Barroso et al., 2018). En este estudio previo, aunque el SNP con efecto del gen *PRKAG3* era el mismo, el localizado en *CAPN1* era el *CAPN1_rs81358667*, el cual no se encuentra en desequilibrio de ligamiento con *CAPN1_rs19695409* ($r^2 = 0,14$). Por último, ningún SNP mostró tener un efecto significativo sobre el carácter fuerza de compresión (*F0*).

Las estimas de parámetros genéticos presentadas en este trabajo son las primeras que se realizan sobre estos caracteres medidos en producto curado en Cerdos Ibéricos, siendo los valores de heredabilidad inferiores a los obtenidos en otros caracteres de calidad de canal y de carne (García-Casco et al., 2014). No obstante su evaluación genética convencional en un programa de mejora supondría un elevado coste tanto por la complejidad de medición como por el valor del producto curado. La importancia de la textura para la calidad del producto convierte a estos caracteres en apropiados para estrategias de búsquedas de genes candidatos mediante paneles de SNPs especialmente diseñados. En este sentido, los resultados de asociación encontrados en este y en anteriores trabajos, permiten avanzar hacia

diseños de programas que incluyan en un futuro la pre-selección de los verracos basándose en el genotipo de los mismos.

Tabla 1. SNPs con efecto significativo sobre el carácter resistencia al corte medido mediante WB (*Fmax*)

SNP	MAF	a (SE)	LR	p-value
CAPN1_rs19695409	0.08	-0.93 (0.25)	13.92	1.9x10 ⁻⁴
PRKAG3_rs3304278	0.32	0.48 (0.15)	10.19	0.001

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Fernandez-Barroso, M.A. et al. 2017. ITEA (Zaragoza). • Fernández-Barroso, M.A. et al. 2018. XIX Reunión Nac. Mej. Gen. Anim. (León). • Gandolfi, G. et al. 2011. Meat Sci. 89: 478-485. • García Casco, J.M. et al. 2014. Spanish J. Agric. Res. 12 (2): 388-395 • Groeneveld E. et al. 1999. PEST Multivariate Pred. and Estim. V. 4.1. Univ. of Illinois. • López-Bote, C. J. 1998. Meat Sci. 49: 17–27. • Morales, R. et al. 2007. Meat Sci. 76: 536-542. • Muñoz, M. et al. 2016. IX Inter. Sym. Med. Pig (Portalegre). • Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. (2004). Bioinformatics, 20 (16): 2792-2798. • Ruiz, J. et al., 2000. Food Res. Inter. 33 (2): 91-95. • Silió L. 2000. Inter. Com. for Anim. Rec. 511–520 (Roma). • Solís, M. et al. 2001. ITEA, 22: 613-615.

Agradecimientos: Los autores muestran su agradecimiento a Luis Silió y Carmen Rodríguez por su trabajo continuado durante todos estos años en el diseño y desarrollo del Programa de mejora que el INIA lleva a cabo en la ganadería de SRC Jabugo S.A. Este trabajo se realizó gracias a la financiación de SRC Jabugo S.A. (Proyecto CON15-078) y a la colaboración de su personal. Así mismo, agradecen a José Taverro su asistencia técnica en el procesado de los lomos para realizar las medidas instrumentales.

DRY-CURED LOIN TENDERNESS ANALYSIS IN COMMERCIAL PUREBRED IBERIAN PIGS

ABSTRACT: The high quality of dry-cured Iberian products and their economic value are very important factors to take into account in a breeding program. Traits like intramuscular fat content (*IMF*) and tenderness have greatly influence in dry-cured meat products. Two different instrumental texture analyses: Shear Force Warner-Bratzler (*WB*) and Stress Relaxation Test (*SR*) in samples of dry-cured Iberian loin were performed. Shear (*Fmax*, kg/cm²) and initial forces (*F0*, kg/cm²) were measured for *WB* and *SR* tests, respectively. In the current study, phenotypic correlations between these traits and *IMF*, genetic variance components estimation and association analyses between *Fmax* and *F0* were carried out.

Results showed a moderate positive correlation (0.37) between *F0* and *Fmax*, and moderate negative correlations between instrumental texture parameters (*F0*, *Fmax*) and *IMF* (-0.27 and -0.13, respectively). The heritability values for *Fmax* and *F0* were moderate (0.31 and 0.20, respectively) and genetic correlation between these two traits were moderate positive (0.26). In addition to this, association analyses showed *CAPN1_rs19695409* and *PRKAG3_rs3304278* have significant effects on *Fmax*. Similar effects on shear force of cooked meat of other SNP mapped on *CAPN1* were also observed in a previous study. These results suggest that *F0* and *Fmax* have a genetic basis and their inclusion in a genetic breeding program should be considered.

Keywords: Iberian dry-cured loin, tenderness, candidate genes, SNPs

EFFECTO DEL GEN *SCD* EN EL RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE LAS CERDAS

Solé¹, E., Pena¹, RN., Tor¹, M., Reixach², J. y Estany¹, J.

¹ Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, 25198 Lleida.

²Selección Batallé, 17421 Riudarenes, Girona

emma.sole@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

La composición de la grasa, y en particular el contenido de ácido oleico, tiene cada vez más importancia en la calidad tecnológica, nutricional y sensorial de la carne. La estearoil-CoA desaturasa (*SCD*) es una desaturasa Δ -9 de ácidos grasos que interviene en la biosíntesis de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA). Estany et al. (2014) demostraron que los cerdos portadores del alelo T del polimorfismo AY487830: g.2228T>C, ubicado en la región promotora del gen *SCD*, tienen una mayor proporción de MUFA en su grasa. En experimentos posteriores hemos comprobado que el cambio que este polimorfismo provoca en la composición de la grasa no afecta ni el peso vivo ni el contenido total de grasa, pero desconocemos, sin embargo, si influencia los caracteres reproductivos. En vacuno, se ha observado que un polimorfismo similar, localizado en el primer exón del gen, y que modifica el contenido de MUFA de la leche, podría influir en el rendimiento reproductivo de las vacas (Mele et al., 2007; Nanaei et al., 2014). La composición de las reservas grasas durante la gestación puede afectar la composición de la leche y ésta a su vez el posterior rendimiento reproductivo. En esta línea, Skrzypczak et al. (2015) observaron que el contenido de ácidos grasos insaturados en el calostro y la leche se relacionaba favorablemente con el peso y la mortalidad de los lechones. El consumo de leche rica en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) durante las primeras horas de vida de los lechones podría proporcionar funciones inmunológicas beneficiosas para su supervivencia (Leskanich y Noble, 1999).

En el presente trabajo se ha analizado el efecto del polimorfismo AY487830: g.2228T>C del gen *SCD* sobre el número y el peso de lechones producidos por parto, además de sobre el contenido y la composición de la leche materna.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y registros. Se utilizaron 1.190 cerdas Duroc, todas ellas con genotipo *SCD* conocido, cuyo rendimiento reproductivo se controló durante tres años (2016-2018). Se registraron entre 1 a 7 partos por cerda hasta un total de 3.687 partos. Las cerdas se criaron en la misma granja y bajo el mismo sistema de manejo y alimentación, que fue el habitual en condiciones comerciales. De cada parto, se anotó el número de nacidos totales (NT), nacidos vivos (NV) y nacidos muertos (NM). En 2.516 de los partos, se registró además el número de destetados (ND), el peso de la camada (PCA) y el peso medio del lechón (PML). Las camadas se pesaron cuatro días antes (a los 22,8 días, DS 2,02) del final de la lactación (26,76 días, DS 1,97). La distribución de las cerdas según su genotipo *SCD* se muestra en la **Tabla 1**.

Además, a 81 cerdas, la mayoría elegidas al azar en un lote, se les tomó una muestra de leche a los seis días (5,9 días, DS 2,8) después de su primer parto. Se recolectaron unos 15 ml de leche de las mamas ventrales e inguinales previa inyección de 2 ml de oxitocina vía intramuscular. Las muestras fueron congeladas a -20°C hasta su procesado.

Genotipado. El genotipo del polimorfismo *SCD* AY487830: g.2228T>C se determinó a partir de ADN aislado de una muesca de oreja mediante un protocolo de High Resolution Melt (Luminaris Color HRM Master Mix, ThermoFisher) en un termociclador a tiempo real (QuantStudio 3, LifeTechnologies), según se indica en Estany et al. (2014).

Determinación composición ácidos grasos. La determinación del contenido graso de la leche se realizó por gravimetría siguiendo una adaptación del método propuesto por Feng et al. (2004) y la de su composición en ácidos grasos (hasta 28) mediante cromatografía de gases de acuerdo con Bosch et al. (2009). Todas las muestras se determinaron por duplicado.

Análisis de datos. El efecto del polimorfismo *SCD* sobre NT, NV y NM se analizó con un modelo que incluyó el efecto año-estación (11 niveles), orden de parto (de 1 a 7) y genotipo *SCD* de la cerda (CC, CT y TT), como efectos fijos, y la cerda como efecto aleatorio. El mismo

modelo se utilizó para ND, pero añadiendo la covariable número de lechones al inicio de la lactación. Para PCA y PML, se incorporó al modelo como covariables el número de cerdos pesados y los días de lactación. La materia grasa y la composición en ácidos grasos de la leche se analizaron mediante un modelo que incluyó el genotipo, los días de lactación y la materia grasa (sólo en los ácidos grasos). Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico JMP Pro13 (SAS Institute Inc, Cary, NC). La diferencia entre genotipos se contrastó mediante la prueba de Tukey-HSD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El genotipo *SCD* no afectó ni al tamaño de la camada ni al peso de los lechones al destete, no observándose por otra parte ninguna tendencia relevante que pudiera sugerir la existencia de un efecto (**Tabla 1**). No existen otros estudios en porcino que hayan estudiado el efecto del gen *SCD* sobre el rendimiento reproductivo de una cerda. Los únicos efectos descritos son en vacuno de leche y se refieren a la duración de la gestación y del periodo de secado (Nanaei et al., 2014). Por el contrario, y a pesar de la poca potencia del diseño experimental utilizado, los resultados obtenidos indican que el gen *SCD* puede afectar la composición de la leche (**Tabla 2**) y además en el sentido esperado en relación con lo observado en la grasa intramuscular y subcutánea (Estany et al., 2014). El genotipo *SCD* influye en el porcentaje de ácido oleico (C18:1,n9) de la leche de cerda, así como en el de algunos otros ácidos grasos poco abundantes (C8:0; C20:2; y C24:0). En particular, la leche de las cerdas portadoras del alelo T (TT y CT vs. CC) resulta, porcentualmente, más rica en C18:1,n9 (3,35% \pm 1,71, $p < 0,10$) y MUFA (2,59% \pm 1,28, $p < 0,05$) y menos en SFA (-2,13% \pm 1,14, $p < 0,10$). En consecuencia la leche de estas cerdas presente una relación MUFA/SFA más favorable (0,16 \pm 0,07, $p < 0,05$). No nos consta hasta la fecha ningún estudio en porcino que haya investigado el efecto del gen *SCD* en la composición de la leche, pero sí en vacuno, donde se ha descrito la existencia de un alelo que pudiera estar asociado a más MUFA, pero también a una menor producción de leche (Carvajal et al., 2016).

Tabla 1. Medias mínimos-cuadráticas (\pm error estándar) del número de nacidos totales, vivos, muertos y destetados por parto y del peso medio del lechón según genotipo *SCD*.

	Genotipo <i>SCD</i> AY487830:g.2228T>C		
	TT	CT	CC
Número de cerdas	1620	1916	151
Nacidos totales	11,67 \pm 0,17	11,68 \pm 0,16	11,74 \pm 0,33
Nacidos vivos	10,76 \pm 0,17	10,70 \pm 0,16	10,79 \pm 0,33
Nacidos muertos	0,91 \pm 0,07	0,98 \pm 0,07	0,95 \pm 0,14
Número de destetados	9,7 \pm 0,05	9,70 \pm 0,05	9,66 \pm 0,12
Peso camada	54,05 \pm 0,3	53,95 \pm 0,3	53,48 \pm 0,8
Peso medio lechón	5,54 \pm 0,03	5,53 \pm 0,03	5,47 \pm 0,08

Ninguna diferencia entre genotipos fue significativa ($p > 0,05$)

Tabla 2. Medias mínimos-cuadráticas (\pm error estándar) de la materia grasa y de la composición de la leche según genotipo SCD (SFA: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos polinsaturados).

	Genotipo SCD AY487830:g.2228T>C		
	TT	CT	CC
Número de cerdas	17	57	7
Materia grasa, %	5,26 \pm 0,47	5,83 \pm 0,26	6,98 \pm 0,74
SFA,%	36,17 \pm 0,67	36,01 \pm 0,36	38,22 \pm 1,07
MUFA,%	46,81 \pm 0,75 ^{AB}	47,57 \pm 0,41 ^A	44,60 \pm 1,20 ^B
PUFA,%	17,01 \pm 0,54	16,41 \pm 0,29	17,18 \pm 0,85
C18:1,n9	33,98 \pm 1,01 ^{ab}	35,52 \pm 0,55 ^a	31,40 \pm 1,60 ^b
MUFA/SFA	1,31 \pm 0,04	1,34 \pm 0,02	1,17 \pm 0,07
C16:1,n9/C16:0	0,34 \pm 0,02	0,31 \pm 0,01	0,34 \pm 0,03
C18:1,n9/C18:0	8,99 \pm 0,31	8,77 \pm 0,17	7,90 \pm 0,49

^{a,b} Letras distintas indican diferencias significativas entre genotipos ($p < 0,05$)

^{A,B} Letras distintas indican diferencias significativas entre genotipos ($p < 0,1$)

En conclusión, los resultados obtenidos indican que el efecto favorable del alelo T del polimorfismo AY487830:g.2228T>C del gen SCD sobre el contenido de MUFA en la grasa subcutánea e intramuscular se replica en la composición de la leche de la cerda, pero que su efecto no es determinante para modificar ni su rendimiento reproductivo ni el peso de los lechones al destete.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bosch, L. et al. 2009. Meat Sci. 82 : 432.
- Carvajal, A. M. et al. 2016. Genet. Mol. Res. 9: 15(2).
- Estany, J. et al. 2014. PLoS One. 9: e86177.
- Feng, S. et al. 2004. J. Dairy Sci. 87:3785.
- Leskanich, C. O. & Noble, R. C. 1999. Br. J. Nutr. 81: 87-106.
- Mele, M. et al. 2007. J. Dairy Sci. 90: 4458–4465.
- Nanaei, H. A. et al. 2014. Reprod. Dom. Anim. 49: 769–774.
- Skrzypczak, E. et al. 2015. Anim. Sci. J. 86:83-91.

Agradecimientos: Trabajo financiado por el proyecto AGL2015-65846-R y fondos FEDER. E. Solé es beneficiaria de una beca doctoral de la Universidad de Lleida.

EFFECT OF THE SCD GENE ON REPRODUCTIVE TRAITS IN PIGS

ABSTRACT: The aim of the study was to investigate the effect of the AY487830: g.2228T>C polymorphism at the SCD gene on litter size (total number of piglets born; number of piglets born alive and number of weaned piglets) and weaning weight. The effect of the polymorphism on fat content and composition of the milk was also investigated. Data from 3.687 litters and 81 milk samples were used in the experiment. No differences between SCD genotypes were observed for litter size, litter weight and average weaning weight. However, results indicated that the milk from sows carrying the T allele, in line with what occurs in the adipose tissue, can be more prone to accumulate monounsaturated fatty acids. The biological implications of this are unknown but they do not seem to impair reproductive performance.

Keywords: SCD, pigs, fatty acid, milk, litter size.

ANÁLISIS GWAS DE CARACTERES RELACIONADOS CON LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN RASA ARAGONESA MEDIANTE EL CHIP DE MEDIA Y ALTA DENSIDAD

Lakhssassi, K. ¹, Lahoz, B. ¹, Sarto, P. ¹, Iguacel, L. P. ¹, Folch, J. ¹, Alabart, J.L. ¹, Ramón, M. ², Calvo, J.H. ^{1,3} y Serrano, M. ⁴

¹ CITA-IA2. Av. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. ² IRIAF. Cersyra-Valdepeñas, Av. del Vino 10, 13300, Ciudad Real, España ³ ARAID. Av. Ranillas I-D, 50018, Zaragoza, España. ⁴ INIA. Ctra. de La Coruña km 7,5. 28040 Madrid, España.

INTRODUCCIÓN

La estacionalidad reproductiva en ovino de carne provoca una variación de la oferta-demanda de corderos a lo largo del año que da lugar a precios muy bajos en primavera, cuando hay más oferta de corderos, y muy altos en otoño, cuando la oferta es mucho menor (Fantova y Casas, 2010). Esto afecta en gran medida a la economía de los agricultores, los consumidores y la industria alimentaria. Para hacer frente a esta situación, se están empleando tratamientos hormonales como implantes de melatonina, progestágenos+eCG y otras técnicas, que tienen como fin forzar la reproducción en contra-estación y así homogeneizar la producción de corderos a lo largo del año. Sin embargo, la UE limita de forma creciente el uso de productos hormonales en la producción animal. De hecho, el uso de estos tratamientos está ya prohibido en las ganaderías ecológicas. Existe, por tanto, la necesidad de identificar métodos alternativos eficaces. Una posibilidad, es el uso de estrategias genéticas que nos permitan detectar genes asociados a la estacionalidad reproductiva para seleccionar los animales más fértiles en época de anestro estacional que contribuyan a incrementar la eficiencia y rentabilidad de las explotaciones.

En consecuencia, el objetivo principal de este trabajo es el estudio de asociación de genoma completo (GWAS) con el fin de identificar nuevos SNPs y genes asociados a la estacionalidad reproductiva en ovejas de Rasa Aragonesa mediante chips de SNPs de media (50K) y alta densidad (680K) de *Illumina Ovine Beadchip*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Datos. En este estudio se utilizaron 205 ovejas Rasa Aragonesa pertenecientes a la granja experimental de Ayés (Huesca) de Oviaragón: 108 de ellas genotipadas con el chip de 50K (*Illumina OvineSNP50 BeadChip*) y 97 con el chip de 680K (*Illumina AgResearch Sheep HD de 680 K*). Desde enero hasta septiembre se tomaron datos de peso y condición corporal (CC) cada 3 semanas, así como una muestra de plasma sanguíneo para medir la concentración de progesterona semanalmente. Igualmente, durante todo el periodo se controló la actividad sexual de las hembras mediante detección de celos por machos vasectomizados provistos de arneses con pastillas marcadoras. Los caracteres analizados fueron los fenotipos relacionados con la estacionalidad reproductiva en ovejas descritos por Martínez-Royo et al. (2017): número total de días de anestro (DTA); ciclicidad por progesterona (CiP4) y ciclicidad por celos (CiCe). Brevemente, DTA serían los días totales de anestro reproductivo para cada oveja, considerando como tales aquellos periodos con 3 o más medidas de progesterona por debajo del umbral de actividad ovárica, situado en 0,5 ng/ml. CiP4 sería el porcentaje de meses cíclicos por progesterona, considerando un mes cíclico para cada oveja aquel en el que al menos hay una medida de concentración de progesterona superior al umbral de actividad ovárica. Por último, CiCe se correspondería al porcentaje de meses cíclicos por celos, considerando un mes cíclico para cada oveja aquel en el que ha mostrado al menos un celo.

Análisis. Se utilizó el software Plink1.9 (Chang et al., 2015) para la edición y filtrado de calidad de los datos y el programa Beagle4.0 (Browning y Browning, 2007) para la imputación. Para la detección de regiones genómicas asociadas a los caracteres estudiados en ese trabajo, se realizó un análisis de asociación a genoma completo (GWAS) con el programa GCTA (Genome-wide Complex Trait Analysis) (Yang et al., 2011) a nivel genómico usando un modelo lineal mixto (MLMA) y cromosómico con el MLMA-LOCO (leaving-one-chromosome-out) incluyendo la edad como covariable discreta y la CC y peso como covariables cuantitativas. El análisis GWAS se llevó a cabo bajo distintos escenarios: 1) análisis con SNPs de 50k y 680k imputados; 2) análisis con solo los SNPs comunes entre los chips de 50k y 680k; 3) análisis únicamente con los SNPs de 680k. Tras el control de calidad quedaron

disponibles para el estudio GWAS un total de 583.882 SNPs y 205 animales; 41.012 SNPs y 205 animales; 567.387 SNPs y 97 animales, respectivamente para cada escenario. Los p-valor fueron corregidos mediante Bonferroni y FDR (False Discovery Rate, Benjamini y Hochberg, 1995) a nivel genómico y cromosómico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos con MLMA y LOCO fueron muy similares. No se encontraron resultados significativos a nivel genómico, pero sí a nivel cromosómico con una FDR del 10%. Los SNPs significativos fueron distintos en los tres análisis realizados (Tabla 1).

Los SNPs del cromosoma 23 aparecen para los 3 caracteres en el escenario 1 y solo para el carácter CiCe en el escenario 3. Estos SNPs se encuentran cercanos al gen *CD226* que en humano se ha relacionado con enfermedades reproductivas como el teratoma quístico ovárico y teratoma maduro del ovario. El SNP s20800.1 del cromosoma 15 fue significativo para DTA y CiP4 en el escenario 2, mientras que el SNP oar3_OAR15_2070855 del mismo cromosoma se encuentra asociado con DTA en el escenario 3. Por otro lado, los SNPs del cromosoma 4 significativos para CiP4 están a 34kb del gen *NPY* (Neuropeptide Y) que influye en muchos procesos fisiológicos, incluyendo los ritmos circadianos, anorexia y pérdida de peso. Clarke et al. (2005) determinaron que el *NPY* estimula el consumo de alimento e inhibe la reproducción en la oveja. Esto explicaría uno de los mecanismos neuroendocrinos y fisiológicos que integran la nutrición con la reproducción.

La divergencia de resultados significativos se puede explicar por la escasa potencia del estudio debido al limitado número de animales analizados. Se recomienda ampliar el tamaño muestral para validar los resultados obtenidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benjamini, Y. & Hochberg, Y. 1995. *J. R. Statist. Soc. B*, 57, 289–300.
- Browning, SR. & Browning, BL. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81: 1084-1097.
- Chang, C.C. et al. 2015. *GigaScience* 4 (www.cog-genomics.org/plink/1.9/).
- Clarke, I.J., Backholer, K. & Tilbrook, A.J. 2005. *Endocrinology*. 146: 769-775.
- Fantova, E. & Casas, J.P. 2010. *Albeitar* 141: 8-9
- Martínez-Royo, A., Alabart, J.L., Sarto, P., Serrano, M., Lahoz, B., Folch, J. & Calvo. 2017. *Theriogenology* 99:21-29
- Yang, J. et al. 2011. *Am. J. Hum. Genet.* 88(1): 76-82.

Agradecimientos: Financiado con fondos FEDER, los proyectos INIA RTA2013-0041 y RTA2015-0090, y el Gobierno de Aragón (Grupo SAGAS Ref. A14_17R). K. Lakhssassi está financiada por un contrato para la formación de doctores del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidad (BES-2017-080154). Al Equipo Técnico Veterinario de UPRA-Grupo Pastores en la selección y toma de muestras.

GWAS OF REPRODUCTIVE SEASONALITY TRAITS IN RASA ARAGONESA THROUGH THE MEDIUM AND HIGH-DENSITY CHIPS

ABSTRACT: The aim of this study was to identify genomic regions influencing 3 reproductive seasonality traits in the Rasa Aragonesa sheep breed: total days of anoestrus (DTA), the progesterone cycling months (CiP4) and the oestrus cycling months (CiCe). A total of 205 ewes were included in this study: 108 of them were genotyped with the 50K chip and 97 with the 680K *Illumina* *Ovine* *Beadchip*. GWAS was carried out under different scenarios: 1) analysis with imputed SNPs of 50K and 680K; 2) analysis with the common SNPs between the 50K and 680K chips; 3) analysis with SNPs of the 680K chip only. We used the MLMA and the MLMA-LOCO of GCTA software for the association analysis. Different SNPs reached the chromosome-wide threshold significance level depending on the analysis method and the analyzed trait. *CD226* and *NPY* genes were the most important candidate genes. The first one is related to reproductive diseases such as cystic ovarian teratoma and mature ovarian teratoma in human and the other one influences many physiological processes, including circadian rhythms, anorexia and weight loss. The divergence of significant results can be explained by the low power of the study due to the limited number of animals analyzed. It is recommended to enlarge the sample size to validate the results obtained.

Keywords: seasonality, Rasa Aragonesa, GWAS, GCTA

Tabla 1. SNPs significativos a nivel cromosómico (FDR 10%) asociados con cada rasgo de esta con los SNPs de los chips de 50k y 680k imputados; 2) análisis con los SNPs comunes entre lo del chip de 680k.

	Escenario1		Escenario2	
	Chr	SNP	Chr	SNP
DTA	23	oar3_OAR23_7427625	11	s30798.1
			11	s68143.1
			15	s20800.1
			26	OAR26_2545550.1
CiP4	4	oar3_OAR4_71540823	15	s20800.1
	4	oar3_OAR4_71552651	20	OAR20_3201268.1
	6	oar3_OAR6_114690755		
	7	oar3_OAR7_87670575		
	23	oar3_OAR23_7427625		
CiCe	18	oar3_OAR18_19470396	12	OAR12_27129992.1
	23	oar3_OAR23_7427625	27	s05401.1
	23	oar3_OAR23_7428353		
	23	oar3_OAR23_48239663		

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA CRECIMIENTO INDIVIDUAL Y EFICIENCIA ALIMENTARIA COLECTIVA EN CONEJOS BAJO DOS RÉGIMENES DE ALIMENTACIÓN

Sánchez¹, J.P., Legarra², A., Velasco¹, M., Piles¹, M., Rafel¹, O., González¹, O. y Ballester¹, M.

¹Institute of Agriculture and Food Research and Technology (IRTA), 08140, Spain. ²INRA, Castanet-Tolosan, 31326, Francia.
juanpablo.sanchez@irta.es

INTRODUCCIÓN

En especies de producción intensiva, como es el caso del conejo, el control de la eficiencia alimentaria es clave para garantizar la rentabilidad de la producción dado que los gastos de alimentación suponen hasta un 70% del total. Por eso, caracteres como el índice de conversión de alimentos (ICA), siempre han sido objetivo de selección en las líneas terminales. La consideración del ICA como criterio de selección requiere la medición del consumo individual. Dada la difícil obtención de estas medidas, se tiende a actuar sobre el ICA de forma indirecta seleccionando por crecimiento, negativamente correlacionado con ICA (Piles et al., 2004); aproximación que puede no ser óptima. La secuenciación del genoma del conejo (Carneiro et al., 2014) ha permitido el desarrollo de un panel de SNPs para esta especie, que se puede usar para explorar qué regiones genómicas controlan los caracteres de interés. En nuestro caso, el interés radica en el crecimiento de animales alimentados a voluntad (ADGv), su consumo (Fiv), su índice de conversión (FCRv) y el consumo de pienso residual (RFiv); los tres últimos como medias de jaula. Igualmente se explorará la asociación genómica entre los SNPs del panel y el crecimiento de animales sometidos a restricción alimentaria (ADGr). Este último carácter puede entenderse como una medida de eficiencia (Nguyen y McPhee, 2005) y se corresponde con un manejo habitual en las granjas comerciales para controlar patologías digestivas (Gidenne et al., 2012).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se registró el crecimiento individual post-destete (28d-56d) de 1.454 animales de la línea Caldes producidos en 5 lotes, encuadrados en un experimento más extenso que se describe en Piles et al. (2017), y distribuidos en 198 jaulas (6-8 animales cada una) de las cuales 99 fueron alimentadas a voluntad (V) y el resto sometidas a una restricción (R) del 75% respecto al consumo a voluntad. Se registró el consumo medio diario en las jaulas alimentadas a voluntad. Al final del cebo se muestrearon entre 1 y 4 animales de aproximadamente un tercio de las jaulas de los 5 lotes considerados. En el momento del sacrificio, se tomó una muestra de hígado de la que se extrajo ADN genómico usando un kit comercial (NucleoSpin Tissue (250prep); Macherey-Nagel) para su posterior genotipado con el chip de SNPs desarrollado por Affymetrix (200K Affymetrix Axiom Orcun SNP Array). Se retuvieron los animales con un porcentaje de genotipos satisfactorio superior al 90%, y se descartaron los SNPs no anotados en autosomas, con un porcentaje de genotipado correcto inferior al 5% y con una frecuencia alélica inferior al 5%. El análisis incluyó los genotipos (114.604 SNPs) de 438 gazapos con datos fenotípicos (206 R y 230 V) y de las madres de algunos de ellos (53).

El análisis de asociación se llevó a cabo mediante 3 procedimientos diferentes. i) **GWAS-reg**, implementado con QXPAK (Pérez-Enciso y Misztal, 2011), testa la regresión (Test de ratio de verosimilitudes con 1 g.l.: LRT₁) del conteo alélico de cada posición sobre los dos caracteres de crecimiento, para ello se empleó un modelo mixto que incluyó los efectos de jaula, camada y valor aditivo, además del efecto del lote. ii) **GWAS-LDLA**, asume un modelo de QTL aleatorio, en el que para cada posición se testó (LRT₁) la varianza explicada por los haplotipos de 5 SNPs (reconstruidos con HiddePHASE (Druet y Georges, 2010) a nivel cromosómico). Los haplotipos se agrupan en base a la probabilidad de identidad por descendencia; de aquí que en este método se combine desequilibrio de ligamiento y ligamiento (LDLA) (Druet et al., 2008), este método solo se aplicó a ADGr y ADGv. iii) **GWAS-bi**, consiste en testar (LRT₁) la correlación genética que se estima entre el carácter de interés y el conteo alélico en cada posición SNP. El genotipo se explica con un modelo aleatorio que únicamente incluye, además de la media, el efecto genético aditivo (Legarra y Vitezica, 2015), correlacionado con

el del carácter a estudiar. Para los caracteres individuales el modelo que se ajusta es igual que el modelo nulo considerado en GWAS-reg. Para los caracteres de grupo se emplea un modelo que considera el promedio de los valores genéticos de los animales en la jaula (Biscarini et al., 2008). Este método sólo se aplicó a 14.710 posiciones que representaban bloques haplotípicos definidos con Plink (Chang et al., 2015).

Dentro de carácter y método se hizo una corrección por test múltiples a dos niveles distintos, genómico y cromosómico, recalculándose los p-valores de los test para que generasen una tasa de falsos positivos inferior al 5% (paquete qvalue de R) <http://github.com/jdstorey/qvalue>). A partir de la lista de SNPs/Bloques que se declararon como estadísticamente asociados con los caracteres de interés se hizo un estudio de anotación de las regiones usando Biomart (<http://www.biomart.org>). Las regiones definidas inicialmente se ampliaron en 1 Mb por ambos extremos para tratar de incluir regiones que pudieran estar en desequilibrio de ligamiento con los marcadores asociados con los caracteres. Posteriormente se emplearon Mouse Genome Database (<http://www.informatics.jax.org/>), Genecards (<http://www.genecards.org/>) y Cluego (Bidea et al., 2009) para obtener información funcional de los genes candidatos que mapeaban en esas regiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El único método que generó asociaciones estadísticamente significativas a nivel genómico fue el GWAS-LDLA. Con este método se identificaron 43 SNPs asociados a ADGv, distribuidos en 10 de los 19 cromosomas autosómicos y representando 18 regiones genómicas diferentes. El análisis a nivel cromosómico reveló asociación para 88 SNPs, distribuidos en 25 regiones de los cromosomas 2, 3, 5, 6, 7, 9, 12, 14, 15, 18 y 19. El método GWAS-reg mostró asociación entre ADGv y 56 SNPs de los cromosomas 3 (1 región), 5 (2 regiones) y 21 (1 región). Este mismo método mostró también asociaciones significativas entre 50 SNPs del cromosoma 13 y ADGr, estos SNPs definen una única región de aproximadamente 2 Mb. El procedimiento GWAS-bi también dio lugar a asociaciones significativas para ADGv en las mismas regiones que las declaradas anteriormente para los cromosomas 3 y 5, además de en otra región del cromosoma 16. Para ADGr también se declararon asociados 6 bloques de una región de aproximadamente 10 Mb en el cromosoma 9.

El único procedimiento que permitió explorar las asociaciones para los 3 caracteres medidos a nivel de jaula fue GWAS-bi. Para el caso del consumo (Flv) se observó un único bloque en el cromosoma 5 significativamente asociado. El consumo de pienso residual (RFlv) se mostró asociado con 4 bloques de SNPs, 3 en el cromosoma 8 y 1 en el cromosoma 21. Este último está cerca de una región también asociada con ADGv. El FCR no mostró asociación con ninguna región cromosómica.

En la tabla 1 se indican, por método y carácter, las regiones en las que el estudio de anotación reveló algún gen candidato con funciones relacionadas con los caracteres analizados. En total se determinaron 29 genes; 4 para ADGr, 2 para Flv y 23 para ADGv. De estos últimos, 4 fueron los anotados también para RFlv. Estos 4 genes (*ATXN2*, *ACAD10*, *TRAFD1*, *PTPN11*) son particularmente relevantes por su posible efecto pleiotrópico. Otros que merecen atención con respecto a ADGv son *NDUFAF6*, que codifica para una proteína mitocondrial de la cadena respiratoria; y *FTO*, asociado previamente a caracteres de crecimiento y calidad de la carne en conejos (Zhang et al., 2013). Para ADGr, *FEZF2* y *PTPRG* pudieran ejercer su efecto a través de modificaciones o alteraciones de la conducta alimentaria; y *RC3H1* codifica para un represor transcripcional implicado en procesos inflamatorios. En relación a Flv, *CEBPA* está implicado en la homeostasis energética y *KCTD15* se ha relacionado con una disminución en la ingesta.

Como conclusión podemos señalar que se han detectado un buen número de regiones genómicas y genes candidatos implicados en el crecimiento, el consumo y la eficiencia alimentaria del conejo de carne. Aun así, se hace necesario un estudio más profundo de las mismas, en particular evaluando los efectos y las frecuencias de los polimorfismos declarados como significativamente asociados con los caracteres estudiados.

Tabla 1. Regiones cromosómicas que incluyen genes candidatos asociados a los distintos caracteres de interés.

MÉTODO	CARÁCTER	Chr.	INI_reg ¹ (Mb)	FIN_reg ¹ (Mb)	$-\log_{10}(q\text{value})^2$	N. sig. ³ SNPs/Bloq.	GENES CANDIDATOS
GWAS-bi	ADGr	9	29,66	38,72	2,40	6	<i>FEZF2, PTPRG</i>
GWAS-bi	ADGv	3	102,28	109,23	1,59	2	<i>NDUFAF6 *</i>
GWAS-bi	ADGv	5	34,36	34,36	1,79	1	<i>DYNLRB2</i>
GWAS-bi	Flv	5	3,85	3,88	1,37	1	<i>CEBPA, KCTD15</i>
GWAS-bi	RFlv	21	7,60	7,61	1,89	1	<i>ATXN2, ACAD10, TRAFD1, PTPN11</i>
GWAS-LDLA	ADGv	2	31,78	31,84	1,51	5	<i>ATP8A1</i>
GWAS-LDLA	ADGv	3	5,59	5,59	1,54	1	<i>SRFBP1</i>
GWAS-LDLA	ADGv	3	109,33	109,36	1,54	3	<i>NDUFAF6 *</i>
GWAS-LDLA	ADGv	3	138,76	138,76	1,39	1	<i>ANXA13</i>
GWAS-LDLA	ADGv	5	13,12	14,50	1,33	15	<i>BBS2</i>
GWAS-LDLA	ADGv	5	33,97	34,59	1,33	11	<i>DYNLRB2</i>
GWAS-LDLA	ADGv	6	14,10	14,10	3,39	1	<i>SCNN1G</i>
GWAS-LDLA	ADGv	7	126,63	126,63	2,17	1	<i>ITGAV</i>
GWAS-LDLA	ADGv	9	58,06	58,06	3,28	1	<i>PIGF</i>
GWAS-LDLA	ADGv	12	104,53	112,24	1,42	18	<i>ATP5IF1, GPRC6A, RFX6</i>
GWAS-LDLA	ADGv	12	129,56	129,56	1,41	1	<i>ARFGEF3</i>
GWAS-LDLA	ADGv	18	64,01	64,04	3,65	3	<i>PNLIP, PNLIPRP1, PNLIPRP2, SLC18A4</i>
GWAS-LDLA	ADGv	21	8,66	8,69	1,51	2	<i>ATXN2, ACAD10, TRAFD1, PTPN11</i>
GWAS-reg	ADGr	13	0,40	2,09	1,35	50	<i>RC3H1, TNFSF18</i>
GWAS-reg	ADGv	3	102,22	113,46	1,35	27	<i>NDUFAF6</i>
GWAS-reg	ADGv	5	9,07	9,07	1,38	1	<i>FTO, AKTIP</i>
GWAS-reg	ADGv	21	7,17	8,46	1,33	26	<i>ATXN2, ACAD10, TRAFD1, PTPN11</i>

¹La región anotada se extiende 1Mb con respecto a las posiciones indicadas. ² qvalue mínimo dentro de la región, ³ Número de SNPs o Bloques declarados como significativamente asociados con el carácter en la región. *El gen NDUFAF6 cae a menos de 1/2 Kb de los límites de las regiones definidas al anotar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bindea, G. et al. 2009. *Bioinformatics* 25(8):1091-1093. • Biscarini, F. et al. 2008. *J. Anim. Sci.* 86: 2845-2852. • Carneiro, M. et al. 2014. *Science* 345: 1074–1079. • Chang, C.C. et al. 2015. *Gigascience* 4: 7. • Druet, T. et al. 2008. *Genetics* 178 : 2227–223. • Druet, T. & Georges, M. 2010. *Genetics* 184(3): 789–798. • Gidenne, T. et al. 2012. *Animal* 6(9): 1407-1419. • Legarra, A. & Vitezica, Z. 2015. *Genet. Sel. Evol.* 47: 89. • Nguyen, N. & McPhee, C. 2005. *Genet. Sel. Evol.* 37(3): 199 - 213. • Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2011. *BMC Bioinformatics* 12: 202. • Piles, M. et al. 2004. *J. Anim. Sci.* 82(3): 654-660 • Piles, M. et al. 2017. *Genet. Sel. Evol.* 49-58 • Zhang, G. et al. 2013. *Gene* 527: 553–557.

Agradecimientos: Trabajo financiado por RTA2011-00064-00-00 y Feed-a-Gene: Proyecto financiado por el programa H2020 de Unión Europea con referencia EU 633531.

GENOME WIDE ASSOCIATION STUDY OF INDIVIDUAL GROWTH AND CAGE FEED EFFICIENCY IN RABBITS UNDER TWO FEEDING REGIMENS

ABSTRACT: Our objective was to identify rabbit genomic regions associated with growth (ADGv), feed intake (Flv), feed conversion ratio (FCRv) and residual feed intake (RFlv) recorded under full feeding, as well as with growth under restricted feeding (ADGr). To achieve this aim, 114,604 SNPs were evaluated in 438 rabbits. Three different models for testing the associations were used. The one returning the largest number of significant associations combines LD and linkage information, this provided significance at genome-wide level. The other two approaches only returned significant associations at chromosome level. Overall, at this level, ADGv resulted associated with 25 regions, ADGr with two, Flv with one and RFlv with two regions. Among the 29 candidate genes identified within these regions, four could have a pleiotropic effect among ADGv and RFlv. *FTO* was also previously associated with growth in rabbits, and some genes associated with ADGr could be linked to feeding behavior.

Keywords: GWAS, Rabbit, Growth, Feed Efficiency

IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES RELACIONADAS CON CARACTERES DE RENDIMIENTO QUESERO DE LA LECHE OVINA UTILIZANDO UN CHIP DE SNPs DISEÑADO A PARTIR DE DATOS DE RNA-Seq

Marina¹, H., Gutiérrez-Gil¹, B., Sánchez-Mayor¹, M., Esteban-Blanco¹, C., Suárez-Vega¹, A., A. Garzón², A² y Arranz¹, J.J.

¹ Dpto. de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, León 24071, España; ²Dpto. de Producción Animal, Universidad de Córdoba, Córdoba 14071, España.; hmarg@unileon.es

INTRODUCCIÓN

La leche de oveja, dado su alto contenido en elementos sólidos, se utiliza principalmente para la producción de queso de alta calidad, siendo España el país que más queso puro de oveja produce en la Unión Europea (MAGRAMA, 2015). Por ello, el estudio de los factores que influyen en el rendimiento quesero es un reto importante para la industria lechera ovina. Los programas de mejora de ovino de leche utilizan como criterio de selección el porcentaje de proteína y, en algunos casos, también el porcentaje de grasa, ambos relacionados con el rendimiento quesero. A nivel genético, los caracteres de producción de lechera son el resultado de la acción de un gran número de genes. La disponibilidad de chips de SNPs distribuidos de forma más o menos uniforme a lo largo del genoma ovino, ya sean comerciales o desarrollados “a la carta”, ha facilitado en gran medida la identificación de regiones genómicas asociadas a estos caracteres complejos, mediante el uso de análisis de asociación a nivel genómico o GWAS (García-Gámez et al., 2012; Tosser-Klopp et al., 2014). Por otra parte, el gran desarrollo que han sufrido las tecnologías de secuenciación en los últimos años, permite a día de hoy secuenciar genomas (WGSeq) y transcriptomas (RNA-Seq) completos a un precio asequible. Los datos así generados son adecuados para detectar nuevos polimorfismos a lo largo del genoma y del transcriptoma y aplicarlos al desarrollo de chips de SNPs personalizados. En este sentido, un estudio anterior de nuestro grupo describe el análisis del transcriptoma de la glándula mamaria ovina mediante RNA-Seq como método para la detección de variantes en los genes expresados durante la lactación (Suárez-Vega et al., 2017). Utilizando la información de las variantes detectadas se diseñó un Chip a la carta de SNPs (MilkProteinChip). El presente trabajo describe los resultados del correspondiente GWAS para caracteres de rendimiento quesero en una población comercial de ganado ovino lechero de raza Assaf.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y fenotipos: El estudio incluyó una población de 982 ovejas de raza Assaf pertenecientes a tres ganaderías de Castilla y León, inscritas en ASSAFE. De cada oveja se recogió, antes del ordeño de la mañana, una muestra de leche de 50 ml que fue procesada posteriormente para determinar dos caracteres relacionados con el rendimiento quesero: el rendimiento quesero en el laboratorio (ILCY) y el extracto seco de la cuajada (ILDCY). Para el análisis de asociación, se utilizaron como variables dependientes los EBVs calculados a partir de los fenotipos de los caracteres anteriores, utilizando como efectos fijos del modelo: los días en lactación, como covariable, y los días de control del rebaño, la edad al parto y el número de corderos vivos, como factores.

Diseño del MilkProteinChip: Este chip incluyó, por una parte, un total de 55.789 SNP incluidos previamente en un chip comercial ovino de media densidad; y por otra, un total de 3.194 SNPs seleccionados a partir de las 212.742 variantes identificadas por Suárez-Vega et al. (2017) a partir del análisis de RNA-Seq del transcriptoma de la glándula mamaria ovina en lactación. En esa selección se incluyeron aquellas variantes que, teniendo un MAF > 0,125, se localizaban (i) dentro de QTLs (*Quantitative Traits Loci*) o de genes candidatos para caracteres de composición lechera, y habían sido clasificadas como variantes de moderado o alto impacto funcional; o (ii) en regiones de baja densidad de marcadores del chip comercial.

Análisis de asociación y estudio de las regiones identificadas: Los genotipos brutos obtenidos para los 58.983 SNPs incluidos en el *MilkProteinChip* fueron sometidos a un control de calidad con el programa PLINK (Purcell et al., 2007), utilizando los siguientes parámetros (--mind 0.1 --geno 0.05 --maf 0.01 --hwe 0.0001). Además, el mismo programa se utilizó para realizar un análisis de desequilibrio de ligamiento (LD) con el fin de estimar el número de marcadores con $r^2 < 0,8$ (--r2) en cada cromosoma. El GWAS para los dos caracteres objeto

de estudio se realizó con el programa GeneABEL (Aulchenko et al., 2007), con el que los valores de significación obtenidos (*P-value*), se corrigieron utilizando el factor de inflación λ estimado, con el fin de subsanar la posible estratificación de la población estudiada. Siguiendo a Gao et al. (2010), los resultados del análisis de asociación se corrigieron para el múltiple número de test realizados, considerando el número de SNPs independientes obtenido en el análisis de LD para cada cromosoma (*chromosome-wise*) y para el total del genoma (*genome-wise*). Finalmente, se definió el intervalo de interés, considerando una ventana de ± 250 kb centrada en cada SNP significativo. A partir de estos intervalos, se extrajeron los genes candidatos posicionales utilizando la herramienta BioMart de *Ensembl* (<http://www.ensembl.org>) y se los QTLs previamente descritos en ganado ovino para caracteres de producción lechera a partir de la base de datos *SheepQTLdb* (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/index>)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En base al control de calidad realizado se eliminaron 12.608 marcadores (de los cuales se eliminaron: 4.141 por tener la tasa de genotipado menor al 95%; 2.218 por no ajustarse al equilibrio Hardy-Weinberg ($P < 0,0001$); 6.249 por tener un MAF menor a 0,01). También se eliminaron del análisis los marcadores localizados en el cromosoma X. A partir de los 45.331 SNPs restantes el análisis de LD identificó un total de 32.198 marcadores independientes. El análisis GWAS realizado identificó un total de tres marcadores significativos a nivel "*chromosome-wise*", ninguno alcanzó el nivel de significación "*genome-wise*" (Figura 1). En la caracterización presentada en la Tabla 1 para los SNPs significativos, se detallan los genes localizados dentro del intervalo de interés definido en cada caso. Respecto a la correspondencia de nuestros resultados con QTLs previamente identificados, nos parece destacable que en la región del SNP significativo para el carácter ILDCY en el cromosoma 17 se han descrito anteriormente dos QTL relacionados con dos caracteres de producción de leche (QTL57755: Cantidad de leche producida y QTL57756: Cantidad de grasa producida) en una población de raza Churra (García-Gámez et al., 2013). Ninguno de los genes candidatos posicionales identificados está, a priori, relacionado directamente con los caracteres objeto de estudio.

Tabla 1. Caracterización de los SNPs asociados significativamente con los caracteres rendimiento quesero en el laboratorio (ILCY) y extracto seco de la cuajada (ILDCY) según el análisis GWAS presentado en este estudio.

Carácter	Crom.	Marcador	Intervalo de interés (Mb)	Valor P	Genes candidatos posicionales
ILCY	1	AX-123214783	209.713 - 210.213	4.31E-06	NAALADL2
	7	AX-123241825	27.996 - 28.496	3.47E-05	DPH6 ENSOARG00000026703
ILDCY	17	AX-124366306	15.834 - 16.334	4.16E-05	ENSOARG00000023056 ENSOARG00000015086 ENSOARG00000025657 ZNF330

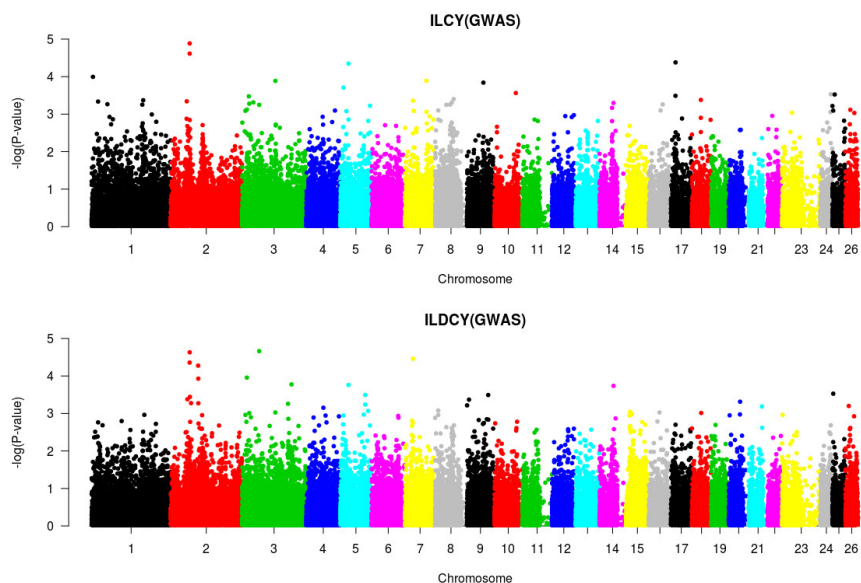


Figura 1. Manhattan plot del análisis GWAS realizado para el genoma autosómico ovino en el presente trabajo para los caracteres rendimiento quesero en el laboratorio (ILCY) y extracto seco de la cuajada (ILDCY).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aulchenko, Y.S. 2007. *Bioinforma. Appl.* 23: 1294-1296.
- Gao, X. 2010. *Genet. Epidemiol.* 34: 100–5.
- García-Gómez, E. 2012. *PLoS One* 7: e47782.
- García-Gómez, E. 2013. *J. Dairy Sci.* 96: 6059–69.
- Purcell, S. J. *Hum. Genet.* 81: 559–575.
- Suárez-Vega, A. 2017. *BMC Genomics* 18: 170.
- Tosser-Klopp, G. 2014. *PLoS One* 9: e86227.

Agradecimientos: Esta investigación se ha financiado gracias al proyecto AGL2015-66035-R del MINECO, cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional. H. Marina, es beneficiario de una beca del Programa F.P.U. del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (Ref. FPU16/01161). Gutiérrez-Gil, B. disfruta de un contrato del programa Ramón y Cajal (Ref. RYC-2012-10230) del MINECO. Sánchez-Mayor, M. está financiada por un contrato F.P.I. del MINECO (Ref. BES-2013-063614).

IDENTIFICATION OF VARIANTS RELATED TO THE COAGULATION CHARACTERS OF CHEESE YIELD OF SHEEP MILK USING A CHIP OF SNPs DESIGNED FROM RNAseq DATA

ABSTRACT: Sheep milk is mainly used for the production of high quality cheese, so the study of the factors that influence the cheese yield of sheep milk is an important challenge for this industry. In this work, we conduct a genome-wide association study (GWAS) for 982 Spanish Assaf breed ewes using the information of two traits related with cheese yield: individual laboratory curd yield (ILCY) and individual laboratory dried curd yield (ILDCY). The EBV used in the association analysis were obtained using as fixed effects the days in milk (covariate) and the age at parturition, the flock test day, the number of born lamb (factors). In order to carry out GWAS, we use a chip designed from the results of an analysis of the mammary gland transcriptome performed by RNA-Seq. The GWAS has identified several regions significantly associated with the coagulation characteristics of sheep milk have been identified for the traits.

Keywords: rna-seq, gwas, dairy sheep, milk coagulability.

DETECCIÓN DE VARIANTES Y CONCORDANCIA DE GENOTIPOS MEDIANTE SECUENCIACIÓN A COBERTURAS MODERADAS

Ros-Freixedes, R., González-Prendes, R., Gol, S., Solé, E., Pena, R.N. y Estany, J.
Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, 25198 Lleida;
rros@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

La secuenciación de nueva generación ofrece nuevas oportunidades para la identificación de variantes asociadas con la variabilidad genética de caracteres de interés tanto en especies ganaderas como en cultivos (Daetwyler et al., 2014; Nicod et al., 2016; Yano et al., 2016; Schaid et al., 2018). El coste actual de secuenciación hace viable usar tecnología de alto rendimiento para generar grandes cantidades de datos de secuenciación. A diferencia de los chips de genotipado, que permiten genotipar por un conjunto preestablecido de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), las secuencias genómicas contienen las variantes causales de la variación genética de los caracteres, incluyendo variantes con frecuencias bajas y específicas de una población, y otros tipos de variación como inserciones y deleciones cortas (indels) (Das et al., 2015; Gudbjartsson et al., 2015). Estas propiedades hacen que las técnicas de secuenciación se presenten como herramientas muy potentes para desentrañar el control genético de procesos biológicos complejos.

Sin embargo, hasta la fecha la mayoría de variantes descritas en relación a caracteres de interés productivo no han sido debidamente validadas y explican solo una parte modesta de la varianza genética. Nuestro grupo ha descrito varias variantes genéticas asociadas con caracteres de calidad de la carne y metabolismo lipídico, identificadas mediante análisis de asociación del genoma completo basados en chips de genotipado de alta densidad (p. ej., Ros-Freixedes et al., 2016) o mediante estudios de genes candidato genotipados mediante PCR (p. ej., Gol et al., 2018). La secuenciación podría incrementar la eficiencia en identificar variantes asociadas con dichos caracteres.

Para que el uso de la secuenciación sea efectivo y viable económicamente hace falta encontrar estrategias de secuenciación que equilibren la detección de variantes y la precisión del genotipado en estas posiciones. El objetivo de este estudio fue validar el uso de secuenciación de nueva generación a coberturas moderadas (~5x). Por un lado estimamos la capacidad de detección de variantes. Por el otro evaluamos la concordancia de genotipos y alelos entre secuenciación y otras tecnologías de genotipado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio usamos 40 cerdos de raza Duroc, para los cuales se generaron datos de secuenciación, datos de genotipado con chips de alta densidad, y datos de genotipado mediante PCR-RFLP o PCR-HRM, según el marcador, para un panel de 11 marcadores.

El ADN genómico fue secuenciado con una cobertura de 6,8x (DE=1,2x; mín=4,4x; máx=12,2x). Se prepararon librerías que fueron secuenciadas con la técnica de extremos pareados (*paired-end*) usando un instrumento NovaSeq 6000 (Illumina, San Diego, CA) en el CNAG (Barcelona). Las lecturas generadas fueron alineadas contra el genoma de referencia *Sscrofa11.1* (GenBank: GCA_000003025.6) usando el algoritmo BWA-MEM (Li, 2013) y las variantes fueron detectadas mediante GATK HaplotypeCaller 3.8.0 (DePristo et al., 2011; Poplin et al., 2018). El número de lecturas que contenían el alelo de referencia (nRef) y el alelo alternativo (nAlt) se extrajeron usando una función de apilamiento (*pile-up*) siguiendo las recomendaciones de Ros-Freixedes et al. (2018) para evitar sesgos debidos a la baja cobertura. El genotipo más probable (0, 1, o 2, donde 0 es el homocigoto para el alelo de referencia, 1 el heterocigoto, y 2 el homocigoto para el alelo alternativo) fue calculado usando nRef y nAlt como:

$$P(0)=(1-e)^{nRef} \cdot e^{nAlt}, P(1)=0,5^{nRef} \cdot 0,5^{nAlt}, \text{ y } P(2)=e^{nRef} \cdot (1-e)^{nAlt},$$

donde 'e' es el índice de error (asumido como 0,001), y con las probabilidades ajustadas debidamente para que $P(0)+P(1)+P(2)=1$.

Los mismos 40 cerdos fueron genotipados con el chip GGP-Porcine HD BeadChip (~70k SNP; GeneSeek, Lincoln, NE). Un total de 47.222 SNP mostraron segregación en la muestra. Finalmente, los cerdos también fueron genotipados para un panel de 11 marcadores, escogidos por su asociación con caracteres productivos, mediante protocolos de PCR-RFLP (A1 a A4) o PCR-HRM (B5 a B11).

Se analizó la capacidad de detección de las variantes del chip y del panel de marcadores mediante secuenciación, así como la concordancia de genotipos y alelos obtenidos por secuenciación con el chip y los genotipados por PCR, asumiendo, en principio, que estos últimos representan los verdaderos genotipos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 20.381.114 variantes fueron detectadas en los 40 cerdos secuenciados, de las cuales 15.941.676 eran SNP bialélicos y 3.774.997 eran indels bialélicos.

El 96% de los SNP del chip que segregaban en estos 40 cerdos fueron identificados con éxito con los datos de secuenciación (45.365 de 47.222). La Figura 1 muestra la concordancia de genotipos entre secuenciación y el chip de genotipado para estos SNP. La concordancia entre los genotipos asignados con el chip y a partir de los datos de secuenciación fue muy alta, con un promedio de 0,96 (DE=0,05). En general, el 98% de los SNP tenían una concordancia de al menos 0,85 (44.259), el 95% de al menos 0,90 (43.253) y el 81% de al menos 0,95 (36.901). Una fracción pequeña de SNP presentó concordancias muy inferiores a estos valores, lo cual sugiere posibles errores de mapeado para estos SNP o incluso regiones genómicas de alta complejidad que dificultan el alineamiento de lecturas.

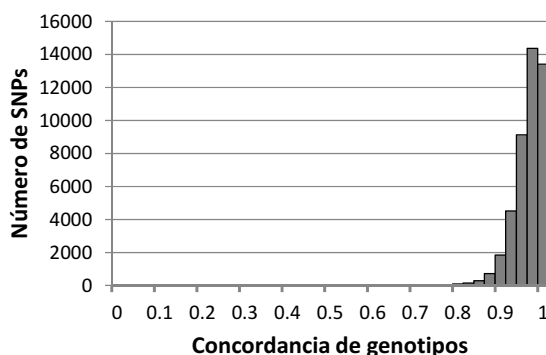


Figura 1. Concordancia de genotipos entre secuenciación y chip de genotipado.

Con el panel de marcadores de interés se obtuvieron resultados similares. La Tabla 1 muestra la cobertura de secuenciación obtenida para cada uno de los marcadores considerados, si fue detectado como variante y las concordancias de genotipo y alelo obtenidas. De los 11 marcadores que conformaban el panel, 9 fueron identificados con éxito. En los 2 marcadores que no fueron identificados (A3 y B9), la cobertura conseguida (7,4x o solo 2,0x) fue menor que en los otros 9 (8,7x; mín=7,8x; máx=9,8x), aparentemente debido a un sesgo en el alineamiento en contra del alelo alternativo. Esto sugiere que los marcadores A3 y B9 podrían estar en regiones muy polimórficas o con estructuras complejas.

En consonancia, la concordancia de alelos fue también muy alta. La mayor parte de discrepancias entre genotipos fueron confusiones entre un homocigoto y el heterocigoto, y muy raramente entre homocigotos opuestos. A efectos de estudios de asociaciones marcador-carácter, los errores entre homocigoto y heterocigoto son mucho más leves que entre homocigotos opuestos. Aun así, la menor concordancia para el marcador B7 sugiere un posible error en el genotipado o en el mapeado.

Es importante notar que, dejando de lado las anomalías de los marcadores A3, B7 y B9, las concordancias fueron consistentemente menores en los marcadores genotipados mediante PCR-RFLP que mediante PCR-HRM. Esto indica que la menor concordancia para los marcadores A1, A2 y A4 no se debe a errores de la secuenciación sino del genotipado por PCR-RFLP, que es un método menos sensible que PCR-HRM.

Los resultados obtenidos indican que una cobertura moderada (~5x) provee un buen balance entre detección de variantes y el grado de certidumbre de los genotipos para las variantes detectadas. Coberturas menores permiten secuenciar un mayor número de individuos, lo cual aumenta la capacidad de detectar variantes con frecuencias bajas (Le y Durbin, 2011). Sin embargo, una cobertura demasiado baja reduce la capacidad de detectar variantes a nivel de

individuo, aunque no necesariamente a nivel de población, y aumenta la incertidumbre de genotipado en dichas posiciones. Una cobertura de 5x parece proveer buenas concordancias entre los genotipos obtenidos por secuenciación o por otras tecnologías, no muy distintas de las obtenidas con 6-10x (Ros-Freixedes et al., 2018).

En conclusión, este estudio demuestra la elevada capacidad de detección de variantes de secuenciación masiva a ~5x y la buena concordancia entre tres métodos de asignación de alelos (secuenciación masiva, chips de SNP y PCR-RFLP/PCR-HRM). La secuenciación resulta una herramienta prometedora para la identificación de variantes asociadas con caracteres de interés.

Tabla 1. Cobertura de secuenciación y concordancia de genotipos y alelos para los once marcadores de interés por su asociación con caracteres productivos

Marcador ^a	nRef ^b	nAlt ^b	Cobertura media	Detectado	Concordancia de genotipos	Concordancia de alelos
A1	222	122	8,6x	Sí	0,89	0,95
A2	268	78	8,7x	Sí	0,89	0,95
A3	292	5	7,4x	No	0,50	0,58
A4	304	47	8,8x	Sí	0,88	0,94
B5	100	233	8,3x	Sí	0,98	0,99
B6	97	215	7,8x	Sí	0,95	0,98
B7	160	205	9,1x	Sí	0,58	0,78
B8	274	92	9,2x	Sí	0,95	0,98
B9	79	0	2,0x	No	0,34	0,63
B10	176	165	8,5x	Sí	0,98	0,99
B11	257	134	9,8x	Sí	1,00	1,00

^aA: marcador genotipado mediante protocolo de PCR-RFLP; B: de PCR-HRM.

^bnRef: número de lecturas con el alelo de referencia; nAlt: con el alelo alternativo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Daetwyler, H.D. et al. 2014. Nat. Genet. 46: 858-865.
- Das, A. et al. 2015. BMC Genomics 16: 1043.
- DePristo, M.A. et al. 2011. Nat. Genet. 43: 491-498.
- Gol, S. et al. 2018. Sci. Rep-UK 8: 14336.
- Gudbjartsson, D.F. et al. 2015. Nat. Genet. 47: 435-444.
- Le, S.Q. & Durbin, R. 2011. Genome Res. 21: 952-960.
- Li, H. 2013. arXiv: 1303.3997.
- Nicod, J. et al. 2016. Nat. Genet. 48: 912-918.
- Poplin, R. 2018. bioRxiv: 10.1101/201178.
- Ros-Freixedes, R. et al. 2016. PLoS One 11: e0152496.
- Ros-Freixedes, R. et al. 2018. Genet. Sel. Evol. 50: 64.
- Schaid, D.J. et al. 2018. Nat. Rev. Genet. 19: 491-504.
- Yano, K. et al. 2016. Nat. Genet. 48: 927-934.

Agradecimientos: Proyecto financiado por el MINECO y fondos FEDER (AGL2015-65846-R). E. Solé es beneficiaria de una beca doctoral de la Universitat de Lleida.

VARIANT DISCOVERY RATE AND GENOTYPE CONCORDANCE OF SEQUENCING AT A MODERATE COVERAGE

ABSTRACT: Next-generation sequencing is a promising powerful tool for the discovery of variants associated with traits of interest in livestock and crops. For that purpose, generally sequencing strategies that balance high discovery rate with high genotyping accuracy are required, which could be achieved with moderate sequencing coverages. The objective of this study was to evaluate variant discovery rate and genotype and allele concordance between next-generation sequencing at ~5x, genotyping marker arrays, and genotyping by PCR-RFLP or PCR-HRM. Around 96% of the variants from a marker array were successfully discovered, with very high genotype and allele concordances. Genotype and allele concordances with markers genotyped by PCR were also high and indicated that sequencing was more accurate than PCR-RFLP. In conclusion, sequencing at a moderate coverage (~5x) provided a suitable balance between variant discovery and genotyping accuracy.

Keywords: sequencing, variants, discovery rate, genotype concordance

CAMBIOS EPIGENÉTICOS EN SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE OVINO INFECTADO CON SCRAPIE

Hernaiz¹, A., Sentre¹, S., Bolea², R., López-Pérez^{1,2}, O., Sanz¹, A., Zaragoza¹, P., Badiola², J.J., Toivonen¹, J.M., Filali², H. y Martín-Burriel^{1,2}, I.

¹LAGENGIO, Facultad de Veterinaria, IA2, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013, Zaragoza. ²CIEETE, Facultad de Veterinaria, IA2, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013, Zaragoza.; minma@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET) o enfermedades priónicas son trastornos neurodegenerativos que afectan a los animales y al hombre. Están producidas por el malplegamiento de la proteína celular PrP^C (codificada por el gen *PRNP*) hacia una conformación infecciosa y patológica (PrP^{Sc}). El scrapie ovino se considera un buen modelo animal para el estudio de muchos aspectos de estas enfermedades, incluidos la patogenia, la transmisión o el diagnóstico. Las herramientas genómicas pueden ayudar a comprender los mecanismos moleculares asociados a estas patologías y permitir la identificación de dianas terapéuticas o moléculas diagnósticas (biomarcadores).

En los últimos años se ha puesto en evidencia la importancia de mecanismos epigenéticos, como la metilación del DNA, en la patogenia de enfermedades neurodegenerativas. La actividad neuronal en el cerebro está regulada epigenéticamente (Mehler, 2008) y la metilación del DNA parece ser importante en la formación de la memoria y en el deterioro cognitivo relacionado con el envejecimiento (Miller et al., 2007). Estudios genómicos dirigidos a identificar cambios epigenéticos en pacientes han demostrado la regulación por metilación del DNA de genes específicos en la enfermedad de Alzheimer (EA) (de Jager et al., 2014) y en la de Parkinson (EP) (Kaut et al., 2012). La metilación distintiva observada en pacientes con EP involucra genes previamente asociados con la enfermedad y se han encontrado alteraciones concordantes entre el cerebro y los leucocitos de sangre periférica (Maslah et al., 2013), pudiendo ser una buena fuente de biomarcadores.

Las anteriores enfermedades se consideran “prion-like” por cursar con la acumulación de proteínas mal plegadas en el sistema nervioso central y podrían tener mecanismos patogénicos comunes. Hasta el momento no se han analizado cambios de metilación en ningún modelo de enfermedad priónica. Únicamente, se ha descrito que la regulación de la expresión de PrP^C podría estar mediada por un mecanismo epigenético durante la diferenciación neuronal (Dalai et al., 2017). En este trabajo presentamos los perfiles de metilación del DNA en sistema nervioso central de ovino con scrapie obtenidos mediante secuenciación genómica de DNA transformado con bisulfito.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras

Para la realización de este estudio utilizamos muestras congeladas de tálamo de 8 ovejas del banco de tejidos del Centro de Encefalopatías y Enfermedades Transmisibles Emergentes (CIEETE) de la Universidad de Zaragoza. Cuatro de estas muestras pertenecían a ovino infectado de forma natural con scrapie clásico y otras cuatro eran controles. Todos los animales presentaban el genotipo ARQ/ARQ para el gen *PRNP* y una edad comprendida entre 4 e 6 años. La médula oblonga de estos animales había sido utilizada previamente en estudios transcriptómicos (Filali et al., 2011).

Extracción de DNA y secuenciación

El DNA genómico se obtuvo del tálamo mediante el kit Quick DNA midiprep Plus (Zymo Research). La calidad del DNA fue analizada mediante electroforesis antes de la construcción de las librerías. Tras la adición de los adaptadores de secuenciación el DNA se transformó con bisulfito utilizando EZ DNA Methylation Gold Kit (Zymo Research). Posteriormente se realizó una secuenciación con lecturas pareadas utilizando la tecnología Illumina HiSeqTM2500. Las lecturas de calidad se alinearon al genoma de referencia Oar_v4.0 mediante el programa Bismark (Krueger y Andrews, 2011). Una vez alineadas se calculó la profundidad de cobertura para cada sitio CX (CG, CHH, CHG, siendo H=A, C o T).

Para la identificación de regiones con metilación diferencial (DMR) entre el grupo con scrapie y el grupo control, se utilizó el programa bsseq dentro del paquete bioestadístico Bioconductor (<http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/bsseq.html>). Este método se basa

en el algoritmo BSmooth. Como la variación en el grupo con scrapie puede ser mayor que en los controles, se estimó la varianza en el grupo control y se realizaron los test estadísticos t basados en cuantiles con un corte [2,5%, 97,5%]. Se aplicó un FDR < 0,05 para la identificación de DMR y se aplicó un umbral de al menos 0,1 de diferencia entre el nivel de metilación de los dos grupos y al menos 3 sitios mC en la región DMR, estando dos citosinas adyacentes a una distancia no superior a 300 pb. Además, se analizó la presencia de sitios con metilación diferencial en promotores (DMP). Los DMP se identificaron analizando cada citosina en su contexto (CG, CHG, CHH) en el fragmento de 2kb anterior al sitio de inicio de transcripción mediante test exacto de Fisher. Se aplicó un FDR < 0,05 y se tuvo en cuenta que la diferencia de metilación entre los distintos grupos tuviera un valor absoluto superior a 0,2. Finalmente se analizó el enriquecimiento en términos de ontología de genes (GO) y en rutas biológicas concretas de KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Gens and Genomes*).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad del DNA de las muestras del banco de tejidos fue adecuada para llevar a cabo la secuenciación. Se consiguió una transformación con bisulfito de C a T superior al 99,87%. Se obtuvieron una media de 466.639.474,3 ± 62.519.048,83 secuencias por genoma con un porcentaje de secuencias mapeadas que rondó entre 55,24 y 71,52%. Para determinar el estatus de metilación a nivel genómico, el proyecto *NIH Roadmap Epigenomics* (<http://www.roadmapepigenomics.org/protocols>) recomienda una cobertura mínima de 30x y, si existen replicas biológicas, de 20x. En nuestro estudio detectamos un total de 2.448.188.764 ± 2.450.025,179 sitios por genoma con una cobertura mínima de 25x y media de 28,5 ± 1,95.

No se observaron diferencias entre el grupo con scrapie y el control en cuanto al porcentaje de citosinas metiladas a nivel genómico (Tabla 1), si bien el DNA de ovino con scrapie mostró mayor variabilidad (5,38 ± 1,12) que el del grupo control (4,6 ± 0,15). Como era de esperar, el mayor porcentaje de 5mC a nivel genómico se encontraba en las regiones CpG (41,5 ± 1,14).

Tabla 1. Resumen del perfil de metilación a nivel genómico. Porcentaje de citosinas metiladas en todas las C del genoma (mC) o en las regiones CpG, CHG y CHH, representando H a A, C o T. Los resultados se muestran como media ± desviación estándar en el grupo control (n=4), el scrapie (n=4) y el total.

Grupos	%mC	%mCpG	%mCHG	%mCHH
Control	4,60 ± 0,16	41,21 ± 0,37	2,19 ± 0,12	2,84 ± 0,21
Scrapie	5,38 ± 1,12	41,78 ± 1,64	3,02 ± 1,01	3,61 ± 1,13
Media	4,99 ± 0,85	41,50 ± 1,14	2,61 ± 0,80	3,22 ± 0,86

La existencia de DMRs podría reflejar diferencias en la regulación transcripcional entre grupos de muestras. En este estudio se han determinado un total de 8.907 DMRs, de las cuales 4.630 mostraban hipermetilación y 4.277 hipometilación en el DNA procedente de tálamo de animales con scrapie. La mayor proporción de DMRs se localizaron en intrones (7.511), seguidos por exones (2.426) y, finalmente, promotores (955).

El estudio de enriquecimiento en términos GO reveló que, mientras los genes que incluían DMR hipermetiladas estaban enriquecidos en genes involucrados con el proceso biológico de transducción de señal y adhesión celular, los que presentaban DMR hipometiladas lo hacían con la adhesión celular y el transporte transmembrana. La proteína príon celular PrP^C parece actuar como un importante regulador de la adhesión celular y la función de barrera. Esta función parece deberse a la capacidad de PrP^C de interactuar con proteínas de señalización, aunque los mecanismos por los que regula la actividad no se conocen con exactitud (Petit et al., 2013). El enriquecimiento observado en estos procesos celulares cuando PrP^C ha perdido su función por conversión a PrP^{Sc} podría ser indicativo de una regulación epigenética de este proceso.

En cuanto al enriquecimiento en rutas biológicas concretas de KEGG, una vez aplicado el método de corrección FDR de Benjamini y Hochberg (P < 0,05), la señalización del Calcio y los transportadores ABC fueron los sistemas más enriquecidos en genes con DMR hipermetiladas. PrP^{Sc} afecta a la homeostasia del calcio y estrés oxidativo (Torres et al., 2010) y la sobreexpresión del gen *ABCA1* se ha descrito en cerebros de modelos murinos infectados

por priones (Kumar et al., 2008). Estudios de expresión génica y su regulación epigenética de genes involucrados en estas rutas podrán elucidar los mecanismos moleculares por los que estas proteínas intervienen en la neuropatología de las enfermedades priónicas. Las rutas enriquecidas en genes con DMR hipometiladas estaban relacionadas con la señalización del calcio, ritmo circadiano y ruta de señalización de cAMP.

En el análisis de sitios específicos con metilación diferencial dentro de los promotores (DMP) se detectaron 15 sitios CG hipermetilados y 24 hipometilados en los tejidos con scrapie. Se confirmará el efecto de la metilación en la expresión en algunos de estos genes, así como la implicación funcional que pudieran tener los cambios de metilación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dalai, W. et al. 2017. J. Vet. Med. Sci. 79(3): 644-648.
- De Jager, P.L. et al. 2014. Nat. Neurosci. 17: 1156-1163.
- Filali, H. et al. 2011. Plos One 6(5): e19909
- Kaut, O. et al. 2012. Neurogenetics 13: 87-91.
- Krueger, F. & Andrews, S.R. 2011. Bioinformatics 27(11): 1571-2.
- Kumar, R. et al. 2008. J. Gen. Virol. 89: 1525-32.
- Masliah, E. et al. 2013. Epigenetics 8: 1030-1038.
- Mehler, M.F. 2008. Ann. Neurol. 64: 602-617.
- Miller, C.A. et al. 2007. Neuron 53: 857-869.
- Petit, C.S.V. 2013. Tissue Barriers 1: 2, e24377.
- Torres, M. et al. 2010. Plos One 5: e15658.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, el Gobierno de Aragón y Fondos FEDER con los proyectos AGL2015-67945-P, AGL2015-65560-R, Grupo A19_17R.

EPIGENETIC CHANGES IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF SHEEP NATURALLY INFECTED WITH SCRAPIE

ABSTRACT: Scrapie is a Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) that affects sheep and goats and it is considered a good natural animal model to study prion diseases. Genomic DNA methylation is an epigenetic mechanism that regulates gene expression. Although changes in DNA-methylation occur in the Central Nervous System (CNS) in many neurodegenerative diseases, potential DNA-methylation alterations have not been studied in any TSE models or naturally infected cases. We present here a whole genome sequencing analysis of bisulfite treated DNA (WGBS) obtained from thalamus of four naturally scrapie infected sheep and four controls. All animals were female, carried the ARQ/ARQ genotype for the *PRNP* allele and were sacrificed with similar age (4 to 6 years old). Genomes displayed similar average methylation levels; however we identified a total of 8,907 differentially methylated regions (DMR). Gene Ontology enrichment revealed that hypomethylated DMRs were enriched in genes involved in transmembrane transport whereas hypermethylated DMRs were related with intracellular signal transduction related genes. KEGG Pathway Enrichment Analysis of DMP or DMR related genes displayed Calcium signaling and ABC transporters as the most enriched pathways in genes with hypermethylated DMR; and calcium binding, circadian entrainment and cAMP signaling pathways were enriched in genes with hypomethylated DMR.

Keywords: Whole Genome Bisulfite Sequencing, DNA methylation, prion, brain

ORIGEN DE LAS VARIANTES DE LOS GENES DE LAS CASEÍNAS EN PEQUEÑOS RUMIANTES: UNA COMPARACIÓN ENTRE OVEJA Y CABRA.

Luigi-Sierra¹, M.G., Mármol-Sánchez¹, E., Cardoso^{1,2}, T.F. y Amills^{1,3}, M.

¹Centre de Recerca Agrigenòmica (CRAG), CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus UAB, Bellaterra 08193. ²CAPES Foundation, Ministry of Education of Brazil, Brasilia-D. F 70.040-020, Brazil.

³Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193.

Maria.luigi@cragenomica.es

INTRODUCCIÓN

Las caseínas representan cerca del 80% de las proteínas totales de la leche y son las responsables de la coagulación de la misma, por ende de gran importancia para la tecnología de los alimentos particularmente para la fabricación de quesos y otros subproductos lácteos (Park et al., 2017). Estas proteínas son codificadas por cuatro genes (*CSN1S1*, *CSN1S2*, *CSN2* y *CSN3*) localizados en una región genómica de aproximadamente 250 kb, localización muy conservada en diversos rumiantes como bovino, ovino y caprino (Hayes et al., 1993; Leveziel et al., 1991). Aunque se han realizado algunos estudios en los que se han descrito polimorfismos de los genes de las caseínas ovinas (Bastos et al., 2001; Ceriotti et al., 2004; Corral et al., 2010; Noce et al. 2016, Suárez-Vega et al., 2017), el nivel de conocimiento sobre este tema es todavía muy escaso. Así pues, hemos abordado el estudio de la variabilidad de las caseínas en ovejas domésticas (*Ovis aries*) y en su ancestro, el muflón (*Ovis orientalis*), mediante el análisis de secuencias genómicas. Asimismo, hemos comparado los resultados obtenidos en ovino con datos de caprino, generados a partir del análisis de secuencias genómicas, para determinar si existen diferencias entre ambas especies en cuanto al origen de la diversidad de los genes de las caseínas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron, a partir del Sequence Read Archive de NCBI, secuencias genómicas de 40 ovejas domésticas provenientes de África (n= 10), Europa (n= 9), Lejano Oriente (n= 9) y Oriente Próximo (n= 12), así como 17 secuencias de muflón originarios de Irán. Las secuencias fueron alineadas respecto al genoma de referencia ovino *Oar_v3.1* (Archibald et al., 2010) utilizando el software de alineamiento BWA MEM (Li, 2013). Se llevó a cabo un proceso de SNP-calling mediante el software *Genome analysis toolkit* (GATK) de acuerdo a los procedimientos recomendados (McKenna et al., 2010) para identificar las posiciones polimórficas y crear los archivos VCF. Posteriormente se usó el programa Beagle v 4.1 (Browning y Browning, 2016), para imputar los datos de SNPs basado en la verosimilitud de los genotipos de cada población. La ubicación de los genes de las caseínas (*CSN1S1*, *CSN1S2*, *CSN2* y *CSN3*) se obtuvo usando como referencia la versión del genoma ovino *Oar_v3.1* (Archibald et al., 2010). Se extrajeron las variantes presentes en los genes de las caseínas usando la herramienta BCFTools v1.8. (<https://samtools.github.io/bcftools/bcftools.html>). Los SNPs presentes en cada gen fueron anotados y se estimó su posible efecto funcional mediante el software SnpEff v4.3 (Cingolani et al., 2012). Las consecuencias de las mutaciones no sinónimas se predijeron con el software SIFT 4G (Vaser et al., 2016), considerando como deletéreas aquellas variantes con una puntuación SIFT inferior a 0.05. Adicionalmente, a nivel génico, se estimó la diversidad nucleotídica (coeficiente π) y la heterocigosidad esperada y observada por individuo en cada uno de los genes de las caseínas mediante el software VCFtools (Danecek et al., 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron un total de 43.293.496 SNPs en ovejas domésticas y 42.388.204 SNPs en muflón, de los cuales 26.447.141 fueron detectados en ambos grupos. Al analizar el contenido de SNPs de cada gen de las caseínas, se encontró mayor variabilidad en muflón que en oveja, tal como puede observarse en la **Figura 1**. De los 11 SNPs no-sinónimos identificados en oveja doméstica, 6 se encontraron presentes en muflón, así como 2 de las 4 mutaciones deletéreas encontradas, indicando que probablemente la aparición de dichas mutaciones se produjo antes de la domesticación de la oveja (**Tabla 1**). Resultados similares fueron reportados por Guan y colaboradores (comunicación personal) en un análisis en el que se comparó la diversidad de los genes de las caseínas en cabra y bezoar.

Así pues, dichos autores encontraron que cabras y bezoares compartían entre un 36 y 55% de las variantes identificadas en los genes de las caseínas, y además comprobaron la presencia, en el bezoar, de variantes descritas por otros autores en cabras domésticas y asociadas a cambios en la composición de la leche (Marletta et al., 2007). Al analizar detalladamente las mutaciones no-sinónimas presentes en los genes de las caseínas en ovinos, encontramos mutaciones reportadas en la bibliografía (Tabla 2), estando asociadas a diferentes variantes génicas que tienen efecto sobre la producción láctea y las características tecnológicas de la leche. Un ejemplo es la mutación c.595A>G, del gen CSN2, descrita en varias razas domésticas (Bastos et al., 2001; Ceriotti et al., 2004; Corral et al., 2010; Suárez-Vega et al., 2017). Así pues, el alelo A se asocia a un incremento del contenido de proteína y grasa de la leche, mientras que al G se le atribuye un aumento de la producción láctea (Corral et al., 2010).

Se estimaron valores de heterocigosidad observada (H_o) entre 0,10 y 0,29 en muflón, y entre 0,15 y 0,21 en ovejas. Por su parte, los valores de heterocigosidad esperada (H_e) oscilaron entre 0,14 y 0,33 en muflón y 0,19 y 0,28 en ovejas. Se encontró mayor diversidad nucleotídica de los genes de las caseínas en muflón que en ovejas domésticas, con un valor de π estimado entre 0,14 y 0,34 en muflón y 0,19 y 0,29 en ovejas Alberto et al. (2018), sugirieron que el mayor grado de polimorfismo de la población de muflón posiblemente se deba a la reducción del tamaño efectivo de las poblaciones de ovejas durante la domesticación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberto, F.J. 2018. Nat. Commun. 9: 813
- Archibald, A.L. 2010. Anim Genet. 41: 449-453.
- Bastos, E. 2001. BASE 5: 7-15-15.
- Browning, B.L. 2016. Am J Hum Genet 98:116-126
- Ceriotti, G. 2004. J Dairy Sci 87: 2606-2613.
- Cingolani, P. 2012. Fly 6: 80–92.
- Corral, J.M. 2010. Livestock Sci 129: 73-79.
- Danecek, P. 2011. BIOINFP 27: 15
- Giambra, I.J. 2012. Anim. Genet. 43: 642–645.
- Guan, D. 2019. No publicado.
- Hayes, H. 1993. Cell Genet. 64: 281–285.
- Leveziel, H. 1991. Anim. Genet. 22: 1-10.
- Li, H., 2013. arXiv:1303.3997.
- Marletta, D. 2007. Lait 87: 491-504
- McKenna, A. 2010. Genome Res. 20: 1297-1303.
- Noce, A. 2016. Anim. Genet. 47: 717-726
- Othman, O.E. 2013. JGEB 11: 129-134.
- Park, Y.W. 2017. Handbook of milk of non-bovine mammals, Second edition. ed. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ.
- Selvaggi, M. 2014. Journal of the Sci. of Food and Agric. 94: 3090–3099.
- Suárez-Vega, A. BMC Genomics 18: 170.
- Vaser, R. 2016. Nat. Protoc 11: 1-9.

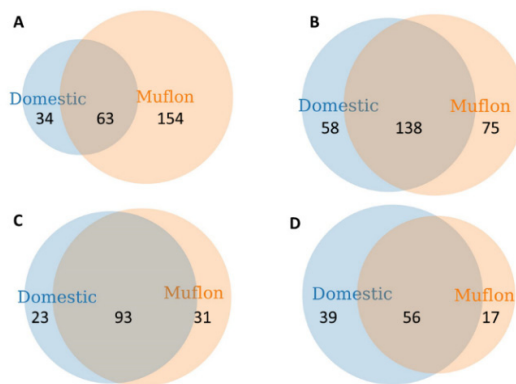


Figura 1. Variación compartida entre muflón y oveja doméstica. **A:** CSN1S1, **B:** CSN2, **C:** CSN1S2, **D:** CSN3.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado con el proyecto AGL2016-76108-R concedido por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO). Luigi-Sierra, M.G es beneficiaria de una beca FPI de MINECO (BES-2017-079709) y Mármol-Sánchez, E de una beca FPU de MECD (FPU15/01733).

Tabla 1. Frecuencia de mutaciones no sinónimas identificadas en diferentes poblaciones de ovejas domésticas y muflón.

Gen	Variante	Sustitución Nucleotídica	Efecto*	Or. Lejano	Europa	Irán	Marruecos	Mut
CSN1S1	rs593739642	c.34G>T	p.Val12Phe - DEL	0	0	0	0.05	0
	Oar_3.1:6:85091243:G>A	c.73G>A	p.Gly25Arg	0	0	0	0	0.0
	Oar_3.1:6:85093731:T>C	c.191T>C	p.Ile64Thr	0	0	0	0	0.0
	Oar_3.1:6:85094448:C>T	c.215C>T	p.Ala72Val	0	0	0	0	0.0
	Oar_3.1:6:85098887:A>C	c.385A>C	p.Lys129Gln	0	0	0	0	0.1
	rs420959261	c.626C>T	p.Thr209Ile - DEL	0.75	0.7	0.85	0.85	0.0
CSN1S2	Oar_3.1:6:85184193:G>A	c.34G>A	p.Val12Ile	0	0	0	0	0.0
	rs588453493	c.178G>A	P.Val60Ile	0	0	0.05	0.05	0
	rs596411552	c.187G>T	p.Ala63Ser	0	0	0.05	0.05	0
	rs430397133	c.268G>T	p.Asp90Tyr - DEL	0.7	0.2	0.7	0.35	0.1
	rs591309828	c.344T>C	p.Leu115Pro	0.1	0	0.05	0.05	0.1
	rs597242020	c.353G>A	p.Gly118Asp	0	0	0.05	0	0
	rs424657035	C.358A>G	p.Ile120Val	0.7	0.4	0.7	0.4	0.0
	Oar_3.1:6:85190241:C>T	c.407C>T	c.407C>T	0	0	0	0	0.1
	Oar_3.1:6:85193514:T>C	c.487T>G	p.Phe163Val	0	0	0	0	0.0
	rs399378277	c.527G>A	p.Arg176His	0	0	0	0	0.0
CSN2	Oar_3.1:6:85116838:A>G	c.679A>G	p.Thr227Ala	0	0	0	0	0.0
	rs416941267	c.634C>A	p.Leu212Ile	0.05	0.3	0.2	0.15	0.
	rs430298704	c.595A>G	p.Met199Val	0.1	0.15	0	0.1	0
CSN3	rs420470202	c.307G>A	p.Ala103Thr	0	0	0	0	0.1
	Oar_3.1:6:85316665:A>G	c.410A>G	p.Lys137Arg - DEL	0	0	0	0	0.0

* DEL, deletéreo.

Tabla 2. Mutaciones no-sinónimas identificadas y descritas por otros investigadores en ovinos domésticos.

Gen	Variante	Sustitución Aminoacídica	Alelo Asociado
CSN1S1	rs420959261	p.Thr209Ile	C^{1,2}
CSN1S2	rs588453493	P.Val60Ile	C³
	rs596411552	p.Ala63Ser	C³
	rs430397133	p.Asp90Tyr	B³
	rs424657035	p.Ile120Val	B³
	rs399378277	p.Arg176His	G³
CSN2	rs430298704	p.Met199Val	G^{4,5,6}

¹Cerioti et al., (2004), ²Othman et al., (2013); ³Giambra y Erhardt, (2012); ⁴Bastos et al., (2001); ⁵Corral et al., (2010); ⁶Suárez-Vega et al., (2017).

ORIGIN OF THE CASEIN GENE VARIANTS IN SMALL RUMINANT: A COMPARISON BETWEEN SHEEP AND GOAT.

ABSTRACT: The aim of this study was to characterize the diversity of the ovine casein genes, estimate if such variation emerged before domestication and compare it with the results already reported in caprine. Whole genome sequences from 40 domestic sheep (*Ovis aries*) and 17 mouflons (*Ovis orientalis*) were used. Our analysis showed that domestic sheep and mouflon share a large proportion of casein variants. Most of the missense variants segregated in both species and some of them had already been reported to have an impact on milk yield and composition. These results indicate that an important part of casein polymorphisms were already segregating prior to the domestication of sheep similar to the results reported in goat and bezoar by Guan et al. (unpublished).

Keywords: sheep, goat, casein, polymorphism.

LA SELECCIÓN POR GRASA INTRAMUSCULAR MODIFICA EL PERFIL METAGENÓMICO DEL CIEGO EN CONEJO

Martínez-Álvaro, M., Zubiri-Gaitán, A., Casto-Rebollo, C., Blasco, A. y Hernández, P.
¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n 46020 Valencia.; mamaral9@upv.es

INTRODUCCIÓN

Aumentar el contenido de grasa intramuscular (GIM) en la carne tiene un gran interés económico ya que mejora su ternura, jugosidad y sabor. Hay estudios que relacionan la deposición lipídica con el perfil microbiano del tracto digestivo en humanos y ratón (Krajmalnik-Brown et al., 2012). Se han desarrollado dos líneas de conejo procedentes de un mismo origen genético y seleccionadas por alta (línea GA) y baja (línea GB) GIM durante diez generaciones. Estas líneas son un material excepcional para el estudio de la base genética de la deposición de GIM, modificada tras la selección (Martínez-Álvaro et al., 2016). En este estudio queremos investigar los cambios que se han producido en el metagenoma del contenido cecal e identificar las rutas metabólicas modificadas tras la selección.

MATERIAL Y MÉTODOS

El procedimiento de selección para el desarrollo de las líneas GA y GB está descrito en Martínez-Álvaro et al. (2016). Se sacrificaron 16 y 17 conejos de las líneas GA y GB de la generación 10 a las 9 semanas de edad, tras un ayuno previo de 4 horas. Inmediatamente tras el sacrificio, se recogieron muestras de contenido cecal, se homogeneizaron y conservaron a -80°C. Las muestras fueron secuenciadas con Illumina NextSeq. La longitud media de las lecturas pareadas fue de 2 x 150 pb. Las lecturas se alinearon a la base de datos KEGG (<http://www.kegg.jp>), y se lograron identificar 6230 genes microbianos. Tras eliminar aquellos genes con cero "counts" en más de 8 animales, nos quedamos con 4540 genes.

Los datos metagenómicos fueron pre-procesados usando la transformación del ratio del logaritmo centrado (clr) debido a su naturaleza composicional, tal y como sugiere Gloor et al. (2017). Los genes microbianos que difieren en ambas líneas se identificaron a través de un Análisis Discriminante basado en Proyecciones sobre Estructuras Latentes (DA-PLS, SIMCA, P+ 15.0.1, Umetrics (Umea, Suecia)) con un vector de clasificación GA/GB como variable dependiente y los 4540 genes microbianos como variables independientes. Se seleccionaron las variables basándose en el criterio de la importancia de cada variable en la proyección (VIP), considerando que los genes microbianos con un VIP < 1,0 contribuyen poco a la predicción, y se eliminaron hasta que el modelo DA-PLS perdió capacidad predictiva (Q²). El modelo final se construyó con 3 componentes latentes e incluyó 105 genes. A continuación, se identificaron las rutas metabólicas correspondientes a estos 105 genes. El trabajo se centró en los genes implicados en el metabolismo energético (18 genes en total).

Se analizaron estos 18 genes con un modelo DA-PLS incluyéndolas como variables independientes y el vector de clasificación GA/GB como variable dependiente. Este modelo fue construido con un componente latente. Las abundancias relativas de los genes se estimaron por animal, referidas a la suma de los "counts" de los 105 genes modificados tras la selección. Posteriormente se estimaron las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas GA y GB para la abundancia relativa de los 18 genes usando el programa Rabbit (Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València). Sobre estas distribuciones marginales, se calcularon la mediana y la probabilidad de la diferencia de ser positiva cuando la mediana >0 o negativa cuando la mediana es <0 (P).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La selección por GIM tuvo una respuesta correlacionada en la abundancia relativa de 105 genes microbianos en el contenido cecal de conejo, identificados a través de DA-PLS. Estos 105 genes explicaron un 91,6% de la clasificación de los animales en GA o GB, tras la validación cruzada (Q²). Estos 105 genes microbianos codifican proteínas involucradas en

diferentes rutas metabólicas, siendo las rutas más importantes las del metabolismo energético (18 genes), transducción de señal (10), metabolismo de nucleótidos (8) y aminoácidos (5), transporte de membrana (5), replicación y reparación de ácidos nucleicos (3), traducción (3) y metabolismo de cofactores y vitaminas (3). Este trabajo se centró en los genes microbianos involucrados en las rutas del metabolismo energético. La Tabla 1 muestra los genes microbianos involucrados en rutas energéticas con diferente abundancia relativa en las líneas GA y GB.

Tabla 1. Genes microbianos involucrados en el metabolismo energético con diferencias en su abundancia relativa en las líneas de alta (GA) y baja (GB) grasa intramuscular.

KEGG	Descripción	GA-GB	P
K14067	malato-CoA ligasa, subunidad beta	1,192	0,98
K00863	dihidroxiacetona quinasa	0,912	0,82
K01813	L-ramnosa isomerasa	0,909	0,99
K15987	bomba de Na pirofosfato-energizante K(+)-estimulada	0,781	0,98
K18697	fosfatidilglicerofosfatasa C	0,762	0,98
K01183	quitinasa	0,647	0,95
K12339	cisteína sintasa B	0,582	0,92
K07248	lactaldehído deshidrogenasa /glicolaldehído deshidrogenasa	0,435	0,84
K01208	ciclomaltodextrinasa	-1,037	1,00
K03079	L-ribulosa-5-fosfato 3-epimerasa	-0,949	1,00
K16951	sulfito reductasa anaeróbica subunidad B	-0,921	1,00
K00362	NADH nitrito reductasa, subunidad grande	-0,916	1,00
K02847	O-antigen ligasa	-0,792	0,99
K13015	UDP-N-acetil-D-glucosamina deshidrogenasa	-0,776	1,00
K01040	glutaconato CoA-transferasa, subunidad B	-0,724	1,00
K03271	D-sedoheptulosa 7-fosfato isomerasa	-0,680	0,98
K00374	nitrito reductasa, subunidad gamma	-0,580	0,98

GA-GB = mediana de la diferencia entre líneas expresada en unidades de desviación típica; P = probabilidad de que GA-GB sea mayor que 0 cuando es positiva o menor que 0 cuando es negativa.

Dos genes involucrados en el metabolismo del metano (*malato-CoA ligasa subunidad beta* (K14067) y *dihidroxiacetona quinasa* (K00863)) fueron más abundantes en la línea GA, con diferencias entre líneas de 1,192 y 0,912 desviaciones típicas (P = 0,98 y 0,82, respectivamente). La metanogénesis es un proceso que consume H₂, que es un producto final de la fermentación de los carbohidratos, y además actúa como regulador de ésta. Un trabajo de revisión en humano y ratón sugiere que existe un enriquecimiento de metanógenos oxidantes de H₂ en individuos obesos, consumiendo H₂ de manera más eficiente y por tanto conduciendo a una mayor tasa de fermentación (Krajmalnik-Brown et al., 2012). Además, la línea GA mostró mayor abundancia de genes involucrados en rutas de carbohidratos específicos como la manosa y la fructosa (*L-ramnosa isomerasa* (K01813), P = 0,99 y *dihidroxiacetona quinasa* (K00863), P= 0,82). En la línea GB, otros genes como *D-sedoheptulosa 7-fosfato isomerasa* (K03271) y *O-antigen ligasa* (K02847), involucrados en la biosíntesis de lipopolisacáridos, fueron más abundantes (P=0,98 y P=0,99, respectivamente). Finalmente, cuando analizamos estos 18 genes microbianos en un modelo DA-PLS, la Q² obtenida tras la validación cruzada fue de 55,7%, mostrando un poder de clasificación alto. Estos resultados preliminares subrayan la importancia del microbioma intestinal en la deposición lipídica en músculo en conejos, y muestran que la selección por GIM conduce a una respuesta correlacionada en el perfil metagenómico. En este estudio, centrado en las rutas del metabolismo energético, hemos observado un enriquecimiento de distintas rutas en GA y GB como consecuencia de la selección. Además, estos resultados implican una conexión entre los genes del individuo y los genes microbianos de su contenido cecal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gloor, G. B., Macklaim, J. M., Pawlowsky-Glahn, V. & Egozcue. 2017. *Front. Microbol.* 8: 2224.
- Krajmalnik-Brown, R., Ilhan, Z.E., Kang, D.W. & DiBase, J.K. 2012. *Nutr. Clin. Prac.* 27: 201-214.
- Martínez-Álvaro, M., Hernández, P. & Blasco, A. 2016. *J. Anim. Sci.* 94: 4993-5003.

Agradecimientos: Este experimento ha sido subvencionado por el proyecto AGL2017-86083-C2-1-P-AR del Plan Nacional de Investigación. Marina Martínez-Álvaro agradece su contrato APOSTD/2017/060 a la Generalitat Valenciana.

SELECTION FOR INTRAMUSCULAR FAT MODIFIES THE METAGENOMIC PROFILE IN RABBIT CECUM

ABSTRACT: In this study we investigate the correlated responses to selection for intramuscular fat (IMF) in the cecum microbes genome. Distinct microbial genes between the two lines were identified using Projection to Latent Structures Discriminant Analysis (DA-PLS). The final model including 105 microbial genes showed a Q^2 of 91.6%. From those, 18 genes were involved in the energy metabolism pathway. These genes showed different relative abundance in the high and low IMF lines. Two genes involved in methane metabolism, and two involved in the metabolism of mannose and fructose were more abundant in the high line, and two genes related to lipopolysaccharides biosynthesis were more abundant in the low line. Our study highlights the importance of the gut microbiome in the muscular lipid deposition in rabbits and shows that selection for IMF led to a correlated response in their metagenomics profile, particularly in the energy metabolic routes. These results highlights a relationship between the genes of the individual and the genes of its gut microbes.

Keywords: intramuscular fat, correlated responses, metagenome, rabbit

Calidad de los productos

EFFECTO DEL SISTEMA DE ALIMENTACIÓN, MÚSCULO Y TIPO DE ENVASADO, SOBRE LA ACEPTABILIDAD DE LA CARNE EN LA RAZA AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA

Barahona^{1*}, M., Olleta¹, J. L., Hachemi¹, M.A., Sañudo¹, C., González², M.M. y Campo¹, M.M.

¹Facultad de Veterinaria, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (Universidad de Zaragoza-CITA). C/ Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza. martabm@unizar.es

²Asociación Española de Raza Avileña-Negra Ibérica, C/ Padre Tenaguillo, 8, 05004 Ávila

INTRODUCCIÓN

Las razas rústicas españolas, debido a sus menores rendimientos productivos con respeto a razas especializadas, requieren de apoyo y nuevas ideas, y más en los últimos años con las crisis que han afectado al sector vacuno de carne. Por ello, resulta necesario que tanto ganaderos como asociaciones ganaderas se responsabilicen de varios aspectos de la cadena alimentaria. La IGP Carne de Ávila está haciendo esfuerzos en buscar la calidad final del producto, determinando los puntos críticos que puedan existir a lo largo de la cadena de producción-comercialización. El cebo típico de los terneros se realiza con concentrado y paja, pero últimamente existe la tendencia de incorporar diversos tipos de forrajes en la dieta para hacer que el sistema de alimentación sea menos dependiente de la volatilidad de los precios de ciertas materias primas (Casasús *et al.*, 2012). Además de la alimentación, existen otros puntos críticos que es necesario estudiar, como el envasado de los diferentes músculos o piezas que se pueden comercializar. El objetivo de este trabajo es analizar el efecto del sistema de alimentación, tipo de músculo, y el tipo de envasado sobre la aceptabilidad de la carne de raza Avileña-Negra Ibérica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 24 machos añojos de raza Avileña-Negra Ibérica divididos en dos lotes de 12 animales. El grupo CON consumió pienso comercial y paja de cereal a voluntad, y al grupo SILO se le suministró una mezcla de silo de maíz (70%) y pienso comercial (30%). Los animales se sacrificaron tras 250 días de cebo (con aproximadamente 570 kg y 450 días de edad). A las 72 horas post sacrificio se extrajeron los músculos *Longissimus dorsi* (LD), *Semitendinosus* (ST) y *Pectoralis profundus* (PP) que se envasaron al vacío y se enviaron a la Facultad de Veterinaria de Zaragoza donde se hicieron filetes de 2 cm de espesor, con 7 días de maduración. A partir de este momento los filetes se mantuvieron en exposición en una cámara de refrigeración a 4° C, en oscuridad al vacío (VAC), y con luz en atmósfera protectora (MAP; 70% O₂ y 30% CO₂), durante 7 días, tras lo cual los filetes de MAP se envasaron al vacío y todos se congelaron, manteniéndose a -18° C hasta el día del análisis. El estudio de consumidores se llevó a cabo en Zaragoza con 120 personas de entre 18 y 75 años, equilibrados entre hombres y mujeres (50.4 y 49.6 % respectivamente). Las muestras se descongelaron a 4° C durante 24 horas. Se cocinaron en un grill de doble placa a 200° C, hasta que el interior del filete alcanzó los 70° C. Los filetes fueron cortados en cubos de 2x2x2 cm, envueltos en papel de aluminio, codificados con un número aleatorio de 3 dígitos y mantenidos a una temperatura de entre 45° C y 55° C hasta el momento de la cata. Cada consumidor evaluó la aceptabilidad de la terneza, el sabor y la aceptabilidad general de doce muestras (3 músculos x 2 dietas x 2 tipos de envasado) mediante una escala hedónica de “me disgusta extremadamente” (1) hasta “me gusta extremadamente” (9) sin punto intermedio para forzar una decisión en positivo o negativo (Font i Furnols *et al.*, 2006). Al final de la degustación se les hizo una encuesta sobre sus hábitos de consumo.

Para analizar los datos se realizó un GLM con el programa SPSS 22.0 considerando alimentación, músculo y envasado como efectos fijos, y el consumidor como aleatorio. Para la identificación de diferencias significativas entre medias ($P \leq 0.05$) se aplicó el test de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Globalmente la alimentación no tuvo efecto significativo sobre ninguno de los atributos estudiados en el test de consumidores (Tabla 1). Sí que lo tuvo el tipo de músculo ($P < 0,001$), donde el LD fue el mejor aceptado y el tipo de envasado ($P < 0,001$), teniendo mejor aceptabilidad la carne conservada al vacío que en MAP. No obstante, se encontraron interacciones significativas entre músculo y alimentación, y entre músculo y envasado. Dentro de músculo, se observó un efecto significativo de la alimentación tanto en el LD como en el

PP pero no en el ST y el efecto del envasado fue significativo en los tres músculos ($P<0,001$) (Tabla 2).

En el LD los consumidores prefirieron la carne de los animales alimentados con silo, para la aceptabilidad general y del sabor. En comparación con los otros dos músculos, el LD fue el mejor valorado, especialmente las muestras procedentes de los animales alimentados con silo de maíz y madurados al vacío, cuyas valoraciones fueron de 6,90 para la aceptabilidad general, 6,88 para el sabor y 6,95 para la terniza en una escala de 9 puntos (Figura 1).

En el músculo ST, la alimentación de los animales no afectó a la aceptabilidad de la carne, pero el tipo de envasado durante la maduración tuvo un efecto significativo ($P<0,001$), con una mejor aceptabilidad tanto general, como de la terniza y del sabor de la carne envasada al vacío, como también sucede en el resto de músculos. Al igual que han encontrado otros autores, la conservación en MAP de la carne de vacuno disminuye la aceptabilidad de la terniza (Polkinghorne *et al.*, 2018). Las muestras del músculo ST tuvieron valores de aceptabilidad inferiores al LD y, en el caso de las muestras maduradas al vacío, también al PP. Este último músculo las puntuaciones de la aceptabilidad general, del sabor y de la terniza fueron similares a las del músculo LD.

En el músculo PP hubo un efecto significativo de la alimentación, donde la carne del grupo alimentado con concentrado, fue mejor aceptada. Se encontró una interacción entre la alimentación y el tipo de envasado para los tres atributos de aceptabilidad estudiados ($P<0,01$) en el PP. En las muestras envasadas al vacío no se encontraron diferencias significativas en las valoraciones de aceptabilidad entre las muestras de animales alimentados con concentrado o con silo de maíz, siendo además las mejor aceptadas con diferencias significativas del resto. Sin embargo, las muestras envasadas en MAP tuvieron mejor valoración las procedentes de los animales alimentados con concentrado.

El 70% de los consumidores decían consumir carne de vacuno una vez o más por semana. En cuanto al tipo de corte que consumían con más frecuencia, el lomo ocupó el primer lugar con un 33,9% y el solomillo tras él, con un 14,8%, mientras que la tapa ocupó el último lugar con un 1,7% de las respuestas. También se formuló una pregunta acerca del conocimiento y compra de diferentes marcas de carne de vacuno, siendo las más conocidas Mercadona, Auchan y Ternera Gallega IGP (más del 80%). La carne de Ávila IGP se posicionó en el 5 lugar de conocimiento (68,03%), pero solo el 17% la compraba.

En conclusión, el uso de silo de maíz mejoró la calidad sensorial de la carne. La aceptabilidad de la terniza y del sabor de músculos nobles como LD fue superior al resto de músculos analizados, especialmente en los animales alimentados con silo de maíz. El uso del vacío en la conservación de la carne de vacuno puede mejorar la calidad sensorial de la misma, especialmente la terniza. Por tanto, el cebo con silo de maíz puede ser una alternativa para la producción de carne de la raza Avileña-Negra ibérica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Casasús, I., Ripoll, G. & Albertí, P. 2012. ITEA. 108:2, 191-206
- Polkinghorne, R.J. et al., 2018. Meat Sci. 142, 59-64
- Font i Furnols, M. et al 2006, Meat Sci, 72, 545-554

Agradecimientos: Proyecto 20130020000829 financiado por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Al personal del departamento de P.A.C.A. de la facultad de veterinaria de Zaragoza y a la Asociación Española de la IGP Carne de Ávila.

EFFECT OF FEEDING, MUSCLE AND PACKAGING ON ACCEPTABILITY OF AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA BREED MEAT

ABSTRACT: Twenty-four Avileña-Negra Ibérica bulls were used to evaluate the effect of 2 feeding systems (concentrate vs corn silage), 3 types of muscle (*Longissimus dorsi*, *Semitendinosus* and *Pectoralis profundus*) and 2 packaging systems (vacuum and modified atmosphere packaging, MAP) on acceptability of beef. Feeding did not affect beef acceptability, but there was an interaction with muscle being LD better accepted especially in meat from SIL group. An interaction between feed and packaging was shown on PP muscle where the acceptability was better on CON group. Meat from vacuum packaging had higher acceptability than meat from MAP packaging.

Keywords: acceptability, packaging, corn silage

Tabla 1. Significación de los efectos alimentación, músculo, envasado y sus interacciones sobre la aceptabilidad general, del sabor y la terneza.

	Alimentación	Músculo	Envasado	AlimxMus	MusxEnv	AlimxEEnv	AlimxMusxEEnv
General	ns	<0,001	<0,001	0,025	0,016	ns	0,047
Sabor	ns	<0,001	<0,001	0,002	ns	ns	ns
Terneza	ns	<0,001	<0,001	0,046	0,005	ns	0,002

AlimxMus= interacción alimentación por músculo; MusxEEnv= interacción músculo por envasado; AlimxEEnv= interacción alimentación por envasado; AlimxMusxEEnv= interacción alimentación por músculo y por envasado; ns= no significativo.

Tabla 2. Significación del efecto de la alimentación, el envasado y su interacción sobre la aceptabilidad general, del sabor y la terneza de los músculos Longissimus dorsi, Semitendinosus y Pectoralis profundus de la raza Avileña-Negra Ibérica.

	Longissimus dorsi			Semitendinosus			Pectoralis profundus		
	Alimentación	Envasado	AlimxEEnv	Alimentación	Envasado	AlimxEEnv	Alimentación	Envasado	AlimxEEnv
General	0,045	<0,001	ns	ns	<0,001	ns	0,045	<0,001	0,010
Sabor	0,003	<0,001	ns	ns	<0,001	ns	0,029	<0,001	0,030
Terneza	ns	<0,001	ns	ns	<0,001	ns	0,010	<0,001	0,002

AlimxEEnv= interacción alimentación por envasado; ns= no significativo.

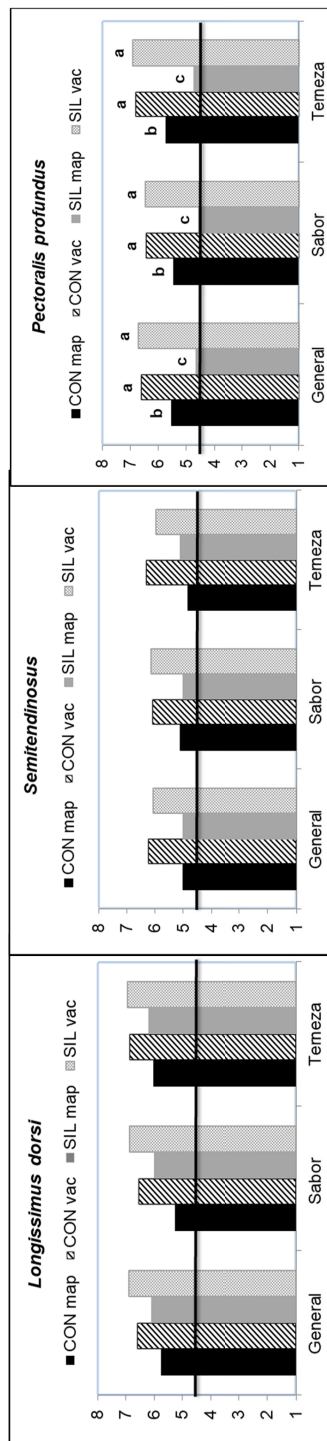


Figura 1. Valores medios de la aceptabilidad general, del sabor y de la terneza de la carne procedente de animales alimentados con concentrado (CON) y silo de maíz (SIL) y envasada al vacío (VAC) o en atmósfera protectora (MAP) de los músculos Longissimus dorsi, Semitendinosus y Pectoralis profundus de la raza Avileña-Negra Ibérica.

OCURRENCIA DE MICROORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE Y PATOGENICOS EN CANALES DE CORDERO DE RAZAS AUTÓCTONAS PORTUGUESAS

Coelho-Fernandes, S.C., Félix-Oliveira, D., Gonzales-Barron, U., Cadavez, V. Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, 5300-253 Bragança, Portugal; vcadavez@ipb.pt

INTRODUCTION

Se estima que el consumo de carne ovina producida en Portugal es elevado, aunque se dispone de poca información sobre su calidad microbiológica. En términos generales, los microorganismos que alteran la carne pueden tener acceso a la misma por infección del animal vivo (enfermedad endógena) o por contaminación de la carne post-mortem (infección exógena) (Lawrie, 1998). Sin embargo, es en el matadero donde existe el mayor riesgo de contaminación externa, a través de la suciedad adherida a la piel, el contenido del tracto gastrointestinal, la contaminación aerógena, los suministros de agua, instrumentos y equipos contaminados, etc. (Empy y Scoot, 1993). Así, para obtener canales de buena calidad microbiológica, los mataderos deben adherirse a condiciones higiénico-sanitarias rigurosas durante todo el proceso de sacrificio, manejo y almacenamiento. Este estudio tuvo por objetivo evaluar la calidad microbiológica de canales de corderos de dos razas portuguesas, *Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho* (BEDM), originaria de Ponte de Lima y *Churra-Galega-Bragançana* (CGB), originaria de Bragança, mediante la determinación de indicadores de higiene (mesófilos, coliformes totales y *Escherichia coli*) y microorganismos patógenicos (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *E. coli* O157:H7).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio, se utilizaron 15 corderos de raza BEDM y 15 de raza CGB, los cuales fueron sacrificados en el matadero municipal de Bragança. En cada una de las 6 visitas al matadero, se procedió al frotis (técnica de *swabbing*) de 5 canales mantenidas en refrigeración por 24 h después del sacrificio. Para el frotis, se utilizaron esponjas pre-humedecidas (3M HS10BPW, USA) y moldes flexibles estériles de 5x10 cm y 10x10 cm, para el barrido de tres zonas de la canal: patas traseras (50 cm² cada una), cuello (100 cm²) y lomo (200 cm²), totalizando 400 cm². Dos esponjas fueron utilizadas por canal. Las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio en una nevera portátil, y los análisis microbiológicos fueron realizados el mismo día.

Las dos esponjas pertenecientes a la misma canal fueron homogenizadas con 80 ml de agua peptona durante 2 minutos en un stomacher (Interscience, BagMixer 400). Se inició de inmediato el análisis de *L. monocytogenes* transfiriendo 10 ml del homogenizado a 90 ml de caldo Fraser, y se incubó por 24 y 48 h a 30°C.

Para los microorganismos indicadores de higiene, se diluyó el homogenizado hasta 10⁻³, y alícuotas de 1 ml fueron inoculadas en placas Petrifilm para mesófilos y coliformes (3M 6400/6406/6442 y 6404/6414/6444), y posteriormente incubadas a 35°C por 48 h. Para el análisis de *Salmonella* e *E. coli* O157, el homogenizado fue incubado a 35°C por 24 h. Métodos BAM/FDA (BAM, 2016) fueron usados para el aislamiento de *Salmonella* spp. y *E. coli* O157, aunque para este último se utilizó el medio selectivo ChromoAgar O157 (Frilabo, Portugal). Para el análisis de *L. monocytogenes* se empleó el método ISO 11290-1:1996:Am2004 (ISO, 2004). Las colonias patógenicas sospechosas fueron confirmadas utilizando pruebas bioquímicas y serológicas.

RESULTS AND DISCUSSION

En lo que respecta a coliformes totales y *E. coli* genérica, los recuentos en canal fueron bajos y no significativamente diferentes entre razas (Tabla 1). No obstante, algunas canales escaparon de la tendencia media, presentándose como puntos extremos. La Figura 1 ilustra esta variación, que puede acontecer dentro de y entre lotes de muestreo, para los recuentos de *E. coli*. En el caso de los microorganismos

mesófilos, se observó un efecto de raza ($p=0,001$), siendo los recuentos más altos para las canales de raza BEDM. Se conjetura que esto pueda acontecer por una mayor probabilidad de contaminación cruzada del vellón a la canal, debido a que los corderos BEDM poseen un pelaje más largo que los de raza CGB. No se descarta que otros factores puedan estar presentes, como variación en el tratamiento de las canales o en la higiene/procedimientos de día para día, aunque realizando todos los sacrificios en el mismo matadero se intentó minimizar tales efectos. En todo caso, los recuentos promedios de mesófilos obtenidos para las razas BEDM ($3,380 \log \text{ UFC/cm}^2$) y CGB ($2,530 \log \text{ UFC/cm}^2$) se encontraron por debajo del límite inferior de la legislación europea (EC No. 2073/200), la cual especifica que las colonias aeróbicas para canales de ovinos deben encontrarse como máximo entre 3,50 y 5,0 $\log \text{ UFC/cm}^2$.

Tabla 1. Recuentos e intervalos de confianza al 95% ($\log \text{ UFC/cm}^2$) de microorganismos indicadores de higiene cuantificados en canales de cordero de razas Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM) y Churra-Galega-Bragançana (CGB), mostrando significancia ($Pr>|t|$) del efecto de la raza, estimada por la prueba de la media de los mínimos cuadrados

Microorganismos	Raza	N	Media	95% IC	$Pr> t $
Mesófilos	BEDM ^a	15	3,380	[3,040 – 3,720]	0,001
	CGB ^b	15	2,530	[2,190 – 2,880]	
Coliformes totales	BEDM ^a	15	0,562	[0,292 – 0,831]	0,550
	CGB ^a	15	0,449	[0,179 – 0,719]	
<i>E. coli</i>	BEDM ^a	15	-0,040	[-0,251 – 0,171]	0,890
	CGB ^a	15	-0,070	[-0,281 – 0,141]	

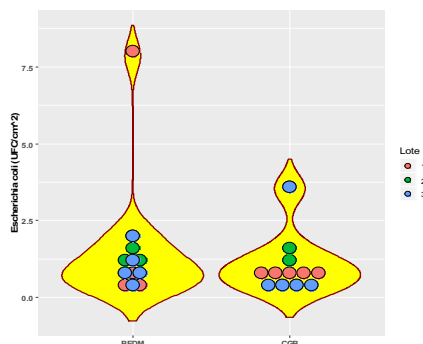


Figura 1. Diagramas de violín de los recuentos de *Escherichia coli* (UFC/cm^2) en canales de cordero de razas Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM) y Churra-Galega-Bragançana (CGB), mostrando variabilidad entre lotes de producción

En la Tabla 2, se compilan las incidencias (%) de los microorganismos patógenos para las canales de ambas razas. En promedio, las canales de corderos BEDM presentaron mayor contaminación por *Salmonella* spp. (66,7%) y *E. coli* O157 (46,2%) que las de raza CGB (6,7% y 20%, respectivamente). Una vez más, y como señala Lawrie (1998), el vellón de las ovejas es una fuente importante para este tipo de contaminación. El nivel de incidencia de *Listeria* spp. fue alto para ambas razas (BEDM 100% y CGB 93%), y el de *L. monocytogenes* numéricamente mayor para las canales de CGB (13,3%) que para las de BEDM (6,7%), aunque en términos estadísticos, las diferencias no fueron significativas. *Salmonella* spp y *E. coli* O157 son microorganismos constituyentes del tracto gastrointestinal, y los procedimientos no adecuados en la línea de sacrificio pueden determinar las roturas de las asas intestinales y contaminar las canales. La presencia de *L. monocytogenes* puede

originarse por contaminación aérea del matadero e higiene deficiente de equipos, superficies y material. Esta investigación revela que es necesario disminuir los niveles de patógenos presentes en las canales de cordero, lo cual implicaría la implementación de políticas más exigentes de control de sanidad de los animales, así como de sistemas de verificación de las condiciones higiénico-sanitarias en los mataderos.

Tabla 2. Incidencia de microorganismos patógenos y *Listeria spp.* cuantificados en canales de cordero de razas *Bordaleira-de-entre-Douro-e-Minho (BEDM)* y *Churra-Galega-Bragançana (CGB)*, mostrando significancia ($Pr > |z|$) del efecto de la raza, estimada en modelo logístico

Microorganismos	Raza	N	Incidencia (%)	95% IC (%)	$Pr > z $
<i>Salmonella spp.</i>	BEDM ^a	15	66,7	[41,5 – 86,5]	0,004
	CGB ^b	15	6,7	[0,39 – 26,2]	
<i>Listeria spp.</i>	BEDM ^a	15	100	[n.e]*	1,000
	CGB ^a	15	93,0	[n.e]	
<i>L. monocytogenes</i>	BEDM ^a	15	6,7	[0,39 – 26,2]	0,550
	CGB ^a	15	13,3	[2,34 – 35,7]	
<i>E. coli</i> O157**	BEDM ^a	15	46,2	[23,4 – 70,9]	0,100
	CGB ^b	15	20,0	[5,38 – 44,0]	

(*) No estimable; (**) Diferencias significativas entre razas a un nivel de $\alpha=0,10$

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrews, W.H., et al. 2018. *Salmonella*. In: U.S. FDA, Bacteriological Analytical Manual.
- Bourgeois, M.C. 1994. Microbiología Alimentaria. Volumen I, Editorial ACRIBIA, p.51-120.
- Commission Regulation (EC) No 2073. 15 November 2005. Microbiological criteria for foodstuffs. p. 1–26.
- Empey, W.A. & Scott, W.J. 1939. C.S.I.R.O.; Bull. No.126.
- ISO 11290-1. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method, 2017.
- Lawrie, R.A. 1998. Ciencia de la Carne. 3ª Edición, Editorial ACRIBIA, p.137-144.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto europeo ERANET: SusAn/0002/2016.

INCIDENCE OF HYGIENE INDICATOR BACTERIA AND PATHOGENS ON CARCASSES OF PORTUGUESE LAMB BREEDS

ABSTRACT: The objective of this study was to appraise the levels of hygiene indicator bacteria and the incidence of *Salmonella spp.*, *L. monocytogenes* and *E. coli* O157 on lamb carcasses from two Portuguese breeds, *Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM)* and *Churra-Galega-Bragançana (CGB)*. While the mean levels of mesophiles were within the limits of EC N° 2073/2005 for both BEDM lamb carcasses (3.380 log CFU/cm²) and CGB lamb carcasses (2.530 log CFU/cm²), the coliforms (0.449 - 0.562) and generic *E. coli* counts (-0.040 - -0.070 log CFU/cm²) were also low for both breeds. BEDM carcasses presented higher incidence of *Salmonella spp.* (66.7%) and *E. coli* O157 (46.2%) than CGB carcasses (6.7% and 20%, respectively), whereas for *L. monocytogenes* incidence, there was no statistical difference (6.7%/13.3%). The results have evidenced the urgent need to implement strategies and verification processes to reduce the current levels of pathogens in Portuguese lamb carcasses.

Keywords: Mesophiles, coliforms, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y TERNEZA DE LA CARNE DE CORDERO DE DOS RAZAS AUTÓCTONAS PORTUGUESAS

Santos-Rodrigues¹, G., Lorenzo², J. M., Gonzales-Barron¹, U., y Cadavez¹, V.

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, 5300-253 Bragança, Portugal; vcadavez@ipb.pt

²Centro Tecnológico de la Carne de Galicia, Parque Tecnológico de Galicia, San Cibrao das Viñas, Ourense, España

INTRODUCCIÓN

En la Unión Europea (UE), la producción de carne de ovino se basa predominantemente en sistemas de pastoreo, sistemas de producción extensivos o semi-intensivos. En este sector, el nivel de autosuficiencia es de aproximadamente 77% en la UE y de 82% en Portugal. En consecuencia, aumentar la producción de carne de ovino, así como mejorar su calidad para tornar la carne de ovino más atractiva, es esencial para garantizar un nivel de rendimiento digno a los productores de ovino. Por otro lado, los países del norte de la UE producen borregos pesados (canales de peso superior a los 13 kg), mientras que los países mediterráneos producen borregos más ligeros (peso inferior a los 13 kg). En los países del sur, con preferencia por las canales ligeras, la producción de canales pesadas puede tener un impacto en su nivel de autosuficiencia, el precio de mercado y el rendimiento de los productores, que es el más bajo del sector pecuario. Dentro de los atributos sensoriales de la carne, la terneza es determinante para su calidad, desde que los consumidores se refieren a una carne dura como una carne de baja o sin calidad. El diámetro de las fibras musculares aumenta con la edad del cordero, tornando la carne más dura (Santos et al., 2007). La medición del esfuerzo de corte, a través del ensayo Warner-Bratzler, tiene una alta correlación con la apreciación sensorial de la carne. Como la valorización comercial de la carne de cordero depende de su calidad, este trabajo tuvo por objetivo estudiar el efecto de las razas Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM) y Churra-Galega-Bragançana (CGB) sobre las características fisicoquímicas y de terneza de la carne de animales sacrificados a los 4 meses de edad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 15 corderos de cada una de las razas, BEDM y CGB, criados en régimen semi-intensivo, con 4 meses de edad. Los corderos fueron sacrificados en el matadero municipal de Bragança; y las canales obtenidas fueron refrigeradas a 4°C durante 24 horas. Después de este periodo, los músculos *L. lumborum* izquierdo y derecho fueron cortados, envasados al vacío y mantenidos en refrigeración a 4°C hasta 3 días después del sacrificio. El músculo *L. dorsi* de la mitad derecha, cortado entre la 6ª y 13ª costilla, fue utilizado para la realización de los análisis fisicoquímicos. El pH se midió en el músculo *L. thoracis* a nivel de la 13ª costilla con un potenciómetro (HI99163, Hanna Instruments, Eibar, Spain) equipado con una sonda de vidrio para penetración. Los parámetros colorimétricos fueron determinados por el método CIE. El tenor graso, proteico y de cenizas fueron determinados con métodos internacionales aprobados. El contenido proteico se determinó usando un equipo Kjeldatherm y Vapodest 50 Gerhardt. Para el ensayo Warner-Bratzler de esfuerzo de corte, se utilizó el texturómetro (TA-XT2, Stable Micro Systems, Godalming, UK). Dos tipos de análisis estadístico fueron realizados: primero, un análisis de varianza para cada una de las características de calidad de la carne con el objetivo de evaluar el efecto de la raza; y a seguir, un análisis de componentes principales para explorar las interrelaciones entre las variables. Se utilizó el software R (R Core Team, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las medias e intervalos de confianza a 95% de las características fisicoquímicas de la carne de cordero de origen portugués. En ninguna de las características de calidad de carne medidas, se observó efecto del sexo del animal dentro de la raza (valores de $P > |t|$ no significativos en Tabla 1).

Tabla 1. Valores medios e intervalos de confianza al 95% de los análisis físico-químicos y reológicos realizados en carne de cordero de razas Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM) y Churra-Galega-Bragançana (CGB) al tercer día del sacrificio. Pr>|t| denota nivel de significancia del efecto del sexo del animal dentro de la raza, estimado por análisis de varianza

Análisis	Raza	Media*	95% IC	Pr> t
Proteína (g/100 g ms)	BEDM	87,90 ^a	[86,40 – 89,30]	0,304
	CGB	85,30 ^b	[84,00 – 86,50]	
Grasa (g/100 g ms)	BEDM	1,710 ^a	[0,686 – 2,730]	0,648
	CGB	6,760 ^b	[5,838 – 7,680]	
Cenizas (g/100 g ms)	BEDM	6,231 ^a	[5,930 – 6,520]	0,691
	CGB	5,474 ^b	[0,290 – 5,770]	
pH	BEDM	5,900 ^a	[5,810 – 5,990]	0,192
	CGB	5,690 ^b	[5,610 – 5,770]	
L*	BEDM	45,20 ^a	[43,60 – 46,70]	0,415
	CGB	43,10 ^b	[41,50 – 44,60]	
a*	BEDM	12,20 ^a	[11,40 – 13,00]	0,676
	CGB	10,90 ^b	[10,20 – 11,60]	
b*	BEDM	12,80 ^a	[11,80 – 13,70]	0,419
	CGB	11,60 ^b	[10,70 – 12,40]	
PPC** (%)	BEDM	16,70 ^a	[14,70 – 18,80]	0,988
	CGB	17,60 ^a	[15,80 – 19,50]	
Fuerza (kg-f)	BEDM	2,800 ^a	[2,290 – 3,320]	0,528
	CGB	4,260 ^b	[3,990 – 4,930]	

(*) Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre razas a $\alpha=0,01$

(**) Pérdidas por cocción

Tampoco se manifestaron diferencias entre razas en las pérdidas por cocción de las carnes (16,70 – 17,60%). El pH varió entre 5,51 y 6,00, valores que presentaron una variabilidad normal y también referidos por otros autores que trabajaron con carne de cordero (Sañudo *et al.*, 1996). La carne de los corderos de raza BEDM presentó un pH superior ($p<0,05$) al de la carne de los corderos de raza CGB, lo que necesariamente estará asociado a las condiciones de estrés de los animales antes del sacrificio. La carne de los corderos de raza BEDM presentó menor fuerza de corte ($p<0,05$), lo cual encuentra explicación en el mayor pH de esta carne (Figura 1), y por tanto, de una maduración superior a los 3 días de refrigeración. El pH más bajo de la carne, tal como se observó en los corderos de raza CGB, retarda el proceso de maduración, tal como fue demostrado por Yu y Lee (1986). La carne de cordero de raza BEDM presentó mayor tenor en proteína ($p<0,05$), menor tenor de grasa ($p<0,05$) y mayor tenor de cenizas ($p<0,05$). Estos resultados muestran que los corderos de raza BEDM estuvieron en peor estado nutricional, como se verifica por el bajo tenor de gordura de su carne (1,7%), lo que explica también el elevado pH de estas carnes (superior a 5,70). En lo que respecta a los parámetros de color, se observa que la carne de raza BEDM presenta valores de luminosidad (L*), color rojo (a*) y color amarillo (b*) superiores ($p<0,05$) a los de la carne de cordero de raza CGB. Estos resultados están también relacionados al mayor pH de la carne de los corderos de raza BEDM, que produce carne más oscura (Santos, *et al.*, 2007).

En el mapa factorial (Figura 1), podemos observar que las características de color y de pH están positivamente asociadas, y que el pH y la fuerza de corte se encuentran negativamente correlacionadas. Por otro lado, y contrario a lo esperado, el tenor de grasa está positivamente correlacionado con la fuerza de corte; sin embargo, esta

relación está afectada por el pH, que es superior en la carne que posee menor tenor de grasa (raza BEDM). De esta forma, no podemos dissociar el efecto del pH del efecto de la grasa de la carne.

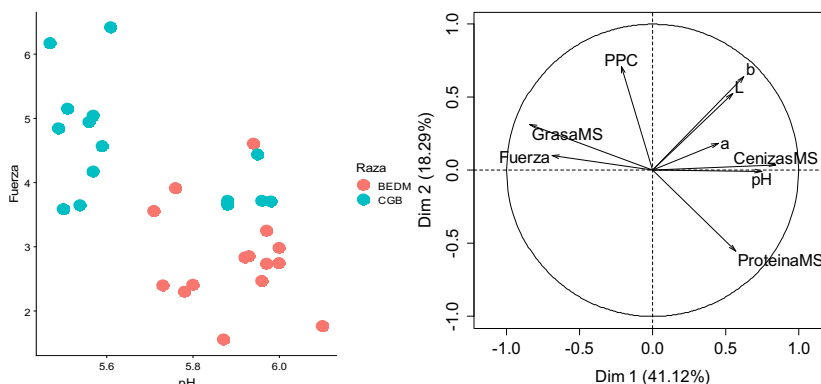


Figura 1. Correlación ($R=0,638$) entre las medidas de fuerza (kg-f) y pH de la carne de cordero de razas Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM) y Churra-Galega-Bragançana (CGB) (izquierda); y mapa factorial para apreciación de las correlaciones entre las variables de calidad analizadas (derecha)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sañudo, C., Santolaria, M.P., Maria, G., Osorio, M. & Sierra, I. 1996. Influence of carcass weight on instrumental and sensory lamb meat quality in intensive production systems. *Meat Sci* 42, 195-202.
- Santos, V.C., Cadavez, V.P. & Silva, S.R. (2007). Avaliação da qualidade da carne de ovino e caprino. Indicadores físico-químicos. In: *Carça e Carne de Borrego e Cabrito: Avaliação da Qualidade e da Composição*. Severiano S. Silva, Vasco P. Cadavez & Jorge M.T. Azevedo (Ed.), Serviços Gráficos da UTAD, pp. 3-26.
- Yu, L.P., Lee, Y.B. (1986). Effect of post-mortem pH and temperature on bovine muscle structure and meat tenderness. *J Food Sci* 51, 774-780.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto europeo ERANET: SusAn/0002/2016.

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS AND TEXTURE OF LAMB MEAT FROM TWO AUTOCHTHONOUS PORTUGUESE BREEDS

ABSTRACT: Portuguese autochthonous breeds as genetic and cultural heritage are of great importance. The knowledge of the physicochemical characteristics of the products from these breeds is a first step into its valorisation. In the present study, meat quality characteristics, namely, protein, fat, ashes, pH, colorimetric parameters, cooking loss and Warner-Bratzler force, were measured on *Longissimus dorsi* from two Portuguese breeds, the Churra-Galega-Bragançana (CGB) and the Bordaleira-Entre-Douro-E-Minho (BEDM). It was concluded that the meat from the BEDM breed presented a better quality, with higher protein content ($p<0.05$) and a deeper red colour ($p<0.05$) than the meat from CGB meat

Keywords: Warner-Bratzler; fat; protein; cooking loss.

EFECTO DEL ESTRÉS PRE-SACRIFICIO SOBRE EL DESARROLLO DE CARNES DFD EN LA RAZA RETINTA

Fuente-García^{1,2}, C., Serrano-Hernández¹, L., Sentandreu¹, E., Aldai², N., Romero³, P., Cabeza de Vaca³, M., Tejerina³, D. y Sentandreu¹, M.A.

¹ Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), 46980 Paterna (Valencia).

² Grupo de Investigación Lactiker, Departamento de Farmacia y Ciencias de los Alimentos, UPV/EHU, 01006 Vitoria-Gasteiz.

³ Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), 06187 Guadajira (Badajoz)
ciesen@iata.csic.es

INTRODUCCIÓN

Desde hace décadas, el estudio y control de los distintos factores que afectan a la calidad final de la carne de vacuno ha sido uno de los principales retos de la industria. La gran variabilidad individual, unida a los diferentes sistemas de manejo hace que actualmente haya una falta de homogeneidad en la calidad final del producto que llega al consumidor. Uno de los principales factores que influyen en esa calidad final puede deberse a diferencias en la susceptibilidad individual de los animales al estrés. El estrés pre-sacrificio puede ser intrínseco al animal, pero son los factores asociados al manejo los que desempeñan un papel fundamental. Antes del sacrificio, los animales sometidos a estrés agotan sus reservas de glucógeno y, como consecuencia, la acidificación *post-mortem* del músculo es limitada, ya que no hay glucógeno disponible para transformarse en ácido láctico, siendo los valores de pH *post-mortem* superiores a 6.0 (McVeigh et al., 1982). Esto favorece la aparición de carnes DFD (*dry, firm, dark*) que se caracterizan por ser oscuras y secas, con alta capacidad de retención de agua y baja estabilidad microbiológica. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es estudiar diferentes parámetros relacionados con el estrés pre-sacrificio y determinar su efecto en la aparición de carnes DFD en la raza Retinta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon terneros añojos machos de aptitud cárnica de 14-15 meses de edad de la raza Retinta (n=20) bajo un sistema de producción de cebo intensivo. Durante la fase de transporte y espera en matadero, nueve animales (n=9) se transportaron respetando los lotes y la jerarquía establecida en granja (no mezcla - NM), y los restantes (n=11) se mezclaron con animales de lotes distintos (mezcla - M). Del total de muestras, 13 fueron clasificadas como carnes "normales", con un pH inferior a 5.9 (6 NM y 7 M), y las otras 7 fueron consideradas carnes "DFD" con valores de pH iguales o superiores a 5.9 (3 NM y 4 M). Los valores de pH se tomaron a las 24 h *post-mortem* a nivel de la 6ª costilla del músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL). Para la medida de los parámetros séricos, se recogieron muestras de sangre de cada animal en el momento de la exsanguinación y se extrajo el plasma mediante centrifugación a 2000g durante 15 min. El sobrenadante se congeló a -80 °C en tubos Eppendorf. El cortisol sérico se determinó por la técnica ELISA (NovaTec Immunodiagnóstica GmbH, Dietzenbach, Alemania). El análisis de los biomarcadores del metabolismo energético se llevó a cabo por la determinación de la glucosa (kit enzimático Biosystem®) y el lactato (Edwards et al., 2010). Para la determinación de la actividad de las caspasas 3 y 7, se extrajeron muestras de LTL de la media canal izquierda a nivel de la 13ª costilla a las 2 h *post-mortem*. Las muestras se transportaron al laboratorio (refrigeración) y a las 24 h *post-mortem* se congelaron a -80 °C (nitrógeno líquido). Para extraer la fracción sarcoplásmica, cada muestra se homogeneizó en 2 mL de tampón de extracción (10mM HEPES, pH 7.5, 0,1 % Brij 35, 10 % sacarosa, 1mM EDTA) y se centrifugó a 20,000g durante 20 min (4 °C). El sobrenadante se filtró con filtros PVDF de 0.45 µm y se almacenó a -80 °C. La actividad caspasa se determinó incubando el extracto sarcoplásmico con el sustrato fluorogénico Ac-DEVD-AMC específico de las caspasas 3/7 durante 30 min a 37 °C. Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis univariante y multivariante. El test de Welch se empleó como variante del T-test para estudiar las diferencias entre carnes normales y DFD ($P \leq 0.05$) en las distintas variables de estudio utilizando el programa SPSS 24.0 (IBM, New York, NY, EEUU).

Para el análisis multivariante se llevó a cabo el análisis de componentes principales utilizando el programa XLSTAT 2010.5.02 (Addinsoft, Paris, Francia).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto al efecto M/NM durante el transporte y la espera en el matadero, no se observaron diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas. Sin embargo, sí que se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en los parámetros séricos y actividad caspasa entre muestras normales y DFD (**Tabla 1**). El pH_{24} , parámetro más utilizado por la industria cárnica para la detección de carnes DFD, fue un factor claramente discriminante entre carnes normales y DFD ($P \leq 0.001$) aunque no siempre es suficiente para detectar este defecto. La activación del eje HPA (hipotálamo-Pituitaria-Adrenal) como respuesta al estrés conlleva la producción de glucocorticoides (cortisol) para mantener la homeostásis (Cafe et al., 2011). Asimismo, el estrés también provoca un aumento en la síntesis de catecolaminas. La liberación de estas hormonas puede generar cambios importantes en el metabolismo energético mediante la activación de la glucogenólisis debido a la mayor demanda de glucosa por parte del músculo y el cerebro (Tarrant, 1990). En este estudio, los niveles de cortisol y lactato fueron más altos en las muestras DFD, mientras que la concentración de glucosa fue más baja. Un mayor nivel de estrés implicaría, al igual que pasa con el glucógeno, una bajada de los niveles de glucosa, y por tanto, un aumento de la concentración de lactato.

Tabla 1. Efecto del tipo de carne (normal, DFD) sobre los parámetros séricos y actividad caspasa 3/7 (t_{10} , t_{20} , t_{30}).

		Cortisol (ng mL ⁻¹)	Glucosa (g L ⁻¹)	Lactato (g L ⁻¹)	Actividad Caspasa 3/7 (unidades fluorescencia)		
					t_{10}	t_{20}	t_{30}
Normal (n=13)	Media	168	1,00	0,986	1,45	2,97	4,42
	EEM	36,7	0,120	0,0897	0,134	0,260	0,369
DFD (n=7)	Media	436	0,240	1,32	2,58	5,26	7,81
	EEM	86,0	0,0271	0,118	0,071	0,128	0,228
<i>P</i> -valor		**	***	*	***	***	***

La actividad caspasa está expresada $\times 10^4$ unidades de fluorescencia; t_{10} , t_{20} y t_{30} , medida actividad caspasa a los 10, 20 y 30 min de incubación; EEM, error estándar de la media; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$; ***, $P \leq 0,001$

La apoptosis o muerte celular programada es un mecanismo que consiste en eliminar las células dañadas y potencialmente peligrosas de los organismos vivos sin dañar las células adyacentes. Es un proceso rápido que se lleva a cabo por la acción proteolítica de las caspasas. La actividad de las caspasas 3/7 fue significativamente mayor ($P \leq 0.001$) en el grupo DFD para los tres tiempos de estudio (**Tabla 1**). El estrés induce la síntesis de proteínas protectoras llamadas *proteínas de choque térmico* cuya función es proteger al resto de proteínas de la posible desnaturalización o pérdida de función (Kültz, 2003). Estas proteínas pueden interactuar con las caspasas en los procesos de apoptosis, pero todavía existe cierta controversia con respecto al papel pro- o anti-apoptótico que ejercen.

En la **Figura 2A**, el primer componente (PC1) explicó el 73,8 % de la variabilidad total encontrada entre los diferentes individuos, mientras que PC2 explicó el 13,2 %. A pesar de la gran variabilidad individual, se observó que las muestras identificadas como DFD se separaron de las muestras normales en el primer componente, presentando puntuaciones factoriales positivas con respecto a las muestras normales. Sin embargo, dos muestras clasificadas como normales por su valor de pH_{24} también presentaron puntuaciones factoriales positivas. Esto se explicaría por el hecho de que en estas muestras los índices de cortisol, glucosa y lactato siguieron la misma tendencia que en las muestras DFD. En la **Figura 2B** se observa una alta correlación de todas las variables con el PC1, excepto para el lactato, que se correlacionó con el PC2. Las muestras clasificadas como DFD se relacionaron positivamente con el cortisol y la actividad caspasa, y negativamente con la glucosa, siendo la actividad caspasa la variable que más peso tuvo sobre la separación entre muestras

normales y DFD, ya que presentó una carga factorial (en el PC1) de 0,95. La conclusión a estos resultados es que para evaluar correctamente la influencia del estrés pre-sacrificio sobre la aparición de carnes DFD habría que considerar diversos parámetros además de la medida del pH₂₄.

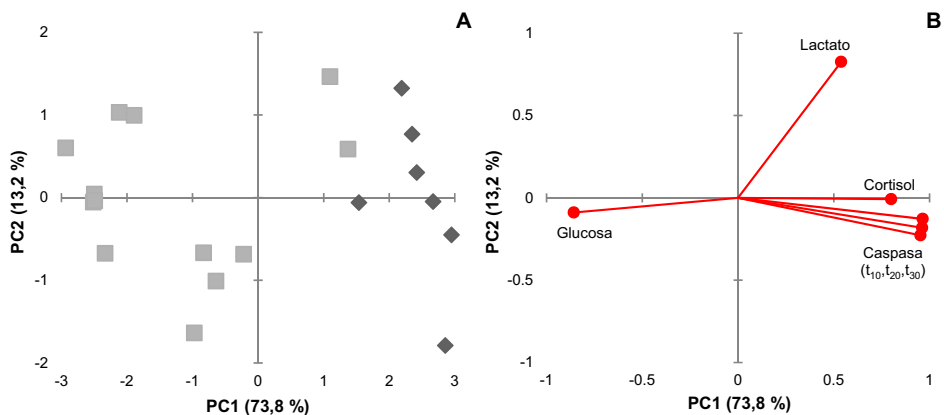


Figura 2. Distribución de los individuos (A) y las variables de estudio (B) en el sistema de coordenadas de dos dimensiones definido por los componentes principales (PC) 1 y 2. Cada punto representa una muestra animal (■: Normal; ◆: DFD) y las variables de estudio (●).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- McVeigh, J., Tarrant, P. & Harrington, M. 1982. *J. Anim Sci.* 54: 790-795.
- Edwards, L.N., Engle, T.E., Correa, J.A., Paradis, M.A., Grandin, T. & Anderson, D.B. 2010. *Meat Sci.* 85: 435-440.
- Cafe, L.M., Robinson, D.L., Ferguson, D.M., Greesink, G.H. & Greenwood. 2011. *Domest Anim Endocrin.* 40: 230-240.
- Tarrant, P.V. 1990. *Appl Anim Behav Sci.* 28: 153-170
- Kültz, D. 2003. *J. Exp Biol.* 206: 3119-3124.

Agradecimientos: Al Departamento de desarrollo Económico y Competitividad del Gobierno Vasco por la beca de C. Fuente-García. Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (subproyectos RTA2014-00034-C04-03 y RTA2014-00034-C04-04) y los fondos FEDER.

EFFECT OF PRE-SLAUGHTER STRESS ON DFD MEAT DEVELOPMENT

ABSTRACT: Animal handling might induce stress at slaughter, giving rise to changes on the ultimate meat quality. In this study, a total of 20 yearling bulls from Retinta beef breed were reared under intensive system. Prior to slaughter, 11 animals were mixed with unfamiliar individuals during transport and lairage while the other 9 were kept together (non-mixed). Moreover, muscle samples were classified as normal or DFD meat using pH measurements at 24h *post-mortem*. Blood samples were collected from each animal during exsanguination to determine plasma cortisol, glucose and lactate levels. Activity of caspases 3/7 from sarcoplasmic extract was measured at 24 h *post-mortem* using a specific fluorogenic substrate. Mixed and non-mixed handling practices did not show significant differences, but statistical differences were found between normal and DFD groups for all studied parameters. Animals with high pH (DFD group) showed higher plasma cortisol and lactate levels and caspase activity compared with animals with low pH (normal group), while the concentration of glucose was significantly lower in DFD group. These results suggest that, apart from pH₂₄ values, plasma cortisol, glucose and lactate levels, together with caspase activity, may be useful to accurately identify DFD meats in beef cattle.

Keywords: pre-slaughter stress, DFD, caspase, blood parameters.

EFFECTO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE DE POLLLOS DE CRECIMIENTO LENTO, DE LA INCLUSIÓN DE HARINA DE LARVA DE *CALLIPHORA SP.* EN LA DIETA DURANTE EL PRIMER MES DE VIDA

Sarmiento¹, A., Palacios¹, C. y Revilla², I.

¹ Producción Animal, Universidad de Salamanca Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales, Filiberto Villalobos, 119, 37007 Salamanca ²Tecnología de Alimentos, Universidad de Salamanca E.P.S de Zamora, Avda Requejo 33, 49022 Zamora; irevilla@usal.es

INTRODUCCIÓN

Las aves de corral como animales monogástricos, requieren proteínas de calidad suficiente que permitan compensar la incapacidad para sintetizar aminoácidos esenciales. Sin embargo, las proteínas de uso convencional no son ecológicamente o económicamente sostenibles. Es por ello que la búsqueda de alternativas proteicas suficientes tanto en calidad como en cantidad es una prioridad para estos productores. El potencial de la proteína de insecto como parte de la dieta de animales monogástricos ha atraído mucha atención en los últimos años (Pretorius et al., 2011). Los pollos con acceso a áreas al aire libre ingieren insectos a lo largo de toda su vida, lo que indica que están adaptados evolutivamente a su consumo como parte natural de su dieta, ofreciendo el potencial de ser utilizados en la alimentación animal eficazmente como alternativas a otras proteínas de origen animal o a la soja. A este respecto, la calidad de los productos derivados de animales que han consumido insectos son de especial interés y aún no se han investigado lo suficiente (Cullere et al., 2017). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue estudiar la calidad físico-química de la carne de pollos que recibieron diferentes porcentajes de un suplemento de harina de larva de mosca durante el primer mes de vida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio, se utilizaron total de 60 pollitos machos de un día de edad híbrido de crecimiento lento RedBro, con pesos y tamaños similares. Los pollitos fueron divididos de forma homogénea en cuatro grupos (N=15) cada uno; siendo tres grupos experimentales y un grupo control. La base de la alimentación para todos los grupos, fue un pienso compuesto certificado ecológico. El grupo Control solo tuvo el pienso como fuente de alimentación, para los tratamientos experimentales, se complementó con 5%, 10% o 15% de harina de larva *Calliphora sp.* (CLM) reduciendo en cada caso el porcentaje correspondiente de cantidad de pienso. Al cabo de 30 días, un total de 8 pollitos de cada grupo fueron sacrificados. Antes del sacrificio fueron pesados vivos (P5), en canal se pesaron los cuartos (Pcuarto) y las pechugas extraídas (Ppechuga). Se extrajo la pechuga (*Pectoralis major*) de cada canal y se envió al laboratorio de Tecnología de los Alimentos donde fueron congeladas. En el momento del análisis las pechugas fueron descongeladas (24h a 4°C).

La medición del pH se realizó en el músculo pectoral con un pHímetro Crison pH Meter Basic 20®. La determinación del color de las muestras de carne se realizó usando un colorímetro (HunterLab MiniScan XE Plus) con en el lado externo del músculo pectoral sin piel tras una hora de exposición al aire determinándose los parámetros L*a*b* usando un observador de 10° y el iluminante D₆₅ en el espacio CIELab. La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó utilizando el método propuesto por Zamorano y Gambaruto (1997). Posteriormente, la pechuga se dividió longitudinalmente en dos submuestras A₁ y A₂. La muestra A₁ se envasó en una bolsa de plástico y se calentó hasta 75°C centro pieza para luego ser enfriadas. Las pérdidas por cocción se determinaron entonces de acuerdo con la fórmula $100 \times [\text{peso de la muestra cocida (g)} / \text{peso de la muestra sin cocinar}]$. A partir de las muestras cocinadas se determinó la textura en porciones de 1x1 de sección y 3 cm de longitud utilizando para ello el Texture Analyzer TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, UK) equipado con una cuchilla de Warner-Bratzler. Se realizó un corte perpendicular a la dirección de la fibra muscular, a una velocidad de 3 mm/s, registrándose la fuerza de corte máxima (WBSF). La muestra A₂ se homogeneizó, y se analizó para determinar los siguientes parámetros humedad (AOAC 950.46 B, (2011)), grasa (AOAC31.4.02 (2000)) cenizas (AOAC 927.02 (2005)) y concentración de malondialdehído (MDA) mediante el método TBARS (sustancias reactivas

al ácido tiobarbitúrico). Para estudiar el efecto del factor considerado se empleó el análisis de varianza de una vía (ANOVA). Para la identificación de diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos para las variables estudiadas se aplicó la prueba HSD Tuckey. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete SPSS (IBM SPSS Statistics 23).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observaron diferencias significativas para el peso final de los animales (P5), donde los animales que habían recibido mayores concentraciones (10 y 15%) de CLM tuvieron un peso significativamente mayor que el grupo con 5% y el control. Sin embargo, no se observaron diferencias entre el peso del cuarto y de las pechugas para los distintos tratamientos. Similares resultados encontraron Awoniyi et al. (2003) y Cullere et al. (2016) quienes no observaron diferencias entre la dieta convencional y la alimentación basada en insectos en el porcentaje de producción de carne de pechuga. Frente a esto, Hwangbo et al. (2009) y Pretorius et al. (2011) encontraron pesos de la pechuga significativamente mayores en aquellos animales que recibieron harina de insecto frente al control.

Tabla 1. Efecto del nivel de inclusión de CLM sobre el peso pre-sacrificio (P5) (Kg), peso del cuarto (Kg) y peso de la pechuga (Kg)

	Control		10%		10%		15%		Sign
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
P5	0,789 ^b	± 0,022	0,751 ^b	± 0,021	0,869 ^a	± 0,024	0,874 ^a	± 0,026	**
Pcuarto	0,106	± 0,007	0,111	± 0,004	0,098	± 0,004	0,115	± 0,004	ns
Ppechuga	0,073	± 0,004	0,073	± 0,003	0,060	± 0,005	0,075	± 0,004	ns

ns= No significativo; ** $p < 0.01$. Superíndices a,b, distintos reflejan diferencias estadísticamente significativas.

La tabla 2 muestra que la inclusión de CLM en las dietas de pollos de 1 mes de vida, no modificó significativamente la humedad, cenizas, grasa y TBARS. Los resultados obtenidos por Cullere et al. (2017) muestran que la inclusión de harina de larvas de insectos tampoco afectó a la composición proximal de la carne de pechuga ni a su estado oxidativo. Por lo tanto, se encuentra que la composición (en términos de humedad, cenizas y grasa) y el estado oxidativo de los pollos alimentados por insectos es comparable con las aves alimentadas con dietas convencionales lo cuales un aspecto clave desde el punto de vista nutricional.

Tabla 2. Efecto del nivel de inclusión de CLM sobre la humedad (%), cenizas (g) grasa total (g) y oxidabilidad de la grasa (TBARS) (mg MDA/kg carne)

	Control		10%		10%		15%		Sign
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Humedad	75,95	± 0,487	75,90	± 1,147	75,29	± 0,286	74,27	± 1,589	ns
Cenizas	1,150	± 0,014	1,136	± 0,007	1,125	± 0,027	1,157	± 0,017	ns
Grasa total	1,410	± 0,286	1,256	± 0,367	0,851	± 0,113	1,070	± 0,226	ns
TBARS	0,054	± 0,001	0,052	± 0,001	0,053	± 0,001	0,051	± 0,001	ns

En relación al color (tabla 3) se observó que no hubo diferencias significativas para los valores L* y a*, pero sin embargo el test de Tuckey reveló diferencias significativas para el parámetro b*, obteniéndose valores más altos para el grupo que había recibido un 15% de CLM. Los trabajos previos señalan que, mientras Hwangbo et al. (2009) y Cullere et al. (2016) no encontraron variaciones para el color entre los distintos grupos, Pretorius et al. (2011) encontró valores significativamente más altos para L* en aquellos animales que habían recibido un 10% de harina frente al control, y más bajos para el a* y b*. Los valores de pH fueron significativamente mayores para los animales que habían recibido el 15% de harina, coincidiendo con lo hallado por Bovera et al. (2016), mientras que Cullere et al. (2016) mostró valores de pH más bajos cuando se incluyó harina de larvas y Pretorius et al. (2011) no hallaron diferencias significativas para el pH. En cuanto a las pérdidas por cocción, en el presente estudio se hallaron valores significativamente mayores para el grupo control. Por el contrario, el estudio realizado por Bovera et al. (2016), mostró mayores valores de pérdida por

cocción en aquellos que habían incluido mayor concentración de insecto. Este resultado se correlaciona con las pérdidas por cocción, en las cuales hubo una diferencia estadísticamente significativa de manera que las muestras control presentaron pérdidas más elevadas que los animales alimentados con las dietas con el 10% y el 15% de CLM. Una carne con pH cerca del punto isoeléctrico (5.2 a 5.5) de sus proteínas constitutivas da como resultado una menor capacidad de retención de agua, lo que produce una pérdida de cocción más intensa (Cullere et al., 2016). Sin embargo, el pH no afectó a la capacidad de retención de agua, medida a través del % de jugo exprimible no encontrándose diferencias significativas entre muestras debido a la inclusión de CLM. Tampoco se detectó un efecto sobre la textura, si bien el grupo con el 5% presentó unos valores más altos las diferencias no fueron estadísticamente significativas. La ausencia de diferencias en el color o la textura es importante ya que favoreciera la aceptación de estos productos en el mercado (Bovera et al., 2016).

Tabla 3. Efecto del nivel de inclusión de CLM sobre el color, dureza instrumental (N), pH, pérdidas por cocción (%), capacidad de retención de agua (% jugo exprimible).

	Control		10%		10%		15%		Sign
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
L*	59,88 ±	0,39	58,82 ±	1,04	57,78 ±	1,62	59,16 ±	0,60	ns
a*	7,72 ±	0,35	7,61 ±	0,47	7,81 ±	0,82	8,69 ±	0,51	ns
b*	18,33 ^{ab} ±	0,41	17,72 ^{ab} ±	0,36	16,98 ^b ±	0,85	19,26 ^a ±	0,45	*
pH	5,52 ^b ±	0,03	5,56 ^{ab} ±	0,04	5,60 ^{ab} ±	0,02	5,66 ^a ±	0,01	*
P.cocción	18,23 ^a ±	1,96	8,70 ^{ab} ±	0,83	12,39 ^b ±	1,67	12,93 ^b ±	1,93	**
CRA	11,25 ±	0,83	11,06 ±	0,65	10,71 ±	0,42	11,31 ±	0,64	ns
WBSF	13,41 ±	0,90	18,71 ±	3,30	14,26 ±	1,07	13,23 ±	1,35	ns

ns= No significativo; * p<0.05, ** p<0.01. Superíndices a,b, distintos reflejan diferencias estadísticamente significativas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pretorius Q. The evaluation of larvae of *Musca domestica* (common house fly) as protein source for broiler production. *Nutritional University*. 2011.
- Cullere M, Tasoniero G, Giaccone V, Acuti G, Marangon A, Dalle Zotte A. Black soldier fly as dietary protein source for broiler quails: Meat proximate composition, fatty acid and amino acid profile, oxidative status and sensory traits. *Animal*. 2017;12 (3):640-7.
- Awoniyi TA, Aletor MA, Aina JM. Performance of Broiler - Chickens Fed on Maggot Meal in Place of Fishmeal. *Int J Poult Sci* 2. 2003.
- Cullere M, Tasoniero G, Giaccone V, Miotti-Scapin R, Claeys E, De Smet S, et al. Black soldier fly as dietary protein source for broiler quails: apparent digestibility, excreta microbial load, feed choice, performance, carcass and meat traits. *animal*.2016;10(12):1923-30.
- Hwangbo J, Hong EC, Jang A, Kang HK, Oh JS, Kim BW, et al. Utilization of house fly-maggots, a feed supplement in the production of broiler chickens. *J Environ Biol*.2009;30(4):609-14.
- Bovera F, Piccolo G, Gasco L, Marono S, Loponte R, Vassalotti G, et al. Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*, L.) as a possible alternative to soybean meal in broiler diets. *Br Poult Sci*. 2015;56(5):1-7.

EFFECT ON THE MEAT QUALITY OF THE INCLUSION OF *CALLIPHORA SP.* MAGGOT MEAL DURING STARTER PERIOD IN SLOW-GROWING-CHICKEN FEED

ABSTRACT: The present study tested the effect of a partial substitution of soya bean meal with larvae meal (*Calliphora sp*) in the diet for starter broiler on meat proximate, oxidative status, colour, pH, water holding capacity and texture. For this purpose, four dietary treatments were designed: a control diet (Control) and three diets corresponding to 5%, 10%, 15% of CLM inclusion levels, respectively, were fed to broilers from 1 to 30 days of age. At 30 days of age, broilers were slaughtered and breast meat was used for meat quality evaluations. In conclusion, the present research showed that a partial replacement with a defatted CLM to the common soya bean meal in the broiler diet (up to 15% inclusion level) is technically feasible and provide meat of comparable quality to that of poultry fed a conventional diet, but with lower cooking losses.

Keywords: maggot meal, organic poultry, meat quality.

PARÁMETROS EN VIVO Y EN CANAL DE VACAS FRISONAS CEBADAS. EFECTO DEL TIPO DE CONCENTRADO.

Moreno¹, T., Crecente¹, S., López Luaces¹, M., Abrales², R. y García-Fontán², M.C.

¹Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo-AGACAL. Apto 10.15080 A Coruña

² Centro Tecnológico de la Carne. Avda. Galicia n^o4 -Parque Tec. Galicia 32900 Ourense

*teresa.moreno.lopez@xunta.es

INTRODUCCIÓN

En el año 2017 se creó la Indicación Geográfica Protegida “Vaca y Buey de Galicia” perteneciente al Consejo Regulador de las IGP de Carne de Vacuno de Galicia, con la finalidad de valorizar este tipo de animales mediante un período de cebo, para que su valor añadido repercuta en las explotaciones gallegas. El potencial de este tipo de producción en Galicia es enorme, porque existe una cabaña ganadera muy importante, sobre todo de vacas de aptitud láctea, principalmente de raza Holstein-Friesian. En Galicia existen 347.000 vacas de leche (Magrama, 2017), representando el 20% de las vacas de leche censadas en España. Cuando las vacas acaban su vida útil, la mayoría se sacrifican con una condición corporal no adecuada para vender como carne de calidad (Carballo y Moreno, 2006), siendo destinadas a la industria de transformación. La carne de calidad de vacuno mayor está experimentando un notable incremento, presentando características diferenciadoras, con gran cantidad de grasa subcutánea y elevado grado de infiltración de grasa intramuscular, lo que provoca un sabor más intenso y marcado, además de atributos de jugosidad y ternura (Moreno, 2004) muy apreciados por el consumidor. Ajustar la duración del cebo y optimizar el tipo de alimentación es fundamental para conseguir una mayor rentabilidad en el engorde del vacuno mayor. Surge la necesidad de encontrar alternativas que mejoren la eficiencia de los sistemas de engorde y de las características y el rendimiento canal, comparando el concentrado que más habitualmente se utiliza en las explotaciones gallegas con un pienso altamente energético, con el objetivo de mejorar la deposición de grasa y optimizar la duración del cebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 16 vacas de deshecho Holstein-Friesian de edad 5-10 años procedentes del rebaño experimental de leche del CIAM. Se repartieron en dos grupos aleatorios 8 vacas /grupo, teniendo en cuenta la condición corporal inicial (CCI) de cada animal para que los grupos fueran homogéneos para CCI. A cada grupo se le suministró un tipo diferente de concentrado como dieta de cebo: *Pienso concentrado altamente energético* (PCE) vs. *Concentrado de Harina de maíz* (HM). La composición química de los concentrados fue para el PCE: almidón 35,5%, fibra bruta (FB) 4,2%, grasa bruta (GB) 12,8% y proteína bruta (PB) 11,9%; mientras que para el HM: almidón 57,9%, FB 1,7%, GB 4% y PB 8,5%. El consumo de concentrados fue *ad libitum* (control consumo diario oferta y rechazo) suministrado en comederos de campo en las parcelas de pastoreo. La oferta de pasto y el suplemento de heno fue *ad libitum*. El ensayo se inició en junio y finalizó en noviembre de 2018, por lo que la disponibilidad de hierba de pastoreo fue escasa debido a la época estival. Se realizaron quincenalmente controles de ganancias medias diarias, control visual de la condición corporal de cada animal (Richards et al. 1986), medida de espesor de grasa subcutánea mediante ecógrafo y sus ganancias (Moreno et al., 2012), e inmediatamente previo al sacrificio una medida del perímetro del contorno del pecho. Una vez sacrificados los animales y 24 horas *post mortem*, se controló el peso canal frío y caliente, conformación y estado de engrasamiento (Reglamento N^o1249/2008). 48 horas *p.m.* se realizaron medidas morfométricas sobre media canal izquierda (De Boer et al., 1974) y medidas de espesor de grasa subcutánea 12^a costilla con calibre (Renard y Fisher, 1997). Análisis de datos mediante ANOVA con diseño randomizado, utilizando PROC GLM del SAS (SAS Institute Inc., 2006) y PROC CORRELATION para los coeficientes de correlación de Pearson.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 observamos que al inicio del cebo, el PVI de las vacas no presentaban diferencias significativas (772,5 vs. 755,3 n.s) entre tratamientos, porque se habían distribuido aleatoriamente teniendo en cuenta su CCI. Sin embargo, después de 5,8 meses de cebo, hubo un mayor consumo de concentrado PCE frente a HM (12,06 vs. 8,87, P<0,001). Se observan valores significativamente más elevados en vacas cebadas con PCE para: peso

sacrificio (961 vs 859 kg; P<0,01), GMD (+) (1,37 vs 0,78 kg.vaca/día;P<0,001), GANECOGR (+) (0,34vs.0,11 cm;P<0,01) y PERIM (+) (244vs. 229;P<0,01). Además, el índice de conversión (IC) fue inferior en vacas cebadas con PCE (8,99vs12,49;P<0,1) frente a HM. Sawyer et al. (2004) mostraron que diferentes alternativas en el cebo de vacas de deshecho tienen un efecto significativo en la respuesta de sus GMD. Minchin et al. (2009) mostraron valores similares a los nuestros con GMD de 1,15 kg/vaca para vacas cebadas con silo hierba y 9 kg concentrado/día. Moreno et.al.(2012) observaron que la oferta de una dieta de acabado en vacas frisonas menos energética reduce las GMD pero no la duración del periodo de cebo. († el significado de las siglas se encuentra en Tablas 1 y 2).

En la Tabla 2 observamos el mayor PCF (+) (484 vs.408 kg;P<0,001), *rendimiento canal* (0,5 vs.0,47,P<0,01) e *índice de compacidad de la canal (ICC)* (2,99vs.2,55,P<0,001) en vacas cebadas con PCE frente a HM. Uno de los resultados más diferenciadores entre las dos dietas de cebo, es la clasificación de canales por ENGR (+). Las canales de vacas cebadas con PCE fueron clasificadas significativamente más grasas que HM (11,75 vs.8,35,P<0,001). Estos resultados se corresponden con un nivel de cubrición de grasa de un 4+ “canal de grasa a muy grasa” para PCE y de un 3 “canal de cubierta a grasa” para HM. Observamos sin embargo, que no se encontraron diferencias significativas entre canales de las dos dietas en CONFOR (+) y mediciones morfométricas sobre las canales, debido a la distribución aleatoria de animales al inicio del ensayo. Algunos estudios han mostrado que cebos menos intensivos comparados con otros más intensivos producen rendimientos y características de la canal similares pero con diferentes duraciones en el período de cebo (Minchin et al., 2009). En nuestro estudio se ha comprobado que una misma duración del cebo para diferentes concentraciones energéticas en la dieta suministrada, provocó características y rendimientos de la canal diferentes. El mayor consumo de un concentrado altamente energético favorece un mayor engrasamiento de la canal durante el mismo período que vacas cebadas con harina de maíz.

La Tabla 3 muestra los coeficientes de correlación entre medidas del animal vivo y canal, y de esta forma poder estimar durante el periodo de cebo, el valor predictivo de determinadas medidas sobre animal vivo para alcanzar el nivel de engrasamiento deseado en la canal. El ECOGR (+) y PERIM (+) fueron muy positivamente correlacionadas con ENGR (r=0,76, P<0,001; r=0,77,P<0,001) y con PCF (r=0,79, P<0,001; r=0,91, P<0,001), respectivamente. ECOGR y PERIM son las dos medidas sobre el animal vivo que se presentan como un buen método predictivo para estimar el momento óptimo de sacrificio del animal, proporcionando un adecuado PCF y ENGR, características de la canal más relevantes a nivel comercial. Resultados similares fueron encontrados en Moreno et al. (2012) en las vacas en vivo de cebo con valores de ECOGR positivamente correlacionados con ENGR en sus canales.

Tabla 1. Medias por mínimos cuadrados (error estándar en paréntesis) para los dos tipos de concentrado suministrado en la dieta de cebo de vacas frisonas: pienso concentrado altamente energético (PCE) y harina de maíz (HM) sobre diferentes características y medidas del animal en vivo. F-test del efecto tipo de concentrado

Medidas en vivo	Tipo de concentrado de cebo		F-test
	PCE	HM	
Nº Vacas	8	8	
Peso Vivo Inicio: PVI (kg)	772,5 (22,13)	755,3 (22,66)	n.s.
Consumo de concentrado (kg.vaca/día)	12,06 (0,00)	8,87 (0,00)	***
Peso Sacrificio: PS (Kg)	960,7 (20,63)	859,4 (22,16)	**
Ganancias Medias Diarias Inicio-Fin: GMD (kg.vaca/día)	1,37 (0,09)	0,78 (0,09)	***
Índice de Conversión: IC	8,99 (1,18)	12,49 (1,13)	+
Espesor Final Grasa Subcutánea Ecógrafo: ECOGR (cm)	0,64 (0,05)	0,36 (0,05)	**
Ganancia Grasa Subcutánea Ecógrafo Inic-Fin:GANECOGR (cm)	0,34 (0,05)	0,11 (0,05)	**
Perímetro final contorno pecho: PERIM (cm)	243,75 (2,65)	229,12 (2,85)	**

+, *, **, *** nivel de significación a P<0,0,0544; 0,05; 0,01 y 0,001,respectivamente; n.s. medias no significativas.

Tabla 2. Medias por mínimos cuadrados (error estándar) para los tipos de concentrado suministrado en el cebo de vacas frisonas: pienso concentrado altamente energético y harina de maíz sobre características y medidas en canal. F-test efecto tipo de concentrado

Medidas en canal	Tipo de concentrado de cebo		F-test
	PCE	HM	
Peso Canal Fría: PCF (kg)	483,75 (10,31)	407,96 (11,07)	***
Peso Canal Caliente: PCC (kg)	493,38 (10,58)	416,07 (11,36)	***
Rendimiento canal (%)	50 (0,00)	47 (0,00)	**
Engrasamiento: ENGR (1-15)	11,75 (0,41)	8,35 (0,44)	***
Conformación: CONFOR (1-15)	7 (0,41)	5,75 (0,45)	n.s.
Índice de compacidad de la canal: ICC	2,99 (0,07)	2,55 (0,075)	***
Espesor Grasa Dorsal con calibre: EGD (mm)	13,71 (1,46)	10,00 (1,46)	+
Peso Lomo sin Hueso (kg)	20,04 (0,59)	16,85 (0,63)	**

Tabla 3. Coeficiente correlación Pearson entre medidas en vivo y canal de vacas frisonas.

		Medidas en vivo		Medidas en canal		
		ECOGR	PS	PCF	ENGR	EGD
Medidas en vivo	PERIM	0,72**	0,86**	0,91***	0,77***	0,73**
	ECOGR		0,75**	0,79***	0,76***	0,85***
Medidas en canal	PS			0,94***	0,83***	0,74**
	PCF				0,89***	0,76**
	ENGR					0,64*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Carballo, J.A. y Moreno, T. 2006. Archivos de Zootecnia, 55, 212:339-350. • C.I.E. 1976. Publication CIE •De Boer, H et al. 1974. Livest Prod Sc 1:151- 164 1974. •MAGRAMA. 2017. Encuestas ganaderas. •Minchin, W. et al, 2009. Meat Sc. 81(1):93-101 •Moreno, T. 2004. Tesis Doctoral USC. •Moreno, T., et al. 2012. Animal 6-10:1634-1641. •Reglamento (CE) N° 1249/2008 Comisión, 10 diciembre de 2008. •Richards MW et al. 1986. J Animal Sci 62:300-306. •SAS Inst.Inc., 2006 Stat.Anal.Syst. Inst.SAS/STAT version 8. SAS Inst.Inc., Cary, NC, USA. •Sawyer, J.E. et al., 2004. J Animal Sci 75:1195-1202.

Agradecimientos: Forma parte de una acción de cooperación AC2018-04 y un proyecto del Grupo Operativo Feader 2018/031B de Consellería de Medio Rural de la Xunta de Galicia.

LIVE AND CARCASS PARAMETERS OF FRIESIAN COWS. EFFECT OF TYPE OF CONCENTRATE

ABSTRACT: In 2017 the PGI 'Galician Cow & Steer' was created, one of its aims is to enhance the economic value of these animals through a feeding period. Adult bovine beef quality comes from animals culled from the reproductive cattle and fattened before been slaughtered. We'd try to look for alternatives which enhance the efficiency of the fattened systems, comparing the type of concentrate most used at the Galician farms, maize flour vs highly energetic concentrate, improving the fat carcass deposition and optimizing the fattened period length. Sixteen Holstein-Friesian culled cows from the dairy experimental herd were used. Two groups with 8 cows/group were randomly distributed considering the CCI of each animal. During the fattened period, controls on the live animals were taken (weights, ultrasound measurements subcutaneous backfat thickness, perimeter chest contour,...). After slaughtering, some measurements were taken on the carcasses. ECOGR and PERIM are two live animal measurements that were showed as a good predictive tool in order to estimate the appropriate moment for slaughtering; providing adequate PCF and ENGR, which commercially provide the more relevant carcasses characteristics. The greater consumption of the highly energetic concentrate promoted a higher fat carcass than cows fattened with maize flour during the same period.

Keywords: dairy cows, culled cows, concentrate, fattened cow.

PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE OVINOS DE PELO EN SISTEMAS SILVOPASTORILES DEL BOSQUE SECO TROPICAL

Pardo, J.A.¹, Guerrero, A.^{2*}, Cediell, C.¹, Gutiérrez, F.¹, Ramírez, K.¹, Castañeda, R.¹

¹ Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad del Tolima. Barrio Santa Helena. Ibagué.

Colombia. ² Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario de

Aragón - IA2, Universidad de Zaragoza-CITA Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

*aguerr@unizar.es

INTRODUCCIÓN

El bosque seco tropical (Bs-T) se caracteriza por presentar una temperatura media anual superior a los 25°C, precipitaciones entre 1.000 y 2.000 mm/año y se sitúan a una altura entre 0 y 1000 msnm (Holdridge, 1971). Estas zona permiten albergar sistemas de producción ovinos y caprinos extensivos bajo condiciones de pastoreo. En ciertas épocas del año la oferta de gramíneas en el Bs-T es escasa y la alimentación de los animales depende en su mayoría del aporte de las especies arbóreas. La inclusión de árboles y arbustos en los sistemas de pastoreo de los animales y sus interacciones componen los sistemas silvopastoriles, los cuales modifican las características productivas, digestibilidad y rendimientos de los animales según las especies incluidas (Boughalmi *et al.*, 2014; Rahman *et al.*, 2015).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los parámetros productivos, rendimiento de la canal y medidas morfométricas en ovinos de pelo bajo diferentes sistemas silvopastoriles del bosque seco tropical.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en la granja experimental "El Recreo" perteneciente a la Universidad del Tolima, ubicada en el Guamo, departamento del Tolima, Colombia. Situada a una altitud de 400 m.s.n.m., con una temperatura media de 28°C y una precipitación promedio anual de 1488 mm, perteneciendo por sus condiciones medioambientales al bosque seco tropical (Holdridge, 2000). La investigación contó con 30 ovinos machos criollos de pelo, los cuales entraron al estudio experimental con un peso vivo promedio de 22 ± 1.1 kg y una edad aproximada de 6 meses. Los animales provenían de un sistema de pastoreo tradicional el cual contaba con unas condiciones ambientales similares a las de la granja experimental. Los animales fueron pesados y desparasitados antes de entrar a los sistemas experimentales, los cuales consistieron en un sistema control (CON) y dos sistemas silvopastoriles (SPL y SPT). El sistema CON: fue un sistema convencional con una pastura instaurada *Dichanthium aristatum* sin presencia de especies arbustivas. El primer arreglo silvopastoril (SPL) fue con la leguminosa *Leucaena leucocephala* con una densidad de siembra de 1.800 arbustos/ha; el segundo sistema (SPT) contó con *Tithonia diversifolia* a una densidad de siembra de 1.200 arbustos/ha. Cada sistema tenía un área de 0.25 hectáreas en la cual se realizó un pastoreo rotacional manejado con cinta eléctrica con 35 días de descanso y 3 días de ocupación. Los animales fueron suplementados diariamente con un alimento concentrado (100 g/día) siguiendo las recomendaciones propuestas por la NRC (2007) para ganado ovino.

Los animales fueron pesados en el inicio de la investigación y posteriormente cada 15 días hasta el término de todo el periodo experimenta que tuvo una duración de 160 días. A partir de esto se determinó la ganancia diaria de peso (GDP), por la diferencia entre el peso vivo inicial (PVI) y el peso vivo (PVF) final de los animales dividido por el número de días del experimento.

Al final del periodo experimental de campo los animales fueron pesados con un previo ayuno de 16 horas y posteriormente transportados al matadero del Fondo ganadero del Tolima S.A ubicado en la ciudad de Ibagué, donde fueron beneficiados de acuerdo con legislación vigente en Colombia.

Posterior al sacrificio, las canales fueron divididas longitudinalmente, (esternón, columna vertebral) originando dos mitades semejantes. El peso de la canal caliente (PCC) se determinó pos-sacrificio de los animales, antes del proceso de refrigeración de las canales. Después del pesaje, las canales se colocaron en la cámara fría con temperatura de 4°C durante 24 horas para después ser pesadas (PCF) y determinar el rendimiento en canal fría. Y pH a la hora 24 Las medidas morfométricas de los animales fueron determinadas según la metodología sugerida por Colomer *et al.* (1988). Todas las variable estudiadas fueron analizadas mediante el programa estadístico SPSS v.22.0. mediante un análisis de varianza, considerando el

tratamiento como efecto fijo y el animal como aleatorio. Las diferencias entre medias fueron determinadas mediante el test de Tukey ($P < 0,050$)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal y como se recoge en la Tabla 1, el peso vivo final ($P < 0.010$) y la ganancia diaria de peso ($P < 0.001$) de los animales varió significativamente según el sistema de producción.

Los animales que habían pastado en sistemas silvopastoriles (SPL y SPT) presentaron un peso vivo final y pesos canales significativamente superiores a los animales que pastaron en sistemas convencionales.

Esta diferencia en los parámetros productivos podría estar influenciado por diversas variables, como lo es la calidad nutricional de la dieta ofertada (Castrejón *et al.*, 2015), atributos nutricionales de la gramínea debido a la fijación de nitrógeno al suelo y aporte de materia orgánica y la formación de microclimas que generan un confort térmico y esto se traduce en mayor ganancia de peso por parte de los animales (Mahjoubi *et al.*, 2018).

Tabla 1: Parámetros productivos, rendimiento canal y medidas morfológicas de ovinos de pelo criollo bajo diferentes sistemas de pastoreo.

Parámetros	Sistemas de Pastoreo			EEM	P- Valor
	CON	SPL	SPT		
<i>n</i>	10	10	10		
Peso vivo inicial, kg	25,22	25,76	24,15	0,90	0,983
Peso vivo final, kg	31,14 b	36,38 a	35,88 a	0,89	0,006
GDP, g	35,66 b	66,08 a	73,57 a	12,22	< 0,001
Peso canal caliente, kg	13,56 b	16,88 a	15,31 a	2,32	0,002
Peso canal fría, kg	13,05 b	16,15 a	15,05 a	2,56	0,004
Rendimiento en canal fría, %	41,14	43,88	42,06	5,43	0,083
<i>Medidas morfométricas canal</i>					
Longitud externa, cm	56,63	58,81	58,94	0,81	0,102
Longitud interna, cm	59,13	57,88	58,56	1,05	0,705
Longitud de pierna, cm	34,63	35,94	35,50	0,60	0,307
Perímetro de la grupa, cm	53,38 b	56,38 a	55,25 a	0,65	0,012
Ancho de grupa, cm	17,75	18,63	18,06	0,38	0,282
Ancho de tórax, cm	21,66	22,46	21,94	0,34	0,271
Profundidad de tórax, cm	35,63	35,56	36,94	0,79	0,396
Índice de compacidad, Kg/cm	0,23 b	0,27 a	0,26 a	0,01	0,003

CON: sistema de pastoreo convencional control; SPL: sistema silvopastoril Leucaena; SPT: sistema silvopastoril Tithonia; EEM: error estándar de la media

En diferentes trabajos se ha mostrado los beneficios de estos sistemas en el desempeño de los animales; Rahman *et al.* (2015) observaron que corderos en pastoreo con inclusión de arbustos de *L. leucocephala* tuvieron una mayor ganancia de peso, digestibilidad y balance de nitrógeno en relación a animales suplementados con pienso comercial. Por otro lado, Boughalmi *et al.* (2014) concluyeron que la carne de corderos criados bajo condiciones de pastoreo, con especies arbustivas mejora la cinética de degradación y perfil de ácidos grasos de la carne.

De la misma manera, el peso de la canal en caliente y frío fue determinado por el peso vivo final de los animales, sin embargo, el rendimiento en canal no fue influenciado por los sistemas por lo tanto no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$), lo que concuerda con los datos publicados para ovinos de pelo de la raza Morada Nova donde animales con peso vivo al sacrificio entre 40 y 44 kg de peso vivo no tuvieron diferencias significativas para el rendimiento en canal (Costa *et al.*, 2011). Por otro lado, en el análisis de medidas morfométricas de la canal, se pudo evidenciar que los sistemas silvopastoriles (SPL y SPT) tienden a mejorar significativamente ($P < 0,05$) el perímetro de la grupa y el índice de compacidad, lo cual es determinado por un mayor peso de la canal (Souza *et al.*, 2016). Índices de compacidad similares fueron reportados para ovinos de pelo en el nordeste de

Brasil, explicando este comportamiento por el bajo grado de conformación que tienen estas canales (Morais *et al.*, 2014).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Boughalmi, A., Araba, A., Chatibi, S., & Yeeseef, S. 2014, *VetAgro*, 18: 87-92 • Castrejón-pineda, F. A., Martínez-pérez, P., Corona, L., Luis, J., Cerdán, V., & Mendoza, G. D, 2015, *Trop Anim Health Prod*, 48: 133–13 • Costa, R., Correia, C., Nunes, A., Ferreira, G., Aldrovandi, C., & Dos Santos, N, 2011, *Rev. Bras. Zootec*, 40(4), 866–871 • Holdridge, L. R., & Grenke, W. C, 1971, *Forest environments in tropical life zones: a pilot study*. • Colomer Rocher, F., Morand-Fehr, P., Kirton, A. H., Delfa Belenguer, R., & Sierra Alfranca, I, 1988, INIA • Rahman, Z., Ali, Y., Talukder, A., & Sumona, M, 2015, *Asian J Med Biol Res* 1: 648-653 • Mahjoubi, E., Yazdi, M. H., Aghaziarati, N., & Noori, G. R, 2018, *J. Anim. Sci.*, 93: 1632–1640 • Morais, D., Jr, D. L., Fernando, F., & Carvalho, R, 2014, *Trop Anim Health Prod*, 46(6): 995–1000 • Souza, D. A., Pereira, E. S., Silva, E. M. C., & Oliveira, R. L, 2016, *Small Rumin Res*, 145: 76-80

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de innovación técnico-científica a la cadena ovino-caprina del departamento del Tolima (INNOVIS).

PRODUCTIVE PARAMETERS AND CHARACTERISTICS OF THE SHEEP HAIR CHANNEL IN SILVOPASTORILES SYSTEMS OF THE TROPICAL DRY FOREST

ABSTRACT: Productive parameters and characteristics of the carcass in hair sheep under different silvopastoral systems of the tropical dry forest were evaluated for 160 days. The study was developed in Guamo (Tolima – Colombia); the treatments studied were two silvopastoral arrangements with the species *Leucaena leucocephala* and *Tithonia diversifolia*, and a conventional system with a pasture *Dichanthium aristatum*. 30 male hair sheep were used, in which were measured daily weight gain (DWG), hot carcass weight (HCW), cold carcass weight (CCW), cold carcass yield (CCY) and morphometric measurements of the carcass. It was found that DWG ($P < 0.001$) of the animals varied significantly according to the production system. The animals that had grazed in silvopastoral systems (SPL and SPT) had a final live weight and weights carcasses significantly higher than the animals that grazed in conventional systems. The HCW and CCW were determined by the final live weight of the animals, however, the CCY was not influenced by the silvopastoral systems. Meanwhile, in the measurement of the morphometry of the carcass it was found that the SPL and SPT systems significantly improve ($P < 0.05$) the perimeter of the rump and the index of compactness of the carcass.

Keywords: dressing percentage, gain weight, morphometric measurements

CALIDAD DE LA CANAL Y DE PIEZAS NOBLES EN CERDOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE ALBERJONES (*Vicia narbonensis*)

Gómez-Izquierdo^{1*}, E., Ciruelos¹, J.J., Tomás¹, C., Guillamón², E., Varela³, A., Martín-Pedrosa³, M., López-Nuez⁴, P., Latorre⁵, M.A. y de Mercado¹, E.

¹ Centro de Pruebas de Porcino del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Consejería de Agricultura y Ganadería. Ctra. Riaza a Toro s/n, Hontalbilla, 40353, Segovia. ² Centro para la Calidad de los Alimentos, INIA, Campus Universitario Duques de Soria, 42004, Soria. ³ Departamento de Tecnología de los Alimentos, INIA, Ctra. A Coruña km 7,5, 28040, Madrid. ⁴ Copiso Soria Sociedad Cooperativa, Av. de Valladolid 105, 42005, Soria. ⁵ Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Avda. Miguel Servet, 177, 50013, Zaragoza. *gomizqem@itacyl.es

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas se caracterizan por presentar niveles elevados de proteína y diferentes factores antinutritivos (FAN) que pueden condicionar la disponibilidad de nutrientes o directamente la palatabilidad del pienso (Gómez Izquierdo et al., 2017). Se hace imprescindible, pues, conocer qué tipos de FAN y en qué cantidad se encuentran en las legumbres de interés para la nutrición porcina (Goyoaga, 2005; Muzquiz, 2012).

El alberjón (*Vicia narbonensis*; Alb) es una leguminosa autóctona de la cuenca mediterránea que cobra protagonismo agrícola al estar considerado desde 2017 en los pagos acoplados de la UE (Real Decreto 1075/2014). Desde el punto de vista agronómico es un cultivo productivo y muy resistente a condiciones ambientales adversas, con porcentajes altos de proteína, que pueden llegar al 30%, y de aminoácidos azufrados (Tate y Enneking, 2006; Kökten et al., 2010). Contiene un FAN limitante para su inclusión en dietas de porcino, el dipéptido γ -Glutamyl-S-Ethenyl-Cysteine (GEC), presente en los cotiledones, que transmite un sabor azufrado al pienso afectando negativamente a la palatabilidad (Enneking, 1995; Gómez Izquierdo et al., 2018). Hay muy pocas referencias de su utilización, y además difieren cuando indican qué niveles son los tolerables para evitar pérdidas de rendimiento debido a las distintas cantidades de GEC presente en cada variedad, con rangos de 0,4 a 3,8%, influyendo las condiciones del cultivo y la composición en azufre del suelo (Arias Royo et al., 2006; de Mercado et al., 2013).

El objetivo del estudio fue la valoración del rendimiento de canal y piezas nobles (jamón, paleta y chuletero) según el porcentaje de Alb (0%, 5%, 15%, 25%) y los niveles de GEC en el pienso de cerdos grasos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 192 cerdos (Duroc*LR-LW); machos castrados) que iniciaron el ensayo con 61 días de edad (20,9 \pm 1,39 kg) finalizando con 171 días de edad (114 \pm 5,49 kg). Fueron alojados en cuatro salas, provistas con 12 departamentos por sala y cuatro cerdos en cada una, con cama de paja, tolva tipo holandés y un bebedero de chupete. Las condiciones ambientales se controlaron automáticamente durante todo el periodo experimental, siendo la temperatura de 20 \pm 2 °C y la humedad relativa de 55 \pm 20%. El diseño fue en bloques completos al azar, con cuatro tratamientos según el porcentaje de inclusión de Alb en el pienso: 0%, 5%, 15%, 25%; con cuatro bloques, ocho réplicas por tratamiento y cuatro cerdos por réplica (1,40 m² por cerdo). Los piensos (Tabla 1) fueron isoproteicos e isoenergéticos y se administraron *ad libitum* en gránulo de 4 mm. La cantidad de GEC se valoró con la técnica de Sánchez-Vioque et al. (2011) siendo de 1,52% en la variedad utilizada.

El sacrificio se llevó a cabo en un matadero industrial (INCARLOPSA, Cuenca), con un ayuno de 12 horas, siendo aturdidos en túnel de CO₂ (85% durante 45"). La canal se pesó en frío y el despiece se realizó a las 24 h pesando, una vez arreglados, jamones, paletas y lomos de la media canal izquierda.

Los datos se analizaron mediante los procedimientos GLM y REG del SAS® 9.1 (2004), siendo el pienso el efecto principal. Se realizó un análisis de varianza con el siguiente modelo: $Y_{ij} = \mu + \text{Pienso}_i + \varepsilon_{ij}$, donde: Y: variable productiva (peso de sacrificio, datos de canal y de piezas nobles), μ : media general y ε : error residual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La alimentación con 15 y 25% de alberjones redujo significativamente el peso de sacrificio, el peso y rendimiento de canal y el peso de jamones, paletas y chuleteros (Tabla 2) debido a un menor consumo de pienso. Sin embargo, el rendimiento de jamones y chuleteros fue mayor con estas mismas dietas y menor en el caso de las paletas ($P < 0,05$).

Tabla 1. Ingredientes principales y análisis calculado de las dietas experimentales (%)

Ingredientes	Estárter: 60-82 d				Crecimiento: 83-110 d				Cebo: 111-152 d				Acabado: 153-171 d			
	0%	5%	15%	25%	0%	5%	15%	25%	0%	5%	15%	25%	0%	5%	15%	25%
Soja 47	12,5	10,7	8,2	6,2	15,5	13,7	10,3	8,3	10,9	9,2	5,7	2,3	8,7	6,9	3,3	0,2
Alberjón		5,0	15,0	25,0		5,0	15,0	25,0		5,0	15,0	25,0		5,0	15,0	25,0
Cebada	45,9	43,0	35,9	28,2	52,6	49,7	43,4	35,6	57,8	54,7	48,6	42,3	60,6	57,6	51,6	44,8
Trigo	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
SE ¹	5	5	5	5												
Otros ¹	12,6	12,3	11,9	11,6	7,9	7,6	7,3	7,1	7,3	7,1	6,7	6,4	6,7	6,5	6,1	6
Análisis calculado																
Cenizas	6,5	5,5	5,4	5,8	4,23	4,74	5,26	4,51	3,59	3,69	4,37	3,67	4,21	3,67	3,78	3,60
PB	18,9	18,1	18	18,3	14,8	14,8	14,7	14,9	14,5	14,3	14,4	14,1	13,0	12,8	12,9	12,8
GB	5,3	5,2	5,5	5,2	4,80	5,20	4,15	5,00	4,43	4,79	4,67	4,29	4,83	4,58	4,68	4,62
EN	2,45	2,44	2,44	2,45	2,44	2,45	2,44	2,45	2,45	2,44	2,45	2,44	2,44	2,44	2,44	2,45

¹SE: soja extrusionada. Otros: grasa mezcla (3,2%), compuestos vitamínico-minerales y aminoácidos sintéticos. PB: proteína bruta. GB: grasa bruta. EN: energía neta (Mcal/kg).

Tabla 2. Efecto de niveles crecientes de alberjón en la dieta sobre los rendimientos de canal y piezas nobles

Variables	Porcentaje de alberjón				EEM ^a	P-valor ^b
	0%	5%	15%	25%		
Peso sacrificio, kg	123,3 ^a	127,6 ^a	112,4 ^b	93,4 ^c	2,43	< 0,01
Peso de canal, kg	93,0 ^a	96,6 ^a	83,9 ^b	68,0 ^c	2,04	< 0,01
Canal %	75,45 ^a	75,73 ^a	74,65 ^b	72,79 ^c	0,26	< 0,01
Peso de jamón, kg	12,45 ^a	12,88 ^a	11,38 ^b	9,52 ^c	0,24	< 0,01
Peso de paleta, kg	6,99 ^a	7,27 ^a	6,27 ^b	5,03 ^c	0,16	< 0,01
Peso de chuletero, kg	5,67 ^a	5,89 ^a	5,12 ^b	4,18 ^c	0,12	< 0,01
Jamones, %	26,78 ^c	26,66 ^c	27,15 ^b	27,99 ^a	0,1	< 0,01
Paletas, %	15,02 ^a	15,04 ^a	14,94 ^b	14,77 ^c	0,02	< 0,01
Chuleteros, %	12,19 ^c	12,18 ^c	12,23 ^b	12,29 ^a	0,01	< 0,01

^a EEM: error estándar de la media (n= 48). ^b P: probabilidad. Filas con distintos superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Cisneros et al. (1996) y Latorre et al. (2009) también observaron una relación proporcional del peso de sacrificio con el rendimiento de canal y el peso del jamón. Sin embargo, en trabajos previos, Latorre et al. (2004) no encontraron un efecto significativo del peso de la canal con el porcentaje de paletas y solo una tendencia a disminuir el porcentaje de jamón al aumentar el peso de la canal. Por otro lado, Cisneros et al. (1996), Latorre et al. (2008) y Peinado et al. (2011) detectaron una reducción en el porcentaje de jamones y paletas al aumentar el peso

de la canal. En nuestro estudio, el porcentaje de jamones disminuyó con el peso de la canal, aumentando los de paletas; este resultado puede deberse a que las pérdidas por los recortes en las paletas de las canales más grandes (5 y 0% de alberjón) fueron más elevadas que en las paletas de las canales más pequeñas, algo relacionado con la tecnología de curación y comercialización final de esta pieza noble.

Podemos concluir que la inclusión en la alimentación de cerdos grasos del 5% de alberjón con 1,52% de GEC (*Vicia narbonensis*) logró un peso de sacrificio, calidad de la canal y peso de piezas nobles similares a una dieta sin alberjón, mientras que porcentajes del 15 y 25 % los empeoraron.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Arias-Royo et al. 2006. Grain Legumes No. 47–3rd quarter 2006. • Cisneros et al., 1996. J Anim. Sci. 74: 925-933. • de Mercado et al., 2013. AIDA (2013), XV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I, 171-173. • Enneking, D. 1995. PhD thesis, University of Adelaide. • Gómez-Izquierdo et al., 2017. ITEA Vol. 113 (2), 138-157. • Gómez-Izquierdo et al., 2018. ITEA, Vol. 114 (3), 243-258. • Goyoaga, 2005. TD-UCM. • Kökten et al., 2010. Grasas y Aceites 61: 404-408. • Latorre et al., 2004. J. Anim. Sci. 82: 526-533. • Latorre et al., 2008. J. Anim. Sci. 86: 1933-1942. • Latorre et al., 2009. • Muzquiz, 2012. IV Jornadas de la AEL Pontevedra, 6 y 7 de junio, 2012. • Peinado et al., 2011. Anim. 5: 1131-1140. • Sánchez-Vioque et al. 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 165: 125-130. • SAS Institute, 2004. • Tate & Enneking, 2006. Grain Legumes No. 47 – 3rd quarter 2006. • Real Decreto 1075/2014. Medidas de apoyo al sector de los cultivos proteicos.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Dr. Marcelino de los Mozos del Centro de Investigación Agraria de Albaladejito (Cuenca), la valiosa colaboración y asistencia técnica en los análisis de GEC y a la Dra. Ana de Coca (Unión Regional de Cooperativas Agrarias de Castilla y León, Valladolid) por la coordinación de los distintos grupos de investigación. Este trabajo ha sido financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (IDI-2010-0284) y la Agencia de Inversiones y Servicios de Castilla y León (04-09-SO-0013).

CARCASS AND MAIN LEAN CUTS QUALITY IN PIGS FEEDED WITH DIFFERENTS LEVELS OF NARBON VETCH (*Vicia narbonensis*)

ABSTRACT: A total of one hundred ninety-two pigs (barrows) with 171 days of age (114 ± 5.49 kg) were used to assess carcass and main lean cuts quality (ham, shoulder and loin chops) in fatty pigs feeding with 4 diets with differents levels of narbon vetch (NV) and your antinutritional factor the dipeptide γ Glutamyl-S-Ethenyl-Cysteine (GEC). The design was in completes bloks, randomized with four treatments: 0%, 5%, 15%, 25% of NV in the diets; there were 48 replicates in each diet with the same initial average weight. After fasting for 12 hours, pigs were stunned in carbon dioxid chamber (80% for 45"), and processed in an industrial slaughterhouse. Carcass weight was individually recorded and used to calculate weight and percentage of ham, shoulder and loin chops.

Feeding with 15 and 25% of NV worsened significantly the slaughter weight, the weight and yield of the carcass and the weight of hams, shoulders and loin chops due to a lower consumption of feed. The percentage of hams decreased with the carcasse weight, increasing those of shoulders; possibly due to the cuts, larger in shoulders of the large carcasses (diets with 5 and 0% of NV; $P < 0.05$).

We can conclude that the inclusion in the diet of fatty pigs of 5% of NV (*Vicia narbonensis*) with 1.52% of GEC achieved a sacrifice weight, carcass quality and weight of main lean cuts similar to a diet without NV, while percentages of 15 and 25% made them worse.

Keywords: fatty pig, carcass, narbon vetch, antinutritional factors.

INFLUENCIA DE LA EDAD AL SACRIFICIO EN LA APTITUD TECNOLÓGICA DEL M. *LONGISSIMUS DORSI* DE CERDOS IBÉRICOS EN MONTANERA.

Ortiz, A.¹, García-Torres, S.¹ Cabeza de Vaca, M.¹ y Tejerina, D.¹

¹Área de Calidad de Carne, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX-La Orden). Junta de Extremadura, Guadajira, Badajoz, Spain.

E-mail: alberto.ortiz@juntaex.es

INTRODUCCIÓN

La raza Ibérica ha estado ligada tradicionalmente a sistemas extensivos, con largos ciclos productivos y elevados pesos al sacrificio. Actualmente, la mayoría de cerdos ibéricos sacrificados en España son procedentes del cruce con Duroc (Juárez *et al.*, 2009), por la posibilidad de reducir su ciclo productivo y mejorar el rendimiento de la canal, logrando productos más económicos al mismo tiempo que se mantienen la adaptabilidad al medio y los parámetros de calidad propios de la raza Ibérica (Bonneau y Lebret, 2010). A pesar de la relevancia de la edad al sacrificio en los parámetros de calidad (Bonneau y Lebret, 2010), existen muy pocos estudios al respecto, y para nuestro conocimiento ninguno en el rango de edad comercial (RD 4/2014) para el cruce de Ibérico x Duroc. Aunque suele ser aceptado un incremento en la calidad con la edad (Daza *et al.*, 2007), la prolongación del ciclo productivo podría tener unas consecuencias negativas en la textura y el rendimiento de la canal, además de mayores costes de producción (Bailey y Light, 1989; Mayoral *et al.*, 1999). Por otra parte, la mayoría de estudios relacionados con la calidad en Ibérico se han centrado en el jamón. Sin embargo, el lomo es una pieza con alta aceptabilidad debido a sus características sensoriales tanto en fresco como en curado, y sobre la que los estudios de calidad son escasos. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue la evaluación de la influencia de la edad al sacrificio en la aptitud tecnológica del m. *Longissimus dorsi* en fresco en cerdos ibéricos cruzados manteniendo constante el peso al sacrificio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 45 cerdos Ibéricos x Duroc (50%) castrados, distribuidos en tres lotes con el mismo peso al comienzo de la montanera. Tras el sacrificio, con un peso medio de $156,9 \pm 5.4$ kg y a los 14, 16 y 18 meses de edad respectivamente, se retiró el m. *Longissimus dorsi* para la determinación de su aptitud tecnológica en fresco. El contenido en Materia Seca (MS) fue obtenido por (AOAC, 2003) y la Capacidad de Retención de Agua (CRA), de acuerdo al método propuesto por Irie y Swatland (1992). Las Pérdidas por Cocinado según Combes *et al.*, (2003). Para la determinación de la textura se utilizó el texturómetro TA XT-2i Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, U.K.). El Análisis de Perfil de Textura (TPA) se realizó con dos porcentajes de deformación (20 y 80%), para determinar la contribución de la estructura miofibrilar y la intervención del colágeno respectivamente (Lepetit y Culioli, 1994). El test de Warner–Bratzler (W-B) se realizó cuidando que las fibras musculares tuvieran una disposición perpendicular a la cuchilla Warner–Bratzler (HDP/BS). 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 versión 20.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede observar en la tabla 1, no se encontraron diferencias significativas en MS y CRA en función de la edad al sacrificio. Algunos autores han encontrado un

incremento en MS asociado a la edad (Lorenzo *et al.*, 2014), pero en un rango inferior al estudiado. En nuestro caso, la falta de diferencias podría deberse al menor ratio de crecimiento conforme aumenta la edad del animal. Respecto a la CRA algunos autores encontraron un aumento progresivo con la edad (Mayoral *et al.* 1999), mientras que otros no mostraron diferencias (Leach *et al.*, 1996). En cualquier caso, la CRA junto con las pérdidas por cocinado dependen de la composición del músculo (Gandemer *et al.*, 1990), especialmente de la Grasa Intramuscular (GIM), donde no se encontraron diferencias (datos no mostrados) entre los lotes estudiados; así como de otros parámetros tales como la composición en los diferentes tipos de fibras musculares (Bee *et al.*, 1999), estructura miofibrilar y tejido conectivo (Monin, 1991).

Tabla 1. Efecto de la edad al sacrificio en materia seca, capacidad de retención de agua y pérdida de cocción en *m. Longissimus dorsi* de cerdos de *Ib x Duroc*.

	14 meses	16 meses	18 meses	EEM ¹	sig.
Materia Seca	31,05	32,00	31,01	0,316	ns
Capacidad Retención Agua	26,77	26,71	26,47	0,277	ns
Pérdidas por cocinado	21,64	22,29	20,79	0,529	ns

¹EEM, Error Standard de la Media. Los valores son expresados como g/100 g carne fresca. Sig: P, niveles de significación ns (no significativo, $p > 0.05$).

Los resultados del TPA, así como el ensayo W-B se muestran en la tabla 2. Ninguna diferencia significativa fue encontrada para los parámetros determinados a partir del TPA-20, lo que implica que la estructura miofibrilar permaneció constante en el rango de edad estudiado.

Tabla 2. Efecto de la edad al sacrificio en las propiedades reológicas del *m. Longissimus dorsi* de cerdos de *Ib x Duroc*.

	14 meses	16 meses	18 meses	EEM ¹	Sig.
Análisis de Perfil de Textura (TPA 20% deformación)					
Dureza (kg/cm ²)	0,22	0,27	0,24	0,011	ns
Elasticidad (cm)	0,77	0,79	0,83	0,016	ns
Cohesividad	0,67	0,69	0,70	0,008	ns
Gomosidad (kg cm s ²)	0,15	0,17	0,17	0,007	ns
Masticabilidad (kg cm s)	0,13	0,14	0,15	0,005	ns
Resistencia	0,47	0,51	0,50	0,009	ns
Análisis de Perfil de Textura (TPA 80 % deformación)					
Dureza (kg/cm ²)	7,91	8,49	8,98	0,279	ns
Adhesividad (g s)	-0,66a	-0,43b	-0,39b	0,044	***
Elasticidad (cm)	0,48	0,50	0,50	0,014	ns
Cohesividad	0,38	0,38	0,40	0,013	ns
Gomosidad (kg cm s ²)	2,99	3,50	3,31	0,200	ns
Masticabilidad (kg cm s ²)	1,44	1,80	1,58	0,113	ns
Resistencia	0,22	0,21	0,22	0,007	ns
Warner-Braztler Fuerza Máxima (kg/cm ²)	9,64	10,02	8,81	0,564	ns

¹EEM, Error Standard de la Media. Diferentes superíndices en una misma fila indica diferencias significativas ($p \leq 0.05$) debidas a la edad. Sig: P, niveles de significación dados por ***($p \leq 0.001$), **($p \leq 0.01$), *($p \leq 0.05$), ns (no significativo, $p > 0.05$).

Esto podría ser atribuido a la falta de diferencias en dieta y ejercicio de los animales así como en factores físico-químicos como la CRA y GIM (Tejerina 2010). Igualmente, la edad al sacrificio no afectó a ninguno de los parámetros ligados al ensayo de TPA-80, a excepción de la adhesividad, la cual fue mayor en los animales de menor edad. Aunque existen estudios que ponen de manifiesto la estrecha relación entre edad y dureza de la carne por el aumento en colágeno (Cross *et al.*, 1984) y grado de entrecruzamiento intramolecular de éste, (McCormick, 1994), en nuestro caso la falta de diferencias podría ser explicada por el crecimiento compensatorio de los animales de mayor edad, lo cual produce un aumento en la terneza (Elsbernd *et al.*, 2015). La fuerza de corte máxima de W-B tampoco se vio afectada por la edad. Esto podría atribuirse a la falta de diferencias en alimentación, especialmente en la cantidad y tipo de grasa (Daza y Buxadé, 2000; Tejerina *et al.*, 2012), y parámetros físico-químicos como la CRA (Rosenvold y Andersen, 2003; Tejerina *et al.*, 2012) y la estructura miofibrilar (Koochmarai, 1994; Tejerina *et al.*, 2012). Con todo ello, los resultados del presente estudio sugieren que la edad al sacrificio en el rango estudiado (12, 14 y 16 meses) no produce modificaciones en la aptitud tecnológica del m. *Longissimus dorsi* en el cerdo ibérico cruzado con Duroc (50%), pudiéndose por tanto reducir el ciclo productivo del animal sin un detrimento en la calidad de los parámetros estudiados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC, 2003. (17th ed.) • Bailey, A.J., y Light, N.D., 1989. London: Elsevier Applied Science • Bee, G., *et al.*, 1999. Journal Animal Science 77, 2104-2111 • Bonneau, M. y Leuret, B., 2010. Meat Science • Combes, S., *et al.*, 2003. Meat Science, 66, 91 - 96 • Cross, H.R., *et al.*, 1984. Journal Animal Science, 58, 1358-1365 • Daza, A. y Buxadé, C., 2000. Madrid. Mundi-Prensa, 239-257 • Daza, A., *et al.*, 2007. Animal Feed Science and Technology 139 (1–2):81–91 • Elsbernd, A.J., *et al.*, 2015. Journal Animal Science, 93, 5702–5710 • Gandemer, G., *et al.*, 1990. J. Rech. Porcine France 22, 101-110 • Irie, M. y Swatland. H.J. 1992. Food Research International, 25, 21 –30 • Juárez, M., *et al.*, 2009. Meat Science, 36, 93-104 • Leach, L.M., *et al.*, 1996. Journal Animal Science, 74, 934-943 • Lepetit, J. y Culioli, J., 1994. Meat Science, 36, 203-237 • Lorenzo, J.M., *et al.*, 2014. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal, 141–43 • Mayoral, A. *et al.*, 1999. Meat Science • McCormick, R.J., 1994. Meat Science, 36(1–2), 79–91 • Rosenvold, K. y Andersen, H.J., 2003. Meat Science, 64, 3, 219-237 • Monin, G., 1991. INRA Producción Animal, 4,151–160 • Tejerina, D., 2010. Tesis doctoral • Tejerina, D., *et al.*, 2012. Livestock Science

Agradecimientos: El presente trabajo se ha financiado con el Proyecto **INIA RTA2015-00002-C04-01**. Nuestro agradecimiento a Ibercom-Ibérico Comercialización y personal del laboratorio del Área de Calidad de Carne. Alberto Ortiz Llerena agradece a la Junta de Extremadura la ayuda predoctoral con expediente: **PD16057**.

INFLUENCE OF AGE AT SLAUGHTER ON THE TECHNOLOGICAL APTITUDE OF FRESH M. *LONGISSIMUS DORSI* OF IBERIAN PIGS UNDER FREE RANGE CONDITIONS.

ABSTRACT: A study about technological aptitude in free range iberian pigs crossed with Duroc was carried out to check the influence of age at slaughter. Three batches with 14, 16 and 18 months were established, and meat quality determinations were performed on m. *Longissimus dorsi*. No differences were found. It can be concluded that the Iberian x Duroc pigs cycle might be shortened without a detriment in technological aptitude.

Keywords: *Longissimus dorsi*, Iberian crossbreed, slaughter age, meat quality

EFECTO DE LA RAZA Y DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOMO DE CERDO BÍSARO CON Y SIN CASTAÑA VS COMERCIAL

Rodrigues^{1,2}, S., Oliveira², I., Vasconcelos², L., Pereira², E. y Teixeira^{1,2}, A.

¹CIMO. ² Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal; teixeira@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

El mercado de consumo de productos de salchichería, principalmente vinculados a marcas de calidad, definidas en función de la raza y del régimen alimenticio que proporcionen una diferenciación frente a productos más globalizados, es cada vez más exigente y competitivo. La producción de cerdo, asociada a la recuperación de los sistemas de porcicultura tradicionales, ha ganado gran relevancia en los últimos tiempos, principalmente dada la calidad de la carne producida. La carne de cerdo es tradicionalmente de las más consumidas por los portugueses. La raza Bísara es una raza de cerdos local no mejorada que ha sobrevivido durante los últimos años debido a una demanda cada vez mayor de productos ibéricos y con marcas de calidad como las denominaciones de origen protegida.

Los consumidores aceptan o rechazan los alimentos según las sensaciones que tienen cuando observan o ingieren esos productos, evaluando así su calidad sensorial. Son estas percepciones las que influyen las decisiones de los consumidores.

El objetivo de este trabajo es la caracterización sensorial por panel de probadores de carne de lomo de cerdo Bísaro. Se pretende verificar la existencia de diferencias en las características sensoriales de lomo de cerdo Bísaro con diferentes alimentaciones durante el acabado y lomo de cerdo comercial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos se obtuvieron a partir de lomos de cerdo Bísaro alimentado, en la fase de acabado, con castaña, lomos de cerdo Bísaro con acabado tradicional sin castaña y lomos de cerdo comercial adquirido en una superficie comercial local. Muestras de esos lomos se prepararon, debidamente identificadas y envueltas en papel de aluminio para tratamiento térmico (cocedura) sin cualquier tipo de condimentos hasta llegar a los 80°C en el centro térmico. Después de la confección de las muestras de los lomos en estudio se partieron en porciones de cerca de 2 cm de lado para ser evaluadas por un panel de probadores cualificado y entrenado en productos cármicos del Laboratorio de Análisis Sensorial de la *Escola Superior Agrária* del Instituto Politécnico de Braganza (Portugal).

Se realizaron dos sesiones de prueba, en cada sesión los probadores probaron 3 muestras de cada tipo, haciendo un total de 6 muestras de cada tipo evaluadas por cada uno de los 8 probadores que participaron en el estudio.

Las pruebas siguieron las normas portuguesas, particularmente la NP-ISO-8586-1 (2001). Las muestras estaban envueltas en papel de aluminio y debidamente codificadas con códigos de 3 números y suministradas a los probadores una a una. Para la evaluación los probadores rellenaban una ficha enviada por e-mail usando Google Docs.

Los atributos sensoriales evaluados son el color, la intensidad del olor, el brillo, el veteado o marmoreo, el color de la grasa, la dureza, la succulencia, la masticabilidad, la intensidad del flavor y la persistencia del flavor en escalas de 1 a 7 pontos, donde 1 representa el mínimo o ausencia de sensación y 7 el máximo o valor excesivo.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa XLStat, un addin de Microsoft Office Excel. Los procedimientos utilizados fueron la caracterización de los productos y el Análisis Procrusteano Generalizado que reduce al mínimo las diferencias entre probadores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestra el poder discriminatorio (valores del test y p-valores) de los diversos atributos sensoriales y las medias ajustadas por producto. Se verifica que 7 de los 10 atributos utilizados para evaluar la carne de cerdo Bísaro acabado con castaña y sin castaña y cerdo comercial presentan un poder discriminatorio significativo. El atributo más discriminatorio es el color, después la succulencia, la masticabilidad, la dureza, la intensidad del olor, el color de la grasa, y el veteado. Los lomos de BSC presentan mayor valor medio de color, masticabilidad, dureza y color de la grasa. Los lomos de los cerdos BCC tienen el mayor valor de succulencia,

intensidad de olor y veteado y el menor de masticabilidad y dureza. Por otro lado, el cerdo comercial tiene el menor valor de color suculencia y veteado.

En la Figura 1 aparece el biplot de la configuración consenso donde se observan las correlaciones entre los atributos sensoriales y los factores F1 y F2 del Análisis de Procrustes Generalizado y las coordenadas de los diferentes tipos de carne en estudio. Toda la variabilidad de los datos se explica por los dos factores, F1 explica 56% y F2 44% de la variabilidad total. Atendiendo a la posición de los tipos de carne y la dirección (correlación) de los atributos sensoriales relativamente a los factores principales podemos decir que el lomo de cerdo Bísaro acabado con castaña es el que presenta mayor valor de intensidad de olor, y también veteado, suculencia y brillo, de acuerdo con lo que se había observado anteriormente. El color de la grasa es el que más se destaca en el lomo de cerdo acabado tradicionalmente sin castaña. Y el lomo de cerdo comercial es el que presenta menor valor de todos los atributos. Se verifica un consenso bien marcado entre los probadores que así distinguen los diferentes tipos de carne, como se puede observar en la Figura 2 donde aparece la configuración consenso por objeto.

Tabla 1. Poder discriminatorio (valores del teste y p-valores) de los diversos atributos sensoriales. Medias ajustadas por producto.

Descriptores	Valores-test	p-valores	BSC	COM	BCC
Color	5,862	0,000	3,429a	2,214b	2,691
Suculencia	3,007	0,001	2,520	2,228b	2,767a
Masticabilidad	2,675	0,004	3,625a	3,521	3,115b
Dureza	2,672	0,004	4,071a	3,774	3,442b
Intensidad del Olor	2,289	0,011	3,541	3,511	3,930a
Color de la grasa	2,245	0,012	3,082a	2,537	2,574
Veteado	1,781	0,037	2,002	1,867b	2,161a
Persistencia del Flavor	0,708	0,239	3,625	3,417	3,482
Intensidad del Flavor	0,606	0,272	3,728	3,635	3,526
Brillo	0,441	0,330	2,822	2,651	2,926

BSC – Bísaro sin castaña, COM – comercial, BCC – Bísaro con castaña.

a – media significativamente superior, b – media significativamente inferior.

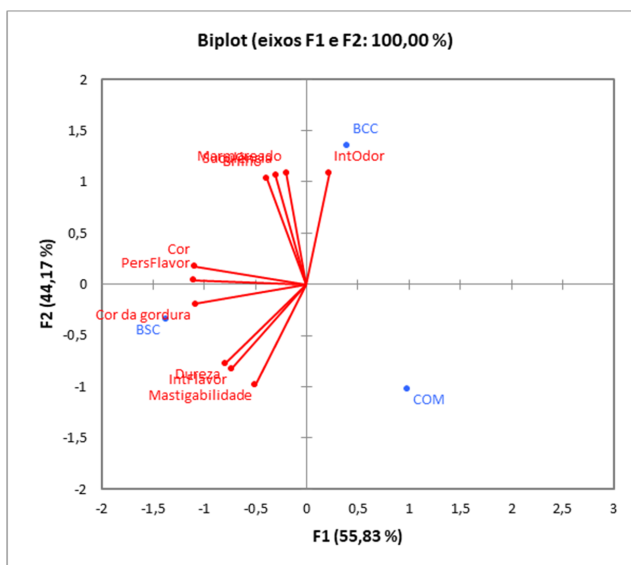


Figura 1. Configuración consenso: representación conjunta de la correlación entre los atributos sensoriales y F1 y F2; y coordenadas de los tipos de carne en análisis.

BSC – Bísaro sin castaña, COM – comercial, BCC – Bísaro con castaña.

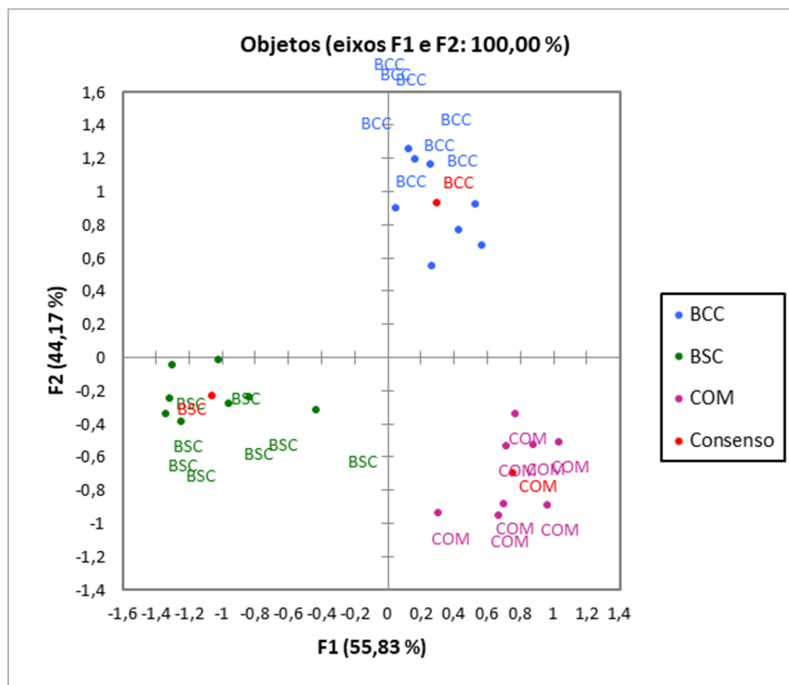


Figura 2. Configuración consenso por objeto

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NP-ISO-8586-1. (2001). Norma Portuguesa ISO 8586-1.

Agradecimientos: Agradecemos la contribución para la realización de este trabajo al equipo del Laboratorio de Tecnología y Calidad de la Canal y de la Carne y al Panel de Probadores Cualificado en Productos Cárnicos del Laboratorio de Análisis Sensorial, ambos de la *Escola Superior Agrária* del Instituto Politécnico de Braganza (Portugal).

BREED AND FEEDING EFFECTS ON THE SENSORY CHARACTERISTICS OF PORK LOIN: BISARO WITH AND WITHOUT CHESTNUT VS COMERCIAL

ABSTRACT: This work aimed to evaluate the sensory characteristics of Bisaro pork loin fed with and without chestnut and commercial pork. Samples of each type of meat were duly identified and cooked in a conventional oven until it reached 80°C in the thermal center. Then pieces of 2 cm of side, wrapped in aluminum foil and duly codified, were cut. Each sample was supplied to the elements that constituted the taste panel. Each panelist analyzed in two sessions a total of 6 samples of each type of meat. The results indicated that the panelists were able to distinguish the different types of meat, with color being the most discriminating attribute. The panelists identified the pork loin with chestnut with the highest odor intensity and the pork without chestnut with a less clear fat color. The commercial pork loin was the one that presented the lowest value of all the sensory attributes under study.

Keywords: Breed, feeding, pork loin, sensory characteristics

EFFECTO DE LA GENÉTICA Y CONTENIDO DE MAGRO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y COMPUESTOS VOLÁTILES DEL LOMO DE CERDO ECOLÓGICO

Argemí¹, I., Villalba¹, D., Tor, M.¹, Pérez-Santaescolástica, C.², Purriños, L.², Lorenzo, J.M.², y Álvarez-Rodríguez¹, J.

¹Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Lleida.

²Centro Tecnológico de la Carne de Galicia, Rúa Galicia N.º 4, Parque Tecnológico de Galicia, San Cibrán das Viñas, 32900 Ourense, Spain
immaargemi@gmail.com

INTRODUCCIÓN

En ganadería ecológica, la formulación de dietas con grasa animal (ricas en ácidos grasos saturados; AGS) procedente del mismo sistema productivo se encuentra limitada y es necesario utilizar tortas de oleaginosos procedentes de extracción mecánica (presión) en vez de química (disolventes), incrementándose determinados ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). Un alto contenido de grasa intramuscular (IMF) mejora las características organolépticas de los productos de la carne de cerdo (Fonseca et al., 2015). La raza Duroc presenta un alto grado de infiltración de grasa, en comparación a otras razas más magras, como Pietrain. La calidad de la carne cocinada y su atractivo para los consumidores son, en gran parte, atribuibles a la palatabilidad, que se definiría como una suma de sensaciones gustativas y olfativas, las cuales se ven notablemente afectadas por la materia prima (raza, dieta, sexo, edad y otros). Durante el cocinado se generan una gran diversidad de compuestos volátiles (CV) que pertenecen a diversas clases químicas: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres y otros compuestos nitrogenados o azufrados (Kosowska et al., 2017). El objetivo del presente trabajo fue identificar los principales ácidos grasos (AG), CV y factores que afectan a sus cambios en lomo de cerdo ecológico de dos cruzamientos genéticos diferentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 48 cerdos de dos tipos genéticos procedentes de 12 madres: 26 animales eran Pietrain x (Landrace x Large White) (Pi x (LD x LW)) y 22 animales eran Duroc x (Gascon x Duroc) (Du x (Gc x Du)). La mitad de los animales eran hembras y la otra mitad eran castrados. Los cerdos se sacrificaron con 105 kg (Pi x (LD x LW)) o 90 kg de peso (Du x (Gc x Du)) para alcanzar un contenido de magro similar (alrededor de 60% en ambos tipos genéticos). En total, 32 canales (3 cerdos/camada) y carne de lomo de 24 cerdos (2 cerdos/camada) fueron muestreados. Todos los cerdos tenían el mismo pienso *ad libitum* (14% proteína bruta, 3,7% extracto etéreo, 0,7% lisina y 12,7 MJ energía metabolizable/kg), con una composición en AG de: 19,9% AGS, 18,9% monoinsaturados (AGMI), 50,6% AGPI n-6 y 5,6% AGPI n-3. Los cerdos de los dos tipos genéticos se criaron conjuntamente en tres salas de suelo firme con paja y patio de ejercicio (espacio $\geq 2,3\text{m}^2/\text{animal}$). Se sacrificaron por lotes, en 5 días, en un matadero comercial (Escorxador Frigorífic d'Avinyó, S.A., Barcelona), situado a 68 km de distancia, y permanecieron en espera de 3-4 h. El aturdimiento se hizo con CO₂ (87% concentración). Las canales se clasificaron mediante un instrumento autorizado (Reglamento CE 1249/2008) de visión artificial (VCS 2000), en dos categorías (<60% y >60% magro), homogéneas para ambos tipos genéticos. Se retiró el lomo, por procedimiento estándar de matadero. Después, se recogió una muestra de 10cm de la zona caudal de *Longissimus lumborum* (500g aproximadamente), conservado durante la noche en bolsa de polietileno y refrigeración a 4°C en oscuridad. Un día *post-mortem* (24h) una parte de *L. lumborum* se cortó en dos trozos (1 cm de grosor, ~100 g). La primera muestra sirvió para determinar el contenido de grasa intramuscular (IMF) y la composición de AG en carne cruda, liofilizada y congelada a -20°C. Con la segunda se determinó los CV de carne madurada 8 días al vacío y cocinada (baño María con agua a 95°C; interior de la carne monitorizado a 70°C). El contenido de IMF se determinó con Ankom (AOCS Am 5-04; XT10), por duplicado. El perfil de AG se determinó por transesterificación directa de ésteres metílicos de AG y cuantificados por cromatografía de gases (columna capilar 30 m x 0,25 mm; Agilent DB-23, Agilent Technologies, Santa Clara, EEUU) y detector iónico de llama con helio como gas portador (2 mL/min), expresando el porcentaje relativo de cada AG y sus sumas respecto al total (AGPI, AGMI y AGS). La extracción de CV se realizó mediante micro-extracción de fase sólida (HS-SPME) (Supelco, Bellefonte, PA, EEUU) (1 g/muestra). La cuantificación de CV se realizó con un cromatógrafo

de gases 7890B (columna capilar 30 m x 0,25 mm; Agilent DB-23, Agilent Technologies, Santa Clara, EEUU) acoplado a un detector selectivo de masas simple cuádruplo 5977B (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). La identificación de CV se realizó por comparación de su espectro de masa con una librería NIST14 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg) y/o comparando su espectro de masa y tiempo de retención con estándares (Supelco, Bellefonte, PA, USA) y/o por cálculo de su índice de retención en relación a una serie de patrones de alcanos (C5-C14) (Supelco 44585-U, Bellefonte, PA, USA), comprobando su identidad de resultados con la bibliografía. Los resultados de CV se expresan como unidades de área cuantificadas $\times 10^4$ por cada gramo de muestra cocinada. Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP Pro13 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU), con un modelo por mínimos cuadrados incluyendo el tipo genético y porcentaje de magro, como efectos fijos y sus interacciones dobles. Se describen las medias mínimo-cuadráticas y su error estándar. La separación de medias se realizó con el test de Tukey. Por otro lado, se utilizó un método estadístico multivariado (árbol de clasificación) para evaluar el potencial predictor de los dos tipos genéticos y el porcentaje de magro a partir del perfil de AG y CV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de IMF, en carne cruda de cerdo, no mostraron diferencias significativas por el efecto del tipo genético (2,05 vs. 2,26% en Pi y Du, respectivamente; $P > 0,10$) y contenido de magro en canal (2,23 vs. 2,08% en $< 60\%$ y $> 60\%$ magro, respectivamente; $P > 0,10$). Se detectó y cuantificó el perfil de 19 AG. El AG con mayor porcentaje fue el oleico (C18:1 cis9; 36,5%-38,8%), seguido del palmítico (C16:0; 21,9%-23%) y linoleico (C18:2 n-6; 15,1%-16%). No se observaron diferencias significativas en la composición de AG en función del tipo genético. No obstante, el tipo genético Du mostraba una tendencia a un mayor contenido de AGS respecto al Pi ($P = 0,10$). Las canales magras ($> 60\%$) tenían un menor contenido de los AG láurico (C12:0) y eicosatrienoico (C20:3 n-3) ($P = 0,05$), una tendencia a un menor contenido del total de AGS ($P = 0,10$) y, en consecuencia, una mayor relación AGMI/AGS, con respecto las canales grasas ($< 60\%$) ($P = 0,05$). En efecto, el contenido de AGS en la carne de cerdo se correlaciona negativamente con las canales menos grasas (Latorre et al., 2009), contribuyendo a aumentar la relación AGMI/AGS y con ello la calidad nutricional de la carne (Scollan et al., 2017). Mientras muchos de los AGS y AGMI pueden ser sintetizados *in vivo*, las diferencias en AGPI pueden ser mayoritariamente atribuidas a factores de la dieta del animal (Juárez et al., 2016).

Se obtuvieron 69 CV en carne de cerdo cocinada, considerándose los más representativos por su presencia y abundancia en aroma de trabajos de referencia (Gorbatov, 1980; Flores et al., 1997; Machiels et al., 2003; Dominguez et al., 2014; Franco et al., 2014; Gravador et al., 2015; Benet et al., 2015; Zhao et al., 2017; Pérez-Santaescolástica et al., 2018; Flores, 2018). Se agruparon los CV por familias químicas: 18 hidrocarburos, 13 aldehídos, 8 cetonas, 7 ácidos carboxílicos, 15 alcoholes, 3 ésteres y éteres, 2 compuestos azufrados y 3 furanos. Las tres principales familias fueron los hidrocarburos, alcoholes y aldehídos. El tipo genético sólo afectó significativamente la concentración del alcohol 1-pentanol, que fue superior en Du que en Pi ($P < 0,05$). En cuanto al efecto del contenido de magro, se observó una mayor concentración del hidrocarburo 2,4,4-trimetil hexano en el lomo procedente de cerdos más magros ($> 60\%$) que en los grasos ($< 60\%$ magro) ($P < 0,05$). Sin embargo, la carne de cerdos grasos ($< 60\%$ magro) mostró un mayor contenido de alcoholes como el 1-butanol ($P < 0,05$) y 1-pentanol ($P < 0,05$) que la carne de cerdos magros ($> 60\%$). En los árboles de decisión, el tipo genético Du se asoció a mayores concentraciones de ciclopropano pentil (hidrocarburo aromático), mientras que la genética Pi tenía mayor concentración de metanotiol (compuesto azufrado de descomposición de aminoácidos). Mientras que la mayoría de los hidrocarburos aromáticos no se han implicado previamente en el aroma de la carne (Flores, 2018), el metanotiol se ha asociado con olor a gasolina como descriptor del olor en caldos de cerdo negro chino (Zhao et al., 2017). Del mismo modo, Benet et al. (2015) encontraron un alto contenido de metanotiol en jamón curado cocido graso. Los alcoholes de cadena corta (principalmente 1-pentanol) fueron más bajos en el tipo genético Pi y cerdos magros ($> 60\%$), comparados con la genética Du y más grasos ($< 60\%$ magro). El 1-pentanol es producido por la degradación de los aldehídos homólogos, durante la oxidación de los lípidos y aminoácidos (García et al., 1991), el cual tiene un olor suave, a fruta y balsámico (Calkins y Hodgen, 2007), que puede favorecer el aroma de cerdo Du y/o graso. Se detectó una mayor cantidad de

hexano 2,4,4-trimetil (hidrocarburo alifático) y menor de disulfuro de carbono (compuesto azufrado) en la carne de cerdo más magra, comparado con la más grasa. Según Olivares et al. (2011), el hexano es uno de los compuestos volátiles surgidos por autooxidación lipídica, el cual destacó en la carne magra madurada y cocinada. Al realizar las sumas de CV por familias, mediante el árbol de clasificación, se observó que niveles $\geq 21 \times 10^4$ de hidrocarburos aromáticos permiten discriminar completamente a los animales tipo genético Du, mientras que la mayoría de Pi (80%) se asocian a niveles $< 21 \text{ AU} \times 10^4$ de hidrocarburos aromáticos junto con niveles $< 451 \text{ AU} \times 10^4$ hidrocarburos alifáticos. En cuanto al efecto del contenido de magro, el árbol de clasificación identificó que niveles $< 7 \text{ AU} \times 10^4$ hidrocarburos aromáticos, se asocian a canales grasas (100%), mientras que las canales magras (88%), se asocian a niveles $\geq 7 \text{ AU} \times 10^4$ de hidrocarburos aromáticos junto con niveles $< 11 \text{ AU} \times 10^4$ de compuestos azufrados/g muestra.

En conclusión, el tipo genético no afectó a la composición de AG del lomo cuando se sacrificaron a un estado de engrasamiento similar. Sin embargo, las canales con mayor porcentaje de magro tuvieron un menor contenido de los AG C12:0 y C20:3 n-3, un menor contenido total de AGS y una mayor ratio AGMI/AGS, respecto a las canales grasas. En carne cocinada madurada, los CV obtenidos de la familia de alcoholes de cadena corta fueron más bajos en la genética Pi y cerdos magros en comparación con los Du y grasos. De la familia de los hidrocarburos, se asociaron el aromático ciclopropano pentil a la genética Du, y el hidrocarburo alifático hexano 2,4,4-trimetil, a la genética Pi. Se observó una asociación de un nivel de hidrocarburos aromáticos altos a la genética Du, y niveles de hidrocarburos aromáticos bajos a canales grasas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benet et al. 2015. LWT-Food Sci. & Tec. 60(1): 393-399.
- Calkins et al. 2007. Meat Sci. 77(1): 63-80.
- Domínguez et al. 2014. Meat Sci. 97(2): 223-230.
- Flores et al. 1997. J. of Agri. & Food Che. 45(6): 2178-2186.
- Flores et al. 2018. Meat Sci. 144: 53-61.
- Fonseca et al. 2015. Grasas y Aceites. 66(1): 59.
- Franco et al. 2014. Meat Sci. 96(1): 195-202.
- Garcia et al. 1991. Food Che. 41(1): 23-32.
- Gorbатов. 1980. Meat Sci. 4 (3): 209-225.
- Gravador et al. 2015. Animal 9(4): 715-722.
- Juárez et al. 2017. Canadian J. Animal Sci. 97: 395-405.
- Kosowska et al. 2017. Food Sci. & Tech. 37(1): 1-7.
- Latorre et al. 2009. Spanish J. Agri. Res. 7: 407-416.
- Machiels et al. 2003. Talanta 60(4): 755-764.
- Olivares et al. 2011. Meat Sci. 87(3): 264-273.
- Pérez-Santaescolástica et al. 2018. Food Res. Inter. 107: 559-566.
- Scollan et al. 2017. Proceedings of the Nutrition Society. 76(4): 603-618.
- Zhao et al. 2017. Food Che. 226: 51-60.

Agradecimientos: A “Gestió Agroecològica Porcina” (Solsona, Lleida) y a “Escorxador Frigorífic d’Avinó, SA”, por el acceso a las instalaciones y su ayuda en la recogida de datos.

EFFECTS OF GENETICS AND LEAN GRADE ON FATTY ACID PROFILE AND VOLATILE COMPOUNDS OF LOIN PORK RAISED UNDER ORGANIC HUSBANDRY

ABSTRACT: The aim of this work was to assess the effects of genetic (Du-sired vs. Pi-sired) and lean grade (<60% lean vs. >60% lean) on fatty acid (FA) profile and volatile compounds (VC) of pigs slaughtered at approximately 105 kg (Pi-sired) or 90 kg (Du-sired). All the pigs (n=48) had the same commercial feed *ad libitum*. At 24 h *post-mortem*, two caudal slices from *Longissimus lumborum* pork samples were used to determine both intramuscular fat content and FA profile of raw pork and VC profile of cooked pork (aged 8 days). Genetic type did not affect FA profile of meat. The leaner meat had lower C12:0 and C20:3 n-3, lower SFA and higher MUFA/SFA ratio content than the fatter meat. Short-chain alcohols were lower in Pi and in leaner pork compared to the samples from Du crossbreds and fatter pork. A greater amount of hexane 2,4,4-trimethyl (an aliphatic hydrocarbon) but lower carbon disulphide (sulphur compound) was detected in pork from leaner compared to fatter pork. Higher aromatics hydrocarbons ($\geq 21 \times 10^4$ /g of meat) was exclusively associated with Du crossbreds, and lower aromatics hydrocarbons ($< 7 \text{ AU} \times 10^4$ /g of meat) with pigs classified as fatter.

Keywords: organic husbandry, lean grade, fatty acids, volatile compounds.

EFFECTO DEL GENOTIPO EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LA GRASA VISCERAL EN PORCINO

Heras-Molina¹, A., Vázquez-Gómez², M., García-Contreras¹, C., Sanz-Fernández¹, V., Torres-Rovira², L., Segura-Plaza², J. Pesántez-Pacheco^{1,3}, J.L., Astiz¹, S., Óvilo¹, C., González-Bulnes¹, A. y Isabel², B.

¹SGIT-INIA.Madrid. ²UCM. Madrid. ³Universidad de Cuenca. E-mail: delasherana.ana@inia.es

INTRODUCCIÓN

En el ganado porcino, la grasa corporal se distribuye en diferentes zonas, pudiendo clasificarse como grasa intramuscular, grasa subcutánea y grasa visceral. La importancia de cada una de ellas varía en función de la raza, del sistema de producción y de la edad (Kouba y Sellier 2011), siendo la grasa intramuscular la más importante para la calidad de la carne (Bressan *et al.* 2016), por lo que ha sido extensamente estudiada en porcino. A pesar de que la grasa visceral representa un gasto de energía extra para el cerdo en crecimiento (Bressan *et al.* 2016), ha sido objeto de menos estudios, ya que tiene un valor económico limitado. Sin embargo, posee una importante relación con diferentes enfermedades, entre las que cabe destacar el síndrome metabólico en humano (Matsuzawa *et al.* 2011; Björntorp 2000). En la actualidad, el cerdo es modelo biomédico de esta enfermedad (Spurlock y Gabler 2008) y, más concretamente, el cerdo ibérico ha sido estudiado como modelo de síndrome metabólico (Torres-Rovira *et al.* 2012). La acumulación de grasa y su composición está fuertemente condicionada por, entre otros elementos, el genotipo (Wood *et al.* 2008). Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto del genotipo sobre la composición de ácidos grasos de la grasa visceral mediante la comparación de individuos ibéricos puros (IBxIB) y cruzados con Large White (IBxLW).

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 16 cerdas multíparas ibéricas puras fueron inseminadas con semen heterospermico (mezcla de semen de verraco ibérico y Large White 1:1) en la granja Ibérico de Arauzo S.L. (Zorita de la Frontera, Salamanca), obteniéndose un total de 72 lechones (44 ibéricos y 28 cruzados, la mitad hembras y la mitad machos). Los lechones fueron pesados al nacimiento, destete y mensualmente hasta los 7 meses, y también se midieron al nacimiento, destete y a los 2 y 7 meses, momento en el que se sacrificaron y se obtuvieron muestras de grasa visceral de una población representativa de 18 cerdos IBxIB y 14 IBxLW. La composición de ácidos grasos (AG) de la grasa visceral fue identificada y cuantificada mediante cromatografía de gases tras su metilación (Segura *et al.* 2015). Los diferentes AG fueron clasificados por su grado de saturación y sus siglas en inglés: saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA). Además, se obtuvo el total de AG n-3 y n-6 y su ratio $\Sigma n-6/\Sigma n-3$, el índice de insaturación y el cociente MUFA/PUFA. Se usó el paquete estadístico IBM-SPSS® Statistics-22 para evaluar las diferencias en la composición de AG entre ambos genotipos mediante la aplicación de un contraste de la t-Student para dos muestras independientes. Los valores se consideraron estadísticamente significativos a partir de $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del genotipo sobre la proporción de AG se muestra en la Tabla 1. Los valores para SFA fueron de 48,7% para ibéricos puros y 46,7% para cruzados, respectivamente, ($P < 0,05$). Concretamente, los niveles de C14:0 fueron mayores en los individuos cruzados ($P < 0,05$),

mientras que los de C18:0 fueron mayores en los individuos puros ($P<0,01$). La proporción de SFA está fuertemente relacionada con la cantidad de grasa en el caso de los depósitos grasos subcutáneos (Wood *et al.* 1989). Esto podría ocurrir también en la grasa visceral, lo que explicaría la mayor proporción de estos ácidos grasos en el cerdo ibérico. En el presente experimento no se ha medido la cantidad de grasa visceral de cada individuo, pero la raza ibérica es una raza de crecimiento lento y con una mayor tendencia al engrasamiento (Barea *et al.* 2007), por lo que, en las mismas condiciones, es razonable pensar que sintetiza una mayor cantidad de grasa visceral. Además, el cerdo ibérico posee un genotipo ahorrador, que hace que tienda a la acumulación de grasa y a la obesidad (Gonzalez-Bulnes *et al.* 2011) Esto mismo también afecta a la proporción de PUFA, que tiende a ser mayor cuanto más magro es el animal (Wood *et al.* 2008). Esta diferencia es especialmente debida al diferente valor de C18:2n-6, en el que se ha observado una relación inversa con la proporción de grasa subcutánea que, al igual que ocurría con los SFA, podría darse en la grasa visceral. De hecho, nuestros resultados mostraron diferencias muy significativas para la proporción de PUFA (9,77% vs 12,1%, $P<0,001$ para individuos puros y cruzados, respectivamente). En concreto, los ácidos grasos de este grupo que más diferencias mostraron fueron el C18:2n-6, C18:3n-3, C20:4n-6 ($P<0,001$ para todos), el C18:3n-6 y el C20:3n-6 ($P<0,05$ para ambos), siendo todos ellos mayores en individuos cruzados. Esta mayor proporción de SFA y menor proporción de PUFA entre los individuos ibéricos puros y los cruzados están en concordancia con resultados obtenidos en estudios comparando razas porcinas obesas y magras (Scott *et al.* 1981; Benítez *et al.* 2017). En cuanto a los MUFA, no hubo diferencias significativas en los valores totales (41,5% en Ibéricos puros 41,1% en los cruzados), pero sí en el C16:1n-9 ($P<0,001$), C16:1n7 ($P<0,01$), C17:1 ($P<0,01$), siendo en todos los casos mayores en los individuos cruzados. La causa de estas diferencias está en proceso de estudio, aunque algunos autores ya observaron una diferente actividad de las enzimas desaturasas (Barea *et al.* 2013). También se observó un mayor índice de insaturación ($P<0,001$), así como más n3 y n6 ($P<0,001$) en animales cruzados, pero no así para el cociente MUFA/PUFA, el cual fue mayor para los Ibéricos puros ($P<0,001$). Por lo tanto, el presente estudio muestra un efecto del genotipo sobre la composición de ácidos grasos de la grasa visceral.

Tabla 1. Composición de AG en % de la grasa visceral de individuos IBxIB e IBxLW.

	IBxIB	IBxLW	P		IBxIB	IBxLW	P
C14:0	1,22	1,31	*	C18:4n-3	0,081	0,089	NS
C16:0	26,7	26,4	NS	C20:3n-6	0,073	0,087	*
C16:1n-9	0,18	0,24	***	C20:4n-6	0,194	0,236	*
C16:1n-7	1,61	1,97	*	SFA	48,7	46,7	*
C17:0	0,48	0,54	NS	MUFA	41,5	41,1	NS
C17:1	0,38	0,40	**	PUFA	9,77	12,14	***
C18:0	20,3	18,5	**	UI	0,620	0,665	***
C18:1n-9	37,7	36,7	NS	Σ n3	0,698	0,843	***
C18:1n-7	1,64	1,76	NS	Σ n6	9,076	11,298	***
C18:2n-6	8,80	10,9	***	N6/N3	13,021	13,383	NS
C18:3n-6	0,007	0,009	*	MUFA/SFA	4,29	3,45	***
C18:3n-3	0,617	0,754	***	Σ C18:1/C18:0	1,947	2,121	NS

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$, NS No significativo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barea *et al.* 2013. *Animal* 7: 688-98.
- Barea *et al.* 2007. *Animal* 1: 357-65.
- Benítez *et al.* 2017. *Int J Mol Sci.* 19: 22
- Björntorp *et al.* 2000. *Diabetes Metab.* 26 Suppl 3: 10-12.
- Bressan *et al.* 2016. *J Anim Sci.* 94: 2592-2602.
- Gonzalez-Bulnes *et al.* 2011. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 11:285-301
- Kouba *et al.* 2011. *Meat Sci.* 88: 213-20.
- Matsuzawa *et al.* 2011. *J Atheroscler Thromb* 18: 629-39.
- Scott *et al.* 1981. *J Anim Sci* 53: 977-81.
- Segura *et al.* 2015. *Meat Sci* 103:90-95.
- Spurlock *et al.* 2008. *J Nutr* 138: 397-402.
- Torres-Rovira *et al.* 2012. *Sci World J* (2012):510149.
- Wood *et al.* 2008. *Meat Sci.* 78: 343-58.
- Wood *et al.* *Livest Prod Sci.* 1989 22: 351-62.

Agradecimientos: Trabajo financiado con el proyecto AGL2016-79321-C2-1-R. A. de las Heras Molina y C. García Contreras disfrutaron de un contrato FPI del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (BES-2017-080541 y BES-2014-0700464, respectivamente).

EFFECTS OF GENOTYPE ON THE FATTY ACID COMPOSITION OF THE VISCERAL FAT OF THE PIG

ABSTRACT: The fat content of swine is distributed in various deposits, being one of them the visceral fat. However, this fat has been less studied than subcutaneous or intramuscular fat due to its limited economical value. Nevertheless, visceral fat is important, since it has been related to metabolic traits. The objective of this experiment was to study the difference in fatty acid composition between pure Iberian pigs and IberianxLarge White crossbreeds. 72 piglets, both pure and crossbreeds were obtained from 16 pure Iberian sows that were inseminated with heterospermic semen from Iberian and Large White boars. They were sacrificed at 7 months old, and the visceral fat was obtained at this moment. The fat was extracted and, later, the fatty acids composition was analysed using gas chromatography. The results showed differences in the concentration at individual level of various SFA, PUFA and MUFA, as well as certain indexes such as total SFA and PUFA, $\Sigma n3$, $\Sigma n6$ and MUFA/PUFA. This could be explained by the more abundant content of fat in the Iberian pig because of the different genotype of the animals.

Key words: Visceral fat, fatty acids, Iberian pig, Large White

INFLUENCIA DEL SISTEMA PRODUCTIVO SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS, DE CALIDAD DE CANAL Y DE LA CARNE EN EL CEBO INTENSIVO DE TERNEROS

Verdú¹, M., González², J., Font², M., Cucurull¹, J. y Devant³, M.

¹Alimentació Animal i Producció, CAGSA (Corporación Alimentaria Guissona, S.A.) - bonÀrea Agrupa, 25210 Guissona, España. ²Qualitat de Producte, IRTA, Finca Camps i Armet, 17121 Monells, España. ³Producció de Remugants, IRTA, Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, España.
marsal.verdu@bonarea.com

INTRODUCCIÓN

La calidad de la carne puede estar determinada por factores productivos como la raza, el peso y la edad de sacrificio del ganado, y es importante conocer cómo pueden influir para satisfacer las preferencias de la industria cárnica y los consumidores. El objetivo del presente trabajo fue comparar tres sistemas productivos distintos de cebo intensivo de terneros para reportar y caracterizar resultados productivos, de calidad de canal y de la carne. La aportación novedosa del estudio ha sido evaluar cada uno de los sistemas simultáneamente, bajo las mismas condiciones de cebo, conforme su ciclo productivo comercial (peso vivo y edad de sacrificio), y utilizando métodos de medida y analíticos uniformes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 120 animales (42 machos Frisón franceses, 41 hembras cruzadas francesas, de padre Limusín y madre Frisón, y 37 machos cruzados Angus lituanos, de padre Angus y madre Frisón) fueron utilizados en un estudio completamente aleatorizado. Los tratamientos experimentales fueron cada uno de los 3 sistemas productivos evaluados: 1) macho Frisón francés, sacrificado a 11,5 meses de vida (MF11), como sistema productivo estándar, 2) hembra cruzada francesa sacrificada a 10 meses de edad (HC10), como sistema que produce una carne diferenciada de mayor calidad, y 3) macho cruzado Angus lituano sacrificado a 12,5 meses de vida (MA12), como sistema alternativo potencial de mejora de la calidad de la carne. A su llegada, los terneros fueron alojados y distribuidos en 6 corrales, 2 por tratamiento, con peso vivo (PV) y edad similar. Los corrales *outdoor*, cubiertos y con cama de paja (12 m largo x 6 m ancho) disponían de dos comederos separados, para pienso y paja, y un bebedero. La duración del cebo fue de 212, 170 y 228 días en granja para MF11, HC10 y MA12, respectivamente. A lo largo del cebo todos los terneros fueron alimentados con pienso, paja y agua *ad libitum*. En el caso de MF11 y MA12 se utilizaron dos formulaciones comerciales de pienso, una de crecimiento [(1,00 unidades forrajeras de carne (UFC), 13,8% proteína bruta (PB) sobre materia fresca (MF)] los primeros 148 días de estudio, y otra de acabado (1,05 UFC, 12,4% PB sobre MF) los 72 días restantes. Para las HC10 se utilizó un pienso único durante todo el cebo (1,01 UFC, 12,9% PB sobre MF). En cada corral se registró diariamente el estado de salud de los animales y el consumo de pienso, semanalmente el consumo de paja, y cada 14 días el PV de los animales hasta su sacrificio. En matadero se registró el peso y la clasificación de canal. La calidad de la carne se evaluó en 18 animales por tratamiento seleccionados al azar. Se evaluó el pH de las canales a las 24 horas *post mortem* en el músculo *Longissimus thoracis*. Se obtuvieron muestras de la parte central del lomo para el análisis de calidad de la carne. Se determinó la evolución del color instrumental y la percepción visual de muestras envasadas en atmósfera modificada (MAP) en tres tiempos de vida útil, la textura instrumental y la composición en grasa intramuscular. Las muestras MAP fueron enviadas hasta el IRTA (Monells, Girona) en condiciones de refrigeración, y se dispusieron en una cámara frigorífica (5 °C) con un sistema de luz fluorescente homogénea, activada durante 12 horas al día. El resto de muestras se envasaron al vacío y se congelaron para su envío hasta el IRTA. El color instrumental, definido por la luminosidad (L*) y enrojecimiento (a*), se evaluó mediante un espectrofotómetro Minolta CM600d, los días 2 (valor inicial), 6 y 9 después del despiece. La percepción del color se determinó diariamente por parte de observadores IRTA, valorando la percepción subjetiva del color en las muestras (desde 1: muy indeseable, hasta 5: muy deseable) hasta el día 9. La textura instrumental se determinó mediante un texturómetro (Stable Micro Systems, Reino Unido) utilizando una sonda Warner-Bratzler, como la media de 6 análisis realizados en una muestra de lomo de 2,5cm de grosor, cocida al horno a 200°C hasta una temperatura interna de 71°C. La composición en grasa intramuscular se obtuvo mediante el equipo Foodscan (FOSS, Dinamarca), en lomo libre de

tejido graso y conectivo, previamente homogeneizado mediante una picadora de carne convencional. La unidad experimental fue el corral (2 réplicas por tratamiento) y el animal la unidad de muestreo (40 animales por tratamiento para datos productivos y de matadero, y 18 animales para datos de calidad de la carne). Los datos se analizaron usando un modelo mixto con medidas repetidas (Versión 9.4, SAS Inst., Inc., Cary, NC). El modelo estadístico incluyó el sistema productivo y tiempo, y su interacción como efectos fijos, y el corral y el animal anidado como efectos aleatorios. Las variables discretas ordinales se analizaron mediante un test Chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sistema productivo influyó ($P \leq 0,05$; Tabla 1) en todos los resultados productivos y de matadero, excepto para el grado de engrasamiento. El sistema productivo MF11 exhibió ($P < 0,05$) mejores crecimientos, seguido de MA12 y HC10. En cambio, en consumo total de pienso, el sistema HC10 registró ($P < 0,01$) menores consumos, seguido de MF11 y MA12. Consecuentemente, el sistema productivo que tendió ($P = 0,07$) a ser más eficiente según el índice de conversión fue HC10, seguido de MF11 y MA12.

Tabla 1. Datos productivos y de matadero de terneros según el sistema productivo de cebo.

Datos productivos	Sistema			EEM ¹	P-valor
	MF11	HC10	MA12		Sistema
PV inicial, kg	176 ^b	165 ^b	192 ^a	5,5	<0,01
Edad inicial, días	142 ^b	141 ^b	154 ^a	3,3	<0,01
GMD ² , kg/día	1,63 ^a	1,53 ^b	1,60 ^{ab}	0,027	0,02
Consumo total de pienso, kg	1.604 ^b	1.182 ^c	1.751 ^a	27,3	<0,01
IC ³ , kg/kg	4,7 ^{ab}	4,5 ^b	4,9 ^a	0,10	0,07
Datos de matadero					
PV sacrificio, kg	522 ^b	425 ^c	559 ^a	13,1	<0,01
Edad final, días	354 ^{ab}	311 ^b	382 ^a	16,3	0,01
Peso canal, kg	279 ^b	236 ^c	303 ^a	8,4	<0,01
Rendimiento canal, %	53,5 ^b	55,9 ^a	54,3 ^{ab}	0,67	0,04
Conformación, %					
E	0,0	2,6	0,0		
U	0,0	23,1	32,4		
R	0,0	33,3	67,6		<0,01
O	54,8	35,9	0,0		
P	45,2	5,1	0,0		
Engrasamiento,%					
2	2,4	2,6	2,7		
3	97,6	97,4	97,3		1,00

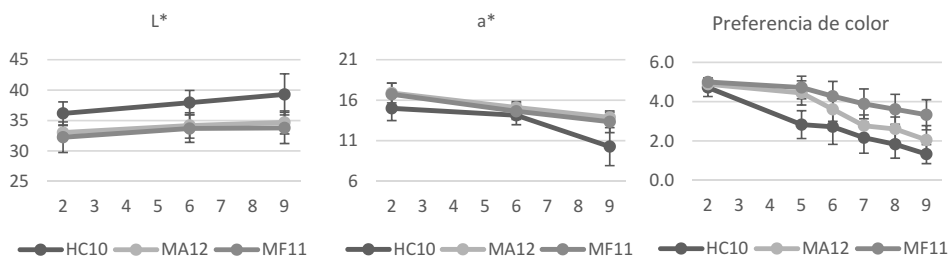
^{a-c} Para una fila, medias con distinto superíndice indica diferencias ($P < 0,05$).

¹EEM: Error estándar de la media. ²GMD: Ganancia media diaria. ³IC: Índice de conversión.

Los terneros MA12 registraron ($P < 0,01$) mayores PV al sacrificio y peso de canal, seguidos de MF11 y HC10. Sin embargo, fueron HC10 las que registraron ($P < 0,05$) mayor rendimiento de canal en comparación con MF11 y MA12. Además, registró ($P < 0,01$) mejor conformación de canal MA12, seguido de HC10 y MF11. Como era de esperar, las hembras mostraron crecimientos y consumos menores que los machos, aunque fue el sistema productivo más eficiente debido a la optimización del peso y edad de sacrificio. Asimismo, los terneros Frisón exhibieron mejores resultados productivos que los Angus, contrariamente a lo observado en otro estudio que se sacrificaron terneros Frisón y Angus a 11 meses de edad. Sin embargo, se observaron datos de matadero coincidentes entre estudios, siendo mejores para los terneros Angus que los Frisón. Inesperadamente, la carne de MA12 registró valores superiores de pH, seguidos de HC10 y de MF11 ($P < 0,01$; 5,74 vs. 5,67 vs. 5,49 \pm 0,012, respectivamente). La raza Angus suele tener un temperamento más tranquilo propiciado menor incidencia de pH excesivamente altos, aunque una edad de sacrificio superior al resto de tratamientos podría haber incrementado la tendencia a pH más elevados. En otro estudio

similar, los Angus sacrificados a 13 meses presentaron un pH superior respecto a los de 11 meses. Respecto al color inicial de la carne, en HC10 fue menos oscura (L^* superior) y rojas (a^* inferior) que el resto de tratamientos. No se observaron diferencias entre sistemas productivos en la fuerza máxima ($6,85 \pm 0,383$ kg) y la grasa intramuscular ($1,78 \pm 0,176\%$). La evolución del color instrumental (L^* y a^*) y la preferencia de color mostraron interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P < 0,01$; Figura 1). La carne de HC10 se mantuvo más pálida y menos roja que MF11 y MA12 hasta el día 9. La carne del tratamiento HC10 mostró una disminución más rápida en la preferencia del color visual debido posiblemente al menor aporte de vitamina E de la dieta, mientras que el tratamiento MF11 obtuvo las mejores valoraciones. En conclusión, se observaron diferencias en los resultados productivos y de calidad de canal entre sistemas de producción de cebo intensivo de terneros. A destacar una mayor eficiencia alimentaria y rendimiento de canal del sistema HC10, junto con una conformación de canal superior del sistema MA12. No obstante, estos resultados no evidenciaron diferencias relevantes en la calidad de la carne, hecho sorprendente debido a la disparidad de condiciones entre sistemas de producción y, también, posiblemente atribuible a un tamaño de muestra reducido.

Figura 1. Evolución de los parámetros de color instrumental, luminosidad (L^*) y enrojecimiento (a^*), y preferencia de color en las muestras de lomo envasadas en atmosfera modificada (MAP) entre el día 2 y 9 de exposición según el sistema productivo.



Agradecimientos: Este estudio fue parcialmente financiado por el programa CERCA de la Generalitat de Catalunya, y posible gracias a la colaboración del personal de Agropecuaria Montgai, S.L.

INFLUENCE OF PRODUCTIVE SYSTEM (HOLSTEIN BULLS VS. CROSSBRED HEIFERS VS. CROSSBRED ANGUS BULLS) ON PERFORMANCE, CARCASS TRAITS, AND MEAT QUALITY IN INTENSIVE BEEF FATTENING FED HIGH-CONCENTRATE DIETS

ABSTRACT: Performance, carcass traits, and meat quality of three different intensive beef fattening systems were evaluated according to their usual commercial slaughter body weight and age, under the same farming conditions and using uniform analytical methods. A total of 120 animals were randomly allocated in 6 pens (two per treatment), and for each pen was assigned to 1 of 3 treatments according to productive system: 1) Holstein bulls, slaughtered at 11.5 months of age ($n=42$), 2) crossbred heifers at 10 months ($n=41$), and, 3) crossbred Angus bulls at 12.5 months ($n=37$). Each pen had two separate feeders for concentrate and straw, and a drinker to guarantee *ad libitum* intake. High-concentrate diets were different for bulls and heifers. Concentrate consumption was recorded daily, straw intake weekly, and body weight fortnightly for each pen. Carcass weight, fat cover and conformation were registered. Meat quality was analyzed in 18 randomized animals per treatment including meat pH at 24h, instrumental colour and texture, and intramuscular fat content in *Longissimus thoracis*. As expected, performance and carcass traits were affected ($P \leq 0.05$) by productive system; however, no major differences were observed in meat quality, except for the paler meat and lower colour stability in heifers.

Keywords: carcass traits, intensive beef, meat quality, productive system

INCORPORACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES Y ACTIVAS EN CARNE DE CORDERO DESCONGELADA: EVOLUCIÓN DEL COLOR

Guerrero, 1ªA., Ferrero¹, S., Barahona¹, M., Boito¹, B., Lisbinski¹, E., Balado², J. y Sañudo¹, C.

¹ Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2, Universidad de Zaragoza-CITA Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza ² Granja Mas del Puig, Ctra CV15 km 40.7, Ares del Maestre, Castellón *aguerre@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La vida útil de la carne ovina es menor que en otras especies y se encuentra determinada por varios factores, siendo el color un aspecto básico en la intención de compra por parte del consumidor (Faustman y Cassens, 1990; Hervé, 2013). Para posibilitar con las máximas garantías una comercialización internacional o a largo plazo, en este tipo de carnes es imprescindible la congelación del producto (Coombs *et al.* 2017). Pocos trabajos han estudiado largos periodos de congelación, pero estos han mostrado que a pesar de no haber un efecto negativo en la calidad general del producto, si se observa una reducción de su posterior vida útil, debido a una rápida decoloración y aumento de la rancidez (Muela *et al.* 2015; Bellés *et al.* 2017). La incorporación de películas o films comestibles es una técnica utilizada por la industria agroalimentaria y recientemente incorporada a la carne y productos cárnicos. Pudiendo, dependiendo de los compuestos activos añadidos o per se, favorecer diversas variables en la calidad del producto, entre ellas la conservación del color. Algunas plantas, como el tomillo y el ajo, son frecuentemente utilizadas en preparaciones culinarias con carne de cordero. Además, estas presentan una alta capacidad antioxidante por lo que añadidas podrían influir en el color de la carne. La aplicación de las mismas en forma de aceite esencial está presuntamente bien aceptado por los consumidores ya que las consideran aditivos naturales, seguros y familiares (Guerrero *et al.*, 2014). Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar el efecto que produce la incorporación de películas comestibles y activas (con aceites esencial de tomillo y ajo) sobre la evolución del color en carne de cordero descongelada, a lo largo del tiempo de exposición.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras utilizadas procedieron del músculo *Longissimus dorsi* (LD) de 10 corderos cruce de Texel x Segureña, sacrificados a 75 días de edad y alimentados con concentrado desde su destete a 45 días. El peso vivo medio de los animales fue 24,5 kg y el peso canal 11,2 kg. Tras 4 días de maduración post-sacrificio, los costillares derechos se congelaron envasados a vacío a una temperatura de -18°C, y permanecieron almacenados durante 35 meses.

Tras su descongelación, a 4°C durante 24 horas, el músculo LD se segmentó en filetes de 2,5 cm, sobre los que se observó la evolución del color durante una semana de exposición en los diferentes tratamientos estudiados. Dichos tratamientos fueron: (CON): Lote control, carne sin adición de película, (ALG): Carne recubierta con película comestible, (TOM): Carne con película comestible activa, incorporando aceite esencial de tomillo; (AJO): Carne con película comestible activa, incorporando aceite esencial de ajo. La base de la composición de las películas comestibles fue el alginato y su preparación se llevó a cabo según los protocolos descritos por Vital *et al.*, (2016). Los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris* QT linalol) y ajo (*Allium sativum*) utilizados procedieron de Pranarôm International® y fueron añadidos a una concentración del 0,05% en volumen a las correspondientes preparaciones de alginato. Cada filete fue envasado individualmente en una bandeja (18 x 28 cm) de polietileno con film permeable al oxígeno conservándose bajo condiciones de refrigeración (entre 2 y 4°C y 12 h/día de luz; 1200 lux) similares a las existentes en los mercados. El color se evaluó sobre la superficie de la carne mediante un colorímetro CM2002 (Minolta ángulo de visión 2°, iluminante D65) a lo largo del tiempo de exposición (1, 4 y 7 días). Se determinaron las variables del sistema CIEL*a*b*: luminosidad (L*), índice de rojo (a*) e índice de amarillo (b*), realizándose la media de las tres medidas tomadas en cada muestra por animal, tratamiento y día de exposición.

La evolución del color se analizó mediante el programa estadístico SPSS (v.19.0) mediante un Modelo Lineal General, considerándose el tratamiento y tiempo de exposición como efectos fijos, así como sus interacciones, y el animal como efecto aleatorio. Las diferencias entre medias fueron determinadas mediante el test de Duncan ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hubo diferencias significativas en todas las variables, tanto para el efecto tratamientos como el tiempo de exposición ($P < 0,050$ y $P < 0,001$; respectivamente) Así como una interacción entre ambos factores en los índices de rojo y amarillo ($P < 0,001$ y $P < 0,05$). Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 1.

La luminosidad disminuyó con el tiempo de exposición ($P < 0,001$), siendo los valores obtenidos a día 7 significativamente inferiores a los del día 1 y 4 en todos los tratamientos estudiados. La adición de las películas disminuyó la luminosidad ($P < 0,050$) con respecto al lote CON, excepto en el séptimo día de exposición y el tratamiento AJO, que presentó una L^* similar al control ($P < 0,050$). Normalmente las modificaciones que se dan en la luminosidad en la carne de cordero almacenada en congelación durante largos periodos son pocas (Coombs *et al.* 2017). Para Mohan *et al.*, (2017) el tiempo de exposición no produjo mucho impacto sobre la luminosidad de carne de cordero con películas activas (extracto de clavo y canela), aunque el mantenimiento de exudados debido a la estructura de las propias películas pueden modificar esta variable (Vital *et al.* 2016).

La adición de aceites esenciales sobre la película de alginato redujo las modificaciones a lo largo del tiempo de exposición en el índice de rojo, el cual sólo presentó diferencias significativas y una progresiva reducción de su valor en los lotes CON y ALG. La adición de ajo redujo a^* , presentando valores similares a los del grupo control en los días 4 y 7 de exposición. La inclusión de tomillo presentó valores similares al grupo ALG y más altos que los dos lotes anteriores. Trabajos como los de Vital *et al.*, (2016) y Mohan *et al.*, (2017) también encontraron variaciones superiores a lo largo del tiempo de exposición y una mayor reducción de a^* en los grupos control respecto a los que contenían películas activas. Visualmente, resultados no mostrados, las muestras AJO presentaron un color marrón más intenso que los demás grupos, que pudiera ser rechazado. Otros autores como Leyva *et al.*, (2016) también señalaron este comportamiento en las muestras tratadas con aceite esencial de ajo.

Con respecto al índice de amarillo, el lote control presentó una mayor reducción a lo largo de la exposición ($P < 0,001$) que en los lotes con películas. La incorporación de películas de alginato protege la decoloración de b^* , presentando valores superiores a los del lote control asociado a sus propias características físicas y sin diferencias significativas entre lotes, excepto en el AJO, mayor b^* , a un día, como también se ha observado en carne de bovino (Vital *et al.* 2016).

La adición de películas comestibles en la carne modifica la apariencia de la misma, así como varía la evolución del color a lo largo del tiempo de exposición. Esto dependerá del material utilizado para la elaboración de las películas, y de los compuestos activos incluidos en las mismas (Vital *et al.* 2016). Los resultados de este trabajo muestran como en carne de cordero descongelada las películas activas permiten una menor degradación de su color, conservándose más estable este cuando se incorpora aceite esencial de tomillo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bellés, M., Alonso, V., Roncalés, P. & Beltrán, J.A. 2017. Small Rum. Res. 146: 41-47 • Coombs, C.E.O., Holman, B.W.B., Friend M.A. & Hopkins D.L. 2017. Meat Sci. 125: 84-94 • Faustman, C., & Cassens, R. G. 1990. J.Mus. Foods 1: 217–243 • Guerrero, A., Rivaroli, D.C., Valero, M.V., Sañudo, C., Jorge, A.M. & Prado, I.N. 60th ICOMST • Hervé, M. 2013. Agrimundo • Leyva, J.M, Ortega-Ramírez, L.A & Ayala-Zavala, J.F. 2016. Chapter 49. In: Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Ed. Elsevier • Mohan, C.C., Krishnan, K.R., Babuski, S., Asfrin, V., Priya, U.L., Mariyajenita, P., Harini, K., Mashushalini, D. & Sukumar, M. 2017. Meat Sci. 128: 47-59 • Muela E., Monge P., Sañudo C., Campo M.M. & Beltrán J.A. 2015. Meat Sci. 102: 35-40 • Vital, A.C.P., Guerrero, A., Monteschio, J.O., Valero, M.V., Carvalho, C.B., de Abreu Filho, B.A., Madrona, G.S. & Prado, I.N. 2016. Plos One 11(8): e0160535.

Agradecimientos: Los autores agradecen a las asociaciones de ganaderos y D.P. Castellón por la facilitación de los animales y financiación.

Tabla 1. Evolución del color (luminosidad, índice de rojo y amarillo) de carne de cordero descongelada recubierta con películas comestibles y activas (aceite esencial de tomillo y ajo) durante el tiempo de exposición.

	CON	ALG	TOM	AJO	EEM	P valor
L*						
1 día	40,45 a Y	39,32 b Y	39,11 b Y	39,26 b Y	0,382	0,015
4 días	39,38 Y	38,05 Y	38,60 Y	38,72 Y	0,381	0,484
7 días	33,26 ab X	32,01 a X	32,44 a X	34,51 b X	0,531	0,033
EEM	0,784	0,728	0,745	0,659		
P valor	0,000	0,000	0,000	0,000		
a*						
1 day	7,51 b Z	8,26 b Y	8,37 b	4,78 a	0,337	0,000
4 day	5,62 a Y	7,68 b XY	7,66 b	5,03 a	0,301	0,000
7 day	3,76 a X	6,72 b X	7,14 b	4,27 a	0,316	0,000
EEM	0,392	0,278	0,306	0,258		
P valor	0,000	0,007	0,054	0,325		
b*						
1 day	14,32 a Z	17,11 b XY	17,38 bc	18,23 c Y	0,293	0,000
4 day	13,06 a Y	17,69 b Y	16,97 b	18,04 b Y	0,408	0,000
7 day	9,19 a X	15,55 b X	15,56 b	15,75 b X	0,587	0,000
EEM	0,471	0,372	0,366	0,441		
P valor	0,000	0,041	0,163	0,019		

CON: Control sin película comestible; ALG: Carne con película comestible; TOM: Carne con película comestible y aceite esencial de tomillo; AJO: Carne con película comestible y aceite esencial de ajo. EEM: Error Estándar de la Media.

a, b, c: diferentes letras en la misma línea indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

X, Y: diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

EVOLUTION OF COLOR AFTER LONG-TERM FROZEN STORAGE OF LAMB MEAT WITH EDIBLE AND ACTIVE COATING (THYME OR GARLIC ESSENTIAL OILS)

ABSTRACT: The effect of alginate-based edible coatings and the incorporation of essential oils from thyme or garlic was analysed on lamb meat colour stability during display (1, 4 and 7 days). Meat samples (kept frozen for a long period) used were from *Longissimus dorsi* from 10 crossbreed lambs, distributed among 4 treatments: control (CON), edible coat of alginate (ALG), and ALG with essential oils at 0.05% from thyme or garlic (TOM, AJO). Treatment and display presented significant differences ($P < 0.050$ and $P < 0.001$; respectively) in the colour parameters studied. Statistical analyses showed significant interactions in yellowness and redness ($P < 0.001$ and $P < 0.05$, respectively). The alginate-based edible coatings modified colour characteristics, especially increasing yellowness ($P < 0.001$). GAR decreased redness ($P < 0.001$), with values up to 4th day being similar to those in CON meat. Thus, edible coatings with essential oils had positive effect on preservation of thawed lamb meat and improving its characteristics during shelf-life after thawing, being the effect of thyme more positive than garlic.

Keywords: Alginate; display; long-term preservation; natural antioxidants;

EVOLUCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE DETERIORO EN CARNE DE CORDERO ENVASADA AL VACÍO DE ORIGEN PORTUGUÉS

Félix-Oliveira D., Coelho-Fernandes S.C., Gonzales-Barron U. y Cadavez V.
Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, 5300-253 Bragança, Portugal; vcadavez@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

En la Unión Europea, existen un conjunto de marcas de calidad asociadas a la carne, las cuales tienen por finalidad no sólo certificar su calidad sino también aumentar el rendimiento de los productores, en vista a que sus intereses confluyen con los intereses del consumidor moderno que procura garantías de calidad y sanidad. En Portugal, el Decreto Ley 147/2006 aprobó las condiciones higiénicas y técnicas a ser observadas en la distribución y venta de las carnes y sus productos, estableciendo 7°C como la temperatura máxima de distribución y conservación de carnes frescas. Por otro lado, la maduración de la carne, que ocurre durante almacenamiento refrigerado a 0 - 4°C, es esencial para mejorar la ternura de la misma. En el caso de la carne de cordero, a los 7 días de maduración se alcanza casi el 80% de su máximo potencial de ternura (Prates, 2000). Sin embargo, durante esta maduración – favorable a la calidad sensorial – también se da a cabo el deterioro microbiano debido a la proliferación de bacterias psicrotóficas, ácido-lácticas, *Pseudomonas*, *Clostridium*, etc. (Berruga et al., 2005). Una de las estrategias para prolongar el tiempo de vida de la carne es la aplicación de envasado al vacío, la cual puede retardar moderadamente el deterioro microbiano. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la tasa de retardo depende principalmente de la calidad microbiológica inicial de la carne y su pH.

El objetivo de este estudio fue evaluar la evolución de microorganismos indicadores de deterioro (mesófilos, psicrotóficos, bacterias ácido-lácticas y *Pseudomonas* spp) en carne de cordero envasada al vacío, durante almacenamiento refrigerado a 4±1°C. El deterioro microbiano en carnes provenientes de dos razas portuguesas, Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM) y Churra-Galega-Bragançana (CGB), fue comparado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio, se utilizaron 15 corderos de raza BEDM y 15 de raza CGB. Los animales fueron sacrificados a los 4 meses de edad en el matadero municipal de Bragança (día cero) Después de 24 h en refrigeración a 4±1°C, se procedió al despiece de las canales y a la toma de muestras. En condiciones asépticas, el músculo *Longissimus dorsi* fue retirado desde la 6ª a la 13ª vértebra, y cortado en tres partes. Cada una de las tres muestras de carne fue envasada al vacío (Silvercrest SFS 110 B2, Germany); etiquetadas con el número 3, 9 o 15, correspondiente al día de análisis microbiológico; y almacenadas a 4±0.5°C (Portiso ECB-3000, UK). Al cabo de 3, 9 y 15 días después del sacrificio, se determinaron las recuentos de microorganismos mesófilos, psicrotóficos, ácido-lácticos y del género *Pseudomonas* spp. Para analizar cada muestra, se homogenizó 25 g de carne en 225 ml de agua peptonada tamponada durante un minuto (Interscience Bag Mixer 400, France). Después de realizar diluciones decimales hasta 10⁻³, alícuotas de 1 ml fueron inoculadas en placas tipo petrifilm Aerobic Count Plate, para mesófilos, y petrifilm Lactic Acid Bateria Count, para bacterias ácido-lácticas. Alícuotas de 1 ml fueron sembradas por incorporación en Plate Count Agar (Liofilchem, Italy) para los recuentos de psicrotóficos, mientras que, para la cuantificación de *Pseudomonas*, alícuotas de 0.5 ml fueron esparcidas en medio selectivo *Pseudomonas* Agar Base (Oxoid, UK), adicionado con 1% v/v glicerol y suplementado con cetrimida-fucidina-cefalosporina (SR0103, Liofilchem, Italy). Las placas de recuentos de mesófilos y bacterias ácido-lácticas fueron incubadas a 35±0.5°C por 48 h, las de psicrotóficos a 7±0.5°C por 10 días, y las de *Pseudomonas* a 25±0.5°C por 24 h. El plaqueo se realizó en duplicado. Para evaluar el efecto de la raza del animal y del tiempo, se ajustaron análisis de varianza para cada grupo microbiano en el software R.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan, separadamente por raza, los recuentos de microorganismos indicadores de deterioro cuantificados en carne de cordero envasada al vacío. Se observó

una interacción significativa ($p < 0,05$) entre raza y tiempo de refrigeración. Así, en los días 3 y 9 de maduración no se manifestaron diferencias ($p > 0,05$) en recuentos microbiológicos entre las dos razas. Sin embargo, a los 15 días de maduración, la carne de los corderos de raza BEDM presentó recuentos microbiológicos de bacterias mesófilas, psicotróficas y ácido-lácticas significativamente más altos que los de la raza CGB (Tabla 1).

Como es de esperar, los recuentos de bacterias de deterioro y ácido-lácticas aumentaron ($p < 0,05$) a medida que transcurría la maduración (Tabla 1). En todas las bacterias, el incremento de la carga microbiana fue más acentuada en la carne de corderos de raza BEDM (Figura 1), lo cual puede tener un nexo con el mayor pH de la carne de esta raza (5,90 para BEDM versus 5.69 para CGB; Figura 1, izquierda). Cuando los corderos sufren estrés por periodos prolongados, ocurre una depleción de los niveles de glicógeno, lo cual impide la caída normal de pH hacia niveles óptimos (Watanabe et al., 1996). En consecuencia, una carne con pH elevado (superior a 5,7) posee mejores condiciones para el crecimiento microbiano, por lo que el tiempo de vida útil de la carne en condiciones refrigerada se ve reducido (Miller, 2001).

Tabla 1. Recuentos e intervalos de confianza al 95% (log UFC/g) de microorganismos indicadores de deterioro cuantificados en carne de cordero envasada al vacío, provenientes de las razas portuguesas *Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho* (BEDM) y *Churra-Galega-Bragançana* (CGB). $Pr > |F|$ indica el nivel de significancia del efecto del tiempo de maduración, estimado por la prueba de la media de los mínimos cuadrados

Microorganismos	Raza	Día	Media	95% IC	$Pr > F $
Mesófilos	BEDM ^a	3	1,57	[1,21 – 1,92]	<,0001
		9	2,48	[2,12 – 2,83]	
		15	3,82	[3,46 – 4,18]	
	CGB ^b	3	1,62	[1,26 – 1,97]	
		9	1,94	[1,58 – 2,30]	
		15	2,40	[2,04 – 2,76]	
Psicotróficos	BEDM ^a	3	1,34	[0,82 – 1,86]	<,0001
		9	2,30	[1,77 – 2,82]	
		15	4,40	[3,88 – 4,92]	
	CGB ^b	3	1,22	[0,69 – 1,74]	
		9	1,65	[1,13 – 2,17]	
		15	2,40	[1,85 – 2,96]	
Bacterias lácticas	BEDM ^a	3	1,06	[0,68 – 1,44]	<,0001
		9	1,51	[1,13 – 1,89]	
		15	2,81	[2,43 – 3,19]	
	CGB ^b	3	0,82	[0,44 – 1,20]	
		9	0,89	[0,51 – 1,27]	
		15	1,14	[0,76 – 1,52]	

(*) Letras superíndice (a, b) indican diferencias significativas entre razas ($p < 0,001$)

En la Figura 1 se aprecia la distribución de los valores de pH, medidos al tercer día del sacrificio, lo que evidencia la tendencia de las carnes de cordero de raza BEDM a presentar pHs más altos. Estos resultados, con toda certeza, están ligados, ya sea a las menores reservas de glicógeno, o al mayor estrés sufrido por los animales de raza BEDM antes del sacrificio. Hacemos hincapié que el sacrificio aconteció en julio de 2018, periodo durante el cual ocurrió un pico de calor, que puede haber contribuido al mal estado nutricional con que los corderos de raza BEDM fueron sacrificados. Es sabido que las temperaturas altas y la fuerte radiación solar acarrear alteraciones comportamentales y fisiológicas en los animales, que resultan en la disminución de la ingestión de alimentos (Lu, 1989).

El envasado al vacío y el almacenamiento refrigerado a 4°C retarda el crecimiento de las bacterias de deterioro y ácido-lácticas por un periodo de 15 días en carnes con pH normal, es decir, inferior a 5,7. Sin embargo, este efecto no se observa en carnes con pH muy elevado,

superior a 5.8, en las cuales el crecimiento microbiano se acelera a partir del tercer día de maduración. Teniendo en cuenta, los niveles de bacterias psicrotróficas (10^6 UFC/g) y *Pseudomonas* spp. (10^7 UFC/g) que tornan la carne impropia para consumo (Feiner, 2006), se estima que las carnes de cordero BEDM envasadas al vacío tendrían un tiempo de vida de ~20 días, mientras que las de origen CGB podrían llegar hasta los 35 días.

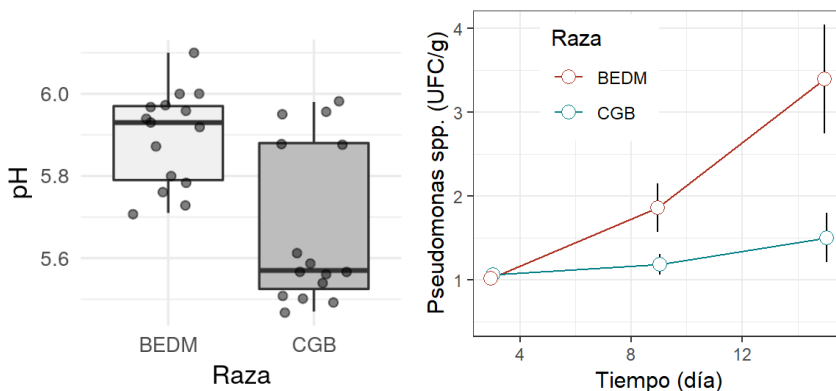


Figura 1. Box plot del pH de la carne, medido al tercer día del sacrificio (izquierda) y evolución de los recuentos de *Pseudomonas* spp. en las carnes de cordero envasadas al vacío (derecha), mostrando diferencias entre razas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Berruga, M. I.; Vergara H.; Gallego L. 2005. Small Ruminant Res 57, 257–264.
- Feiner G. 2006. Meat Products Handbook. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. pp. 617-621.
- Lu, C.D. 1989. Small Ruminant Res 2, 151-162.
- Miller, R.K. 2001. Obtendo carne de qualidade consistente. En: Livro de Actas do Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carne; São Paulo: Centro de Tecnologia de Carnes. pp.123-142.
- Prates, J.A.M. 2000. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 95(533): 34-41.
- Sheridan, J.J.; Doherty, A.M.; Allen, P.; McDowell, D.A.; Blair, I.S.; Harrington, D. 1997. Meat Sci 45, 107-117.
- Watanabe A.; Daly C.C.; Devine C.E. 1996. Meat Sci 42, 67-78.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto europeo ERANET: SusAn/0002/2016.

EVOLUTION OF SPOILAGE MICROORGANISMS IN VACUUM-PACKED MEAT FROM TWO PORTUGUESE LAMB BREEDS

ABSTRACT: The main objective of this work was to evaluate the evolution of spoilage bacteria, namely, mesophiles, lactic acid bacteria, psychrotrophic bacteria and *Pseudomonas* spp. in vacuum-packed lamb meat from two Portuguese autochthonous breeds, Bordaleira-de-Entre-Douro-e-Minho (BEDM) and Churra-Galega-Bragança (CGB). While all microbial groups increased in time ($p < 0.05$), the BEDM lamb meat presented at each of the time points measured (3, 9 and 15 days post-slaughter) higher counts ($p < 0.05$) than the CGB lamb meat. The higher pH of the BEDM lamb meat ($p < 0.05$) was likely to promote the faster proliferation of microorganisms in this meat. Shelf life of vacuum-packed BEDM lamb meat was estimated at ~20 days while that of CGB lamb meat at ~35 days.

Keywords: Psychrotrophic; lactic acid bacteria; *Pseudomonas*; shelf-life

EFFECTO DEL TIEMPO DE MADURACIÓN SOBRE EL pH y COLOR DE LA CARNE DE POTRO

Beldarrain¹, L.R., Morán¹, L., Aldazabal¹, G.F., Barrón¹, L.J.R., Sentandreu², M.A. y Aldai¹, N.

¹Grupo de Investigación Lactiker, Departamento de Farmacia y Ciencias de los Alimentos, UPV/EHU, 01006 Vitoria-Gasteiz; noelia.aldai@ehu.es

²Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC). 46980 Paterna (Valencia).

INTRODUCCIÓN

El consumo de carne de caballo no es popular en la mayoría de países, pero dada su disponibilidad y valor nutricional éste se está incrementando en varios países de Europa (Belaunzarán et al., 2015, 2017). En consecuencia, es necesario extender los estudios realizados en otras especies a este producto. Entre ellos, el estudio de la maduración es importante ya que además de producir un incremento en la terneza de la carne, pueden producirse alteraciones en el color, aroma y apariencia general, factores que tendrán gran peso en el momento de compra y consumo (Koochmaraie, 1996).

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo ha sido por una parte caracterizar muestras de carne de potro mediante su contenido de grasa intramuscular (IM) y mioglobina; y por otra, estudiar la evolución del pH y de los parámetros de color durante la maduración de la carne envasada al vacío, con la finalidad de obtener información que ayude a definir el tiempo óptimo de maduración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 10 potros (5 machos y 5 hembras) de la raza Hispano Bretón de 15-17 meses de edad nacidos entre mayo y agosto de 2017. Los potros fueron criados en condiciones de pastoreo y lactancia natural con sus madres hasta los 7-8 meses, periodo tras el cual se separaron de las mismas y pastaron durante 4-5 meses. Finalmente fueron cebados con pienso (13,3% proteína, 2,70% grasa, 7,60% fibra) durante 120 días hasta el sacrificio (peso medio de la canal 246 ± 14,0 kg). Se sacrificaron 2 potros (un macho y una hembra) durante 5 semanas consecutivas, y tras 48 h de oreo, se extrajo el músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) de ambos lados de la canal, que se cortó en filetes de 1,5 cm de grosor. Los filetes se envasaron al vacío y se almacenaron a 4°C durante 0,7,14 y 21 días.

El contenido de grasa IM (Bligh y Dyer, 1959) y de mioglobina (Faustman y Phillips, 2001) se determinó únicamente en los filetes de día 0. Por otra parte, tras los 0, 7, 14 y 21 días de maduración se midieron el pH y el color. El pH fue medido utilizando un pH-metro portátil (HI 99163, HANNA Instruments Inc., EE. UU.). Los parámetros de color fueron medidos tras 1 h de exposición de los filetes al aire envueltos en una película de PVC permeable al oxígeno, utilizando un colorímetro Minolta® CR-200 (Konica-Minolta Sensing, Inc., Alemania) con el que se obtuvieron las coordenadas de color L^* (luminosidad), a^* (índice de rojo) y b^* (índice de amarillo). Mediante estos parámetros se calcularon los siguientes índices: hue (h^*), que representa el tono ($\arctang(b^*/a^*)$), y chroma (C^*), que se relaciona con la saturación del color ($\sqrt{a^{*2}+b^{*2}}$).

El análisis estadístico fue realizado utilizando el paquete informático IBM-SPSS vers. 25. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para los parámetros de pH y color empleando el procedimiento de modelo lineal general. Se consideraron como factores fijos la maduración, el sexo, el día de sacrificio y el lado de la canal; y como covariable el peso de la canal. En el caso de las medidas de color (L^* , a^* , b^* , C^* y h^*) se utilizaron como covariables en el modelo los valores de dichas medidas obtenidas para cada filete a día 0. El tamaño de los efectos fue evaluado mediante el parámetro η^2 . Se utilizó el test de la Diferencia Significativa Mínima (DSM) aplicado a los valores de medias marginales estimadas para las comparaciones múltiples entre los niveles del factor maduración. Se utilizó como nivel crítico de significación $\alpha=0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de grasa IM en la carne de caballo muestra una gran variabilidad entre razas, sistemas de producción y edades (0,5-12,7 %) (Belaunzarán et al., 2017). En el presente estudio, la cantidad de grasa IM de las muestras fue de 3,66 ± 0,95 %, acorde con el descrito para potros de razas cárnicas sacrificados a una edad similar y criados en manejo semi-extensivo (Sarries y Beriain, 2005). Por otra parte, el contenido de mioglobina, molécula

principalmente responsable de los cambios de color en la carne es altamente variable en función del temperamento, ejercicio, raza y edad del caballo (Lawrie, 1985, Lorenzo et al., 2014). En nuestro caso, se obtuvo un contenido de mioglobina de $3,47 \pm 0,60$ mg/g de carne, en consonancia, con los resultados de Sarries y Beriain, 2005 para potros de edad similar.

La **Tabla 1** muestra la evolución de las variables de pH y color durante los días de maduración, así como los factores que tuvieron efecto sobre las mismas. Según el modelo considerado, el efecto de los factores maduración, día de sacrificio y su interacción fue significativo en las variables estudiadas. Cuando el término de interacción fue significativo, éste fue de tipo ordinal siendo el tamaño del efecto principal de la maduración siempre mayor frente al de la interacción.

El sexo no tuvo efecto significativo sobre el pH ni sobre las variables de color, tal y como ha sido observado por varios autores en diferentes razas de caballo (Franco y Lorenzo, 2014, Tateo et al., 2008). El lado de la canal (LTL de la media canal derecha e izquierda) tampoco mostró ningún efecto significativo. Sin embargo, el día de sacrificio (5 semanas consecutivas) fue significativo para alguno de los parámetros, ya que factores como el transporte al matadero y el propio sacrificio también han sido descritos como componentes que influyen en el color de la carne (Ferguson y Warner, 2008).

En cuanto a la evolución del pH durante el periodo de maduración, su valor inicial ($5,60 \pm 0,02$) fue similar al descrito en la literatura para carne de potro de 15 meses (Gómez y Lorenzo, 2012). El pH disminuyó de manera significativa en los primeros 7 días de maduración, y continuó disminuyendo hasta el día 21, mientras que Gómez y Lorenzo (2012) observaron un incremento del pH durante los primeros 4-7 días de maduración al vacío. En carnes envasadas al vacío, las variaciones de pH suelen ser debidas principalmente a la producción de ácido láctico por el crecimiento de bacterias ácido lácticas (Gill, 1996), lo que está relacionado con los parámetros de color (AMSA, 2012). En general, los valores de pH obtenidos durante la maduración se encuentran por debajo de los descritos para la carne de vacuno envasada al vacío (Wu et al., 2014). Se ha descrito que en carne de caballo el contenido de glucógeno inicial es mayor que en vacuno, lo que hace que tras completarse el *rigor mortis* se conserve más glucógeno residual y por tanto se obtengan valores de pH menores (Gill, 2005).

Tabla 1. Efecto del tiempo de maduración del músculo LTL de carne de potro envasada al vacío sobre el pH y los parámetros de color.

					significación			
	día 0	día 7	día 14	día 21	EEM.	M	DS	M x DS
pH	5,60 ^a	5,48 ^b	5,48 ^b	5,45 ^b	0,02	***	***	***
L*	40,8 ^c	44,5 ^b	44,4 ^b	45,1 ^a	0,3	***	***	***
a*	15,0 ^c	17,8 ^{ab}	18,8 ^a	17,1 ^b	0,2	***	ns	ns
b*	4,09 ^c	6,19 ^b	7,12 ^a	6,92 ^a	0,16	***	ns	**
Chroma	15,6 ^c	18,9 ^b	20,1 ^a	18,4 ^b	0,3	ns	ns	ns
Hue	14,9 ^d	19,1 ^c	20,8 ^b	22,1 ^a	0,4	***	*	***

EEM: error estándar de la media; M: maduración; DS: día de sacrificio; *: $P \leq 0,05$; **: $P \leq 0,01$; ***: $P \leq 0,001$; ns: no significativo. Superíndices distintos en la misma línea indican diferencias estadísticamente significativas entre los niveles del factor maduración ($P \leq 0,05$).

La evolución de las variables de color es de especial interés por ser la característica que más influye en el momento de la compra, ya que el consumidor asocia una carne luminosa y roja a un producto fresco (Mancini y Hunt, 2005). Los valores iniciales de luminosidad fueron similares a los descritos en otros estudios de carne de potro (Lorenzo y Gomez, 2012). L* incrementó su valor durante todos los días de maduración, en línea con lo descrito en otro tipo de carnes envasadas al vacío (Fernandez-Lopez et al., 2008), y se observaron diferencias significativas durante los días 0-7 y 14-21.

El mayor índice de rojo (a*) en la carne se alcanzó el día 14 tal y como han descrito otros autores para carne de potro conservada al vacío (Lorenzo y Gomez, 2012), y posteriormente descendió su valor de forma significativa. Estudios realizados en carne de vacuno establecen el umbral de aceptación del 95 % de los consumidores en un valor de a* igual o superior a 14,5 (Holman et al., 2017). Por lo tanto, aunque el valor máximo de a* fue alcanzado el día 14

de maduración al vacío, la carne presentó valores aceptables a lo largo de todos los días de maduración.

Entre los días 14 y 21 se observa un descenso significativo del índice de rojo (a^*) pero no del índice de amarillo (b^*), lo que se tradujo en un incremento significativo del valor de h^* (tono) en dirección al amarillo (b^*). Esto, junto a un descenso en el valor de C^* (croma) fue indicativo de que la carne podría percibirse como marrón y ser valorada de manera negativa por los consumidores (Kress-Rogers y Brimelow, 2001). Por tanto, aunque la carne con mayor luminosidad fue la de 21 días de maduración, el día 14 se obtuvo el mayor índice de rojo, y a partir de ese momento comenzó a adquirir una tonalidad marrón.

Podemos concluir que la maduración al vacío tuvo un efecto significativo sobre el pH y los parámetros de color estudiados, reafirmando la importancia de este proceso de conservación en la calidad de la carne de potro. Es necesario recalcar que tratándose de una carne más oscura que la de vacuno, con valores iniciales de a^* más altos, es necesario profundizar en la investigación de la aceptabilidad de la carne por parte del consumidor para establecer el tiempo óptimo de maduración, así como el umbral de aceptación de los diversos parámetros de color de este tipo de carne.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMSA, 2012. Meat Color Measurement Guidelines
- Belaunzarán, X., Bessa, R.B.J., Lavín, P., Mantecón, A.R., Kramer, J.K.G. & Aldai, N. 2015. Meat Sci. 108: 74-81.
- Belaunzarán, X., Lavín, P., Barrón, L.J.R., Mantecón, A.R., Kramer, J.K.G. & Aldai, N. 2017. Meat Sci 124:39-47.
- Bligh, E.G. & Dyer, W.J. 1959. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917.
- Faustman, C. & Philips, A. 2001. *Current protocols in food analytical chemistry*. New York, USA
- Ferguson, D.M. & Warner, R.D., 2008. Meat Sci. 80: 12-19.
- Franco, D. & Lorenzo, J.M. 2014. MeatSci. 96:327-334.
- Fernandez-Lopez, J., Sayas-Barberá, E., Muñoz, T., Sendra, E., Navarro, C. & Pérez-Alvarez, J.A. 2008. Meat Sci. 78:143-152.
- Gill, C.O. 1996. Meat Sci. 43: 99-109.
- Gill, C.O. 2005. Meat Sci. 71: 506-513.
- Gomez, M. & Lorenzo, J.M. 2012. Meat Sci. 91: 513-520.
- Holman, W.B., van de Ven, R.J., Mao, Y., Coombs, C.E.O. & Hopkins, D.L. 2017. Meat Sci. 127: 57-62.
- Koohmaraie, M. 1996. Meat Sci. 43: 193-201.
- Kress-Rogers, E. & Brimelow, J.B.C. 2001. *Instrumentations and sensors for the food industry*. Cambridge, UK.
- Lawrie, R.A. 1985. *Meat Science (4th edition)*. Oxford, UK.
- Lorenzo J.M., Sarriés, M.V., Tateo, A., Polidori, P., Franco, D. & Massimiliano L. 2014. Meat Sci. 96: 1478-1488.
- Lorenzo, J.M. & Gomez, M. 2012. Meat Sci. 92: 610-618.
- Mancini, R.A. & Hunt, M.C. 2005. Meat Sci. 71: 100-21.
- Sarriés, M.V. & Beriain M.J. 2005. Meat Sci. 70: 141-152.
- Tateo, A., De Palo, P., Ceci, E. & Centoducati, P. 2008. J. Anim. Sci. 86: 1205-1214.
- Wu, G., Farouk, M.M., Clerens, S. & Rosenvold, K. 2014. Meat Sci. 98: 637-645.

Agradecimientos: Al Departamento de Desarrollo Económico y Competitividad del Gobierno Vasco por la beca predoctoral de L.R.Beldarrain. Este trabajo ha sido financiado por el Grupo de Investigación Lactiker de la UPV/EHU (IT944-16).

EFFECT OF AGING ON pH AND COLOR PARAMETRES OF FOAL MEAT

ABSTRACT: Due to the increasing popularity of foal meat, it is necessary to extend knowledge about it, as the study of the aging process. Meat from 10 Hispano Bretón foals (12-15 months and $246 \pm 14,0$ kg of carcass weight) was first characterized by the analysis of LTL for IM fat ($3,66 \pm 0,95$ %) and myoglobin ($3,47 \pm 0,60$ mg/g meat) content, which were in agreement with previous studies. Then, pH and color parametres L^* , a^* , b^* , C^* and h^* were obtained after 0, 7, 14 and 21 days of vacuum packed aging. GLM of ANOVA showed that aging had effect on pH, which decreased numerically during the 21 ageing days. In color color, L^* increased during the whole storage and the maximum value for a^* was reached at day 14. At 21 days of aging, a decrease in a^* and not in b^* was observed, which resulted in an increase in h^* in the direction of yellow. Together with a loss in C^* this means that meat could be perceived as brown. Consumers link bright red meat with freshness, so although maximum L^* values were obtained at day 21 meat color would start to be negatively evaluated after day 14.

Keywords: Ageing time, vacuum packed, horse meat, appearance.

INFLUENCIA DE LA CONGELACIÓN PREVIA A LA CURACIÓN EN LA APTITUD TECNOLÓGICA DEL M. *LONGISSIMUS DORSI* DE CERDOS IBÉRICOS EN MONTANERA.

Ortiz¹, A., García-Torres¹, S. Cabeza de Vaca¹, M., Tejerina¹, D.

¹Área de Calidad de Carne, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX-La Orden). Junta de Extremadura, Guadajira, Badajoz, Spain. alberto.ortiz@juntaex.es

INTRODUCCIÓN

Los productos procedentes de cerdo ibérico constituyen hoy en día una alternativa de consumo en fresco a los productos procedentes de razas magras comerciales (Estévez, 2003). Sin embargo, la importancia de la raza ibérica procede de la calidad sensorial de los productos curados (Mayoral *et al.*, 1999), especialmente si el animal se explota en régimen de montanera. Por otra parte, el consumo de productos curados derivados del cerdo ibérico está sujeto a una estacionalidad, especialmente en estos últimos, donde su salida comercial ocurre durante los meses de noviembre a diciembre mientras el pico de producción comienza tras la montanera, de febrero a marzo. Esto lleva a los industriales a buscar herramientas eficaces para evitar la pérdida de calidad de estos productos por una curación excesiva, siendo una práctica cada vez más extendida la congelación de piezas nobles previa a su curación. Sin embargo, a pesar de las ventajas tecnológicas y económicas que podría tener para el industrial, los estudios sobre su influencia en la calidad del producto son escasos, especialmente en lomo (Abellán *et al.*, 2018). Por tanto, este estudio pretende abordar la influencia de dos tiempos de congelación en el m. *Longissimus dorsi* procedente de cerdos ibéricos en régimen de montanera en los parámetros de color y aptitud tecnológica para determinar la calidad de éstos al inicio del proceso de curación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 45 lomos procedentes de cerdos Ibéricos castrados en montanera. Tras el sacrificio, a los $156,9 \pm 5.4$ Kg. se retiró el m. *Longissimus dorsi* y estos fueron divididos en refrigerados y congelados. Estos últimos a su vez se dividieron según tiempo de congelación (-20 °C durante 3 o 6 meses). Los análisis fueron llevados a cabo al día siguiente al sacrificio para los refrigerados y tras la descongelación ($4^{\circ}\text{C}/48$ horas) en los que se congelaron. La Capacidad de Retención de Agua (CRA) se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por Irie y Swatland (1992). Las Pérdidas por Cocinado según Combes *et al.*, (2003). El color instrumental se midió con el colorímetro Minolta CR-300, determinándose las coordenadas de color L^* , a^* , b^* , C^* y H^* en el espacio de color CIE Lab. Para la determinación de la textura se utilizó el texturómetro TA XT-2i Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, U.K.). El Análisis de Perfil de Textura (TPA) se realizó con dos porcentajes de deformación (20 y 80%) (Lepetit y Culioli, 1994). El test de Warner–Bratzler (W-B) se realizó cuidando que las fibras musculares tuvieran una disposición perpendicular a la cuchilla Warner–Bratzler (HDP/BS). 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 versión 20.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La congelación produjo un descenso en la Luminosidad (L^*) (tabla 1). Este parámetro depende de la dispersión de la luz, ligado a su vez con el agua libre de la carne. Probablemente, al reducirse el contenido de humedad en las muestras tras la congelación, tuvo lugar un descenso en la L^* (Brewer *et al.*, 2001). En contra, Pérez-Palacios *et al* (2011), tras el proceso de congelación en este caso en jamones ibéricos no observó diferencias en L^* , aunque sí encontró mayores valores en los parámetros C^* , y a^* , lo que atribuyó a las pérdidas de agua (Arnau *et al.*, 2003), y por tanto a la mayor concentración de pigmentos, aunque estas diferencias desaparecieron durante el proceso de curación. En el caso del lomo, al ser un músculo glucolítico (Bee *et al.*, 1999), el contenido en pigmentos es menor en comparación a músculos oxidativos que

componen el jamón (Leseigneur-Meynier y Gandemer, 1991), y por tanto la concentración de pigmentos podría ser menos significativa.

Tabla 1. Efecto de la congelación en el color instrumental de *m. Longissimus dorsi* de cerdos de *Ib x Duroc*.

	Refrigeración	Cong. T3	Cong. T6	EEM ¹	Sig.
Coordenadas Color					
CIE C*	13,89	14,99	13,53	0,261	ns
CIE H°	32,50	31,76	32,16	0,386	ns
CIE L*	46,56a	42,64b	42,48b	0,490	***
CIE a*	11,68	12,72	11,44	0,223	ns
CIE b*	7,48	7,88	7,17	0,165	ns

¹EEM, Error Standard 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, $p > 0,05$). Diferentes superíndices en una misma fila indica diferencias significativas ($p \leq 0,05$) debidas a la congelación.

En la tabla 2 se puede observar cómo el proceso de congelación, con independencia del tiempo, incrementó las pérdidas de agua por cocinado y disminuyó la CRA. En general hay consenso en la literatura científica sobre la reducción en la CRA debido a la congelación (Leygonie *et al.*, 2012), pudiendo ser explicada por la disrupción de la estructura fibrilar y desnaturalización proteica. En contra, existen estudios donde las pérdidas por cocinado no difieren entre muestras de carne fresca y congelada (Leygonie *et al.*, 2012; Vieira *et al.*, 2009).

Tabla 2. Efecto de la congelación en Capacidad de Retención de Agua y Pérdida de cocción en *m. Longissimus dorsi* de cerdos de *Ib x Duroc*.

	Refrigeración	Cong. T3	Cong. T6	EEM ¹	Sig.	
Pérdidas de agua						
Capacidad Retención Agua		26,62b	32,67a	34,00a	0,445	***
Pérdidas por Cocinado		21,82b	25,07a	24,20a	0,239	***

¹EEM, Error Standard de la Media. Los valores son expresados como g/100 g carne fresca. Sig: P, niveles de significación dados por ***($p \leq 0,001$), **($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$). Diferentes superíndices en una misma fila indica diferencias significativas ($p \leq 0,05$) debidas a la congelación

Los resultados del TPA y del ensayo W-B se muestran en la tabla 3. La mayoría de parámetros estudiados se vieron afectados tras el proceso de congelación. Aunque el concepto de textura es difícil de definir por la complejidad de las propiedades asociadas a esta, se puede considerar la ternura como uno de los atributos más importantes en relación a la aceptabilidad de la carne por el consumidor (Shackelford *et al.*, 2001). Nuestros resultados mostraron una mayor dureza tras la congelación tanto en el TPA 20, que podría ser atribuido a la oxidación proteica (Lund *et al.*, 2007), como en el TPA 80, probablemente debido al mayor grado de entrecruzamiento en el colágeno (Estévez, 2011) así como a variaciones en el contenido en agua (Hughes *et al.*, 2014). Estos resultados estarían en concordancia con Lorigo *et al* (2016), que encontró una mayor dureza y fibrosidad en lomos curados que habían sido congelados previamente a su curación. Otros estudios en cambio no encontraron diferencias, sugiriendo que la calidad sensorial se conserva cuando la materia prima es congelada previa a su curación (Abellán *et al.*, 2018). En contra, Pérez-Palacios *et al* (2011) encontró menor dureza, masticabilidad y elasticidad en jamones ibéricos previo a su curación tras tres meses congelados. El descenso en la fuerza máxima en el ensayo W-B podría ser explicado por la pérdida de resistencia de las membranas celulares debido al daño provocado en éstas durante la congelación y descongelación por la formación de cristales de hielo (Lui *et al.*, 2010), reduciendo la fuerza necesaria para cortar la carne.

Tabla 3. Efecto de la congelación en las propiedades reológicas del m. *Longissimus dorsi* de cerdos de Ib x Duroc.

	Refrigeración	Cong. T3	Cong. T6	EEM ¹	Sig.
Análisis de Perfil de Textura (TPA 20% deformación)					
Dureza (kg/cm ²)	0,235b	0,513a	0,519a	0,023	***
Elasticidad (cm)	0,795b	0,874a	0,853a	0,01	***
Cohesividad	0,686c	0,739a	0,715b	0,005	***
Gomosidad (kg cm s ²)	0,162b	0,370a	0,371a	0,018	***
Masticabilidad (kg cm s)	0,136b	0,327a	0,317a	0,015	***
Resistencia	0,495b	0,580a	0,519b	0,008	***
Análisis de Perfil de Textura (TPA 80 % deformación)					
Dureza(kg/cm ²)	8,787b	11,042a	11,342a	0,293	***
Adhesividad (g s)	-0,651	-0,429	-0,527	0,046	ns
Elasticidad (cm)	0,493c	0,621a	0,552b	0,01	***
Cohesividad	0,391b	0,412ab	0,432a	0,007	*
Gomosidad (kg cm s ²)	3,463b	4,507a	4,775a	0,175	***
Masticabilidad (kg cm s ²)	1,701b	2,918a	2,886a	0,119	***
Resistencia	0,219ab	0,204b	0,234a	0,004	**
W-B Fuerza Máxima (kg/cm ²)	10,465a	7,727b	6,917b	0,336	***

¹EEM, Error Standard 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, $p > 0,05$). Diferentes superíndices en una misma fila indica diferencias significativas ($p \leq 0,05$) debidas a la congelación

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aaslyng, M.D., *et al.*, 2003. Food Qual Prefer, 14 (4), 277-288
- Abellán, A., *et al.*, 2018. LWT
- Arnau, J., *et al.*, 2003. Meat Sci 65:1275-1280
- Bee, G., *et al.*, 1999. J Anim Sci, 77, 2104-2111
- Brewer, M.S., 2001. Meat Sci 57 (2001) 169-176
- Combes, S., *et al.*, 2003. Meat Sci, 66, 91 – 96
- Estévez, M., 2003. Meat Sci 64:499–506
- Estévez, M., 2011. Meat Sci, 89, 259-279
- Hughes, J.M., *et al.*, 2014. Meat Sci 98 (2014) 520-532
- Irie, M. y Swatland. H.J. 1992. Food Res Int, 25, 21 –30
- Lepetit, J. y Culioli, J., 1994. Meat Sci, 36, 203-237
- Leseigneur-Meynier, A. y Gandemer, G., 1991. Meat Sci, 29, 229-241
- Leygonie, C., *et al.*, 2012. Meat Sci 91 (2012) 93-98
- Lund, M.N., *et al.*, 2007. Meat Sci, 76, 226-233
- Lui, Z., *et al.*, 2010. Food Chem, 58, 10697-10704
- Mayoral, A., 1999. Meat Sci
- Pérez-Palacios, T. *et al.*, 2011. Food Sci Tech Int 17(2):0127-7
- Shackelford, S.D., *et al.*, 2001. J Anim Sci, 79, 2605-2614.
- Vieira, C., *et al.*, 2009. Meat Sci, 83, 398-404

Agradecimientos: El presente trabajo se ha financiado con el Proyecto INIA RTA2015-00002-C04-01. Nuestro agradecimiento a Ibercom-Ibérico Comercialización, y Área de Calidad de Carne. Alberto Ortiz Llerena agradece a la Junta de Extremadura la ayuda predoctoral con expediente: PD16057.

INFLUENCE OF PRE-CURE FREEZING IN THE TECHNOLOGICAL APTITUDE OF M. LONGISSIMUS DORSI FROM IBERIAN PIGS UNDER FREE RANGE.

The influence of frozen storage in technological aptitude of m. *Longissimus dorsi* from free-range Iberian pigs was carried out to check the quality of meat before the curing process. Differences in colour, water loss and texture in frozen-thawed meat were found. These differences could affect the quality perceived by consumers in dry-cured loin, although this affirmation needs to be confirmed with further researches.

Keywords: *Longissimus dorsi*, Pre-freezing, meat quality

CARACTERÍSTICAS DE CANALES DE VACUNO EN MODO DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICO

Simbine¹, L., Cerqueira^{2,3}, J.L., Cadavez⁴, V., Cantalapedra⁵, P. y Araújo^{2,6}, J.P.

¹Técnico Independente de Agricultura Biológica, Entroncamento, Portugal. ²Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Ponte de Lima, Portugal. ³Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, Vila Real, Portugal. ⁴Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança. ⁵Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España. ⁶Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo, Portugal. simlazar@gmail.com.

INTRODUCCIÓN

La producción ecológica, proporciona a la sociedad bienes que contribuyen a la protección del medio ambiente, al bienestar animal y al desarrollo rural (Reg 848, 2018). En los animales bovinos de abasto, la canal es sin duda la parte más importante de los productos que se obtienen, al representar el mayor porcentaje del peso vivo, y constituir la unidad de transacción entre el ganadero y matadero y entre éste y la red de comercialización (Carballo, 2003). Dentro de los factores que determinan la calidad de una canal destacan el peso, grado de engrasamiento, conformación y características organolépticas. El objetivo del presente estudio es conocer algunas de las características anteriormente citadas de la producción de canales de vacuno ecológico.

MATERIAL Y METODOS

En este trabajo se han analizado los datos de 202 canales de vacuno, de 29 explotaciones en modo de producción ecológico (MPE), sacrificados entre enero de 2016 y octubre de 2018 en un matadero ubicado en Ribatejo (Portugal). Las canales se han clasificado, según los Reg UE 1308/2013 y 2017/1182 en: bovinos con menos 12 meses, repartidas en dos categorías, **V**: Ternera blanca y **Z**: Ternera; y de vacuno pesado, subclasificadas a su vez en: **A**: Machos sin castrar de menos de dos años, **B**: Otros machos sin castrar, **D**: Hembras que hayan parido y **E**: Otras hembras. Las clases de conformación 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: No graso (1), Poco cubierto (2), Cubierto (3), Graso (4) y Muy graso (5). (Reg UE 1308/2013; Reg UE 2017 /1182). Se determinaron las estadísticas descriptivas del peso canal (Pc) y edad de sacrificio (Ed) de animales puros y cruzados. Se evaluó el efecto de las categorías de canales “animales con menos 12 meses” y “vacuno pesado” en el Pc y Ed, mediante ANOVA y comparación múltiple con el test de Tuckey. Se procedió a un análisis de correspondencia entre “categoría” x “conformación canal” y “genotipo” x “conformación canal”. Con respecto al genotipo se han dividido en 4 grupos: “Cruces” de razas indeterminadas, con predominio de Limousine y Charolesa como parentales, “Frisonas”, “Autóctonas”, como la Preta y Exóticas (Salers). El tratamiento estadístico de los datos se realizó utilizando SPSS para Windows V. 22 (SPSS. Inc.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Peso canal y edad de sacrificio. Se constata una gran diversidad de genotipos y un claro predominio de las vacas sacrificadas. Del conjunto de animales, se destacan la categoría **D** (55,4%), la **V** (12,9%), **B** (8,4%), **A** (7,9%), **Z** (7,9%) y **E** (7,4%), siendo un 64,9% del total animales cruzados. En los cruzados con edad inferior a 12 meses se obtuvieron pesos canal **V** = 156,5 kg y **Z** = 229,4 kg, con elevados coeficientes de variación (24,2 y 43,4% respetivamente). La edad media de sacrificio en **V** fue de 5,7 meses y de 9,0 meses en la **Z** (Tabla 1). Las diferencias de peso entre **V** y **Z** se justifican por los contrastes de edad (Araújo *et al.*, 2014 y Serpa *et al.*, 2017) y estos datos coinciden con los reportados por Preston y Willis (1970) y Araújo *et al.* (2016). En los bovinos pesados, aunque se recogieron un número reducido de datos en las categorías **A**, **B** y **E** se obtuvieron diferencias ($P < 0,001$) de peso canal y edad, destacando los elevados coeficientes de variación (Tabla 2). Se constata en las vacas una edad media alta de sacrificio (11,5 años), que indica una longevidad o vida productiva muy superior a la media de las explotaciones convencionales para este tipo de producción. Este hecho tiene un impacto económico visible en la reducción de los costos asociados a la cría de novillas (Rogers *et al.*, 2004) y consecuentemente en la posibilidad de alargar su comercialización.

Clasificación de canales: En la conformación, se destacan las clasificaciones "O" (41,5%), "P" (32,1%) y "R" (23,9%), con la "R" más evidente en los machos y "O" en las hembras (Tabla 3). Para el estado de engrasamiento, sobresale el estado "Poco cubierto" (76,1%) y "Cubierto" (22,0%) para el total de las canales (Tabla 4). Las categorías **A** y **B** presentan valores cuantitativos similares a los datos del GPP (2014), destacando el estado "Poco cubierto". La categoría **D** presentó "Poco cubierto" en un 77,7% y "Cubierto" en el 21,4%. La categoría **E**, se caracteriza por estados de engrasamiento superiores, con prevalencia para el estado "Poco cubierto" (53,3%) y "Cubierto" (40,0%). Este resultado se justifica porque las hembras presentaron 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 enteros (Berg y Butterfield, 1978) proporcionando en consecuencia en las hembras canales con mayor nivel de engrasamiento que los machos y enteros. Hubo una relación de dependencia entre "genotipo" y "conformación canal" ($\chi^2 = 69,2$, $p < 0,001$), pudiéndose asociar más la frisona a conformación "P" y los cruces e exóticas a "R" y "U". Lo mismo ha ocurrido entre "categoría" y "conformación canal" ($\chi^2 = 48,6$, $p < 0,001$), asignándole a las vacas conformaciones "O" y "P" y a los añejos y los toros "R" y "U" (Figura 1).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Araújo, J.P. 2011. Caracterización etnológica, genética y productiva de la raza bovina Minhota. Ed. Académica Española. • Araújo, J.P., Barata, A.G., Cadavez, V., Ventura, P., Cerqueira, J.L. 2014. Cong. Intern. Agroecología y Agricultura Ecológica. 310-321. • Araújo, J.P., Dores, J.L., Vaz, P.S., Cerqueira, J.O., Cantalapedra, J. 2011. XIV Jornadas Prod. Anim. 55-57. • Araujo, J.P., Lorenzo, J.M., Cerqueira, J., Vazquez, J.A., Pires, P., Cantalapedra, 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. • GPP, 2014. Anuario Agrícola. • 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. • Rogers, P.L., Gaskins, C.T., Johnson, K.A., MacNeil, M.D., 2004. J. Animal Sci., 82: 860-866. • Serpa, R.M., Cerqueira, J.L., Cantalapedra J., Lorenzo J.M., Araújo, J.P. XVII Jornadas Prod. Anim. 693-695. • UE Reg 1308/2013. • UE Reg 2017/1182. • UE REG 2018/848.

Tabla 1. Peso canal y edad de sacrificio de bovinos cruzados con edad ≤ 12 meses.

Categoría	Nº	Peso canal (kg)				Edad (meses)			
		Media \pm DS	Min	Max	CV(%)	Media \pm DS	Min	Max	CV (%)
V. ≤ 8 meses	21	156,5 \pm 37,83	70,0	209,5	24,18	5,7 \pm 1,42	3,0	7,0	24,84
Z. $>8 \leq 12$	10	229,4 \pm 99,59	120,3	366,1	43,41	9,0 \pm 1,15	8,0	11,0	12,83
Sig.		***				***			
Total	31	180,0\pm71,63	70,0	366,1	39,79	6,8\pm2,04	3,0	11,0	30,18

Sig: Nivel de significación *** $P < 0,001$.

Tabla 2. Peso canal y edad de sacrificio de bovinos cruzados pesados.

Categoría	Nº	Peso canal (kg)				Edad (meses)			
		Media \pm DS	Min	Max	CV (%)	Media \pm DS	Min	Max	CV (%)
A	13	282,0 ^a \pm 94,65	135,8	464,3	33,57	13,9 ^a \pm 2,33	12,0	19,0	16,76
B	10	416,1 ^b \pm 90,84	250,7	533,7	21,83	46,1 ^a \pm 25,38	24,0	101,0	55,05
D	65	260,1 ^a \pm 61,84	161,7	454,6	23,77	137,3 ^b \pm 59,7	32,0	244,0	43,56
E	13	289,4 ^a \pm 111,43	119,1	502,0	38,50	23,5 ^a \pm 9,23	12,0	36,0	39,34
Sig.		***				***			
Total	10	258,2\pm88,72	119,1	533,7	36,89	97,7\pm72,58	12,0	244,0	97,30

Tabla 3. Conformación de las canales por categoría de bovinos en porcentaje (n=159).

Categoría / Conformación	U	R	O	P	Total (%)
A	12,5	62,5	25,0	0,0	100,0
B	12,5	37,5	50,0	0,0	100,0
D	0,0	14,2	43,8	42,0	100,0
E	0,0	40,0	33,3	26,7	100,0
Total	2,5	23,9	41,5	32,1	100,0

Tabla 4. Engrasamiento de canales por categoría de bovinos en porcentaje (n=159).

Categoría / Engrasamiento	Poco cubierto	Cubierto	Graso	Total (%)
A	81,3	18,7	0,0	100,0
B	81,3	12,5	6,3	100,0
D	77,7	21,4	0,9	100,0
E	53,3	40,0	6,7	100,0

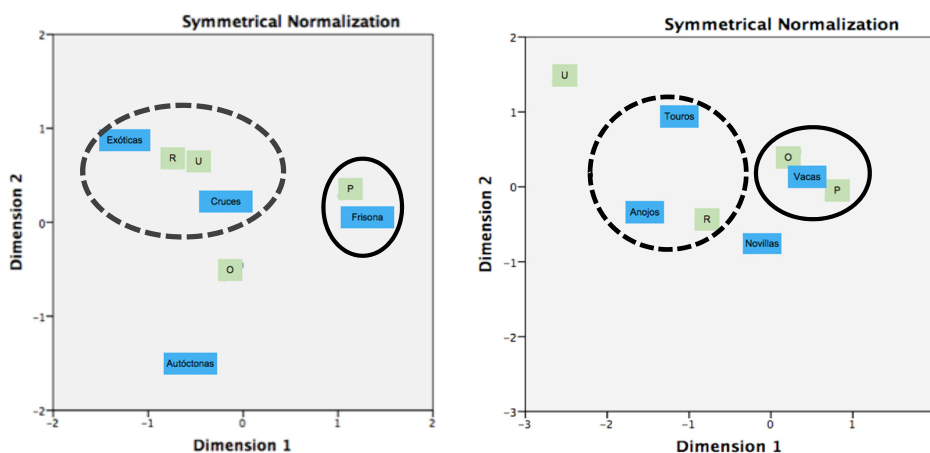


Figura 1. Análisis de correspondencia entre genotipo x conformación canal (izquierda) y categoría x conformación canal (derecha), de vacuno en MPE.

CATTLE CARCASSES CHARACTERISTICS ON ORGANIC FARMING

ABSTRACT: Organic production combines best environmental and climate action practices, in line with the demand of a growing number of consumers for products obtained by natural substances and processes. Data of 202 carcasses were used in this study, to describe the categories, weight, conformation score and fat cover. The **D** - female that have calved (55.4 %) and **V**, veal (12.9 %) represent the most significant categories. Of the total of animals, 64.9% are from crossbreeding. The carcass weight by category was **V** = 156.5±37.83 kg and **Z** = 229.4±99.59 kg with a slaughter age of 5.7±1.42 and 9.0±1.15 months, respectively. A high average slaughter age (11.5 years) is observed in the cows, which can traduce a high longevity or productive life span. The SEUROP conformation score, highlights: "R - Good" more representative in male's categories (**A** and **B**) and "O - Fair" in female's (**D** and **E**). Regarding degree of fat cover the state "2. Slight" predominates with 81,3 % (**A** and **B**) and 77.7 % (**D**). There was a dependence relationship among "genotype" x "carcass conformation", and "category" x "carcass conformation".

Keywords: Carcass weight; Carcass classification; Categories; Organic animal husbandry.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE INTERVENCIÓNES POST-MORTEM SOBRE LA TEXTURA DE LA CARNE DE AÑOJO Y CEBÓN

Morán¹, L., Prendiville², R., Aldai¹, N., Barron¹, L.J.R. y Moloney², A.P.

¹Grupo de Investigación Lactiker, Departamento de Farmacia y Ciencias de los Alimentos, UPV/EHU, 01006 Vitoria-Gasteiz. ²Teagasc, Animal and Grassland Research and Innovation Centre, Dunsany, Co. Meath, Ireland; lara.moran@ehu.eu

INTRODUCCIÓN

En Irlanda, los machos derivados de la producción lechera son habitualmente sacrificados como cebones a 24 meses (m) pero existe en la actualidad un interés en incrementar la producción de machos enteros debido, principalmente, a su mayor eficiencia de conversión. Sin embargo, la producción de machos enteros se basa en animales entre 12-16 m alimentados con concentrados *ad libitum* (AD) para alcanzar los requerimientos de mercado evitando problemas de palatabilidad. Esto se debe a que la carne de machos enteros suele considerarse menos tierna que la de machos castrados (Nian et al., 2018a; Maher et al., 2004), y estas diferencias se incrementan con la edad (Shorthose y Harris, 1990). Por el contrario, trabajos previos realizados en Irlanda, indicaron que la producción de machos enteros a 19 m es más rentable (Kelly et al., 2013). Por ello, el objetivo del presente experimento fue evaluar el efecto de dos métodos de intervención *post-mortem*, como son la suspensión pélvica y la maduración, para eliminar los posibles problemas de palatabilidad en machos no castrados sacrificados a 19 m.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tras el destete, 30 terneros Holstein Friesian fueron clasificados por fecha de nacimiento y peso al destete y aleatoriamente asignados a un tipo de canal (C): machos castrados para ser sacrificados con 24 m con denominación comercial cebón (C24M; n=15 o machos enteros para ser sacrificados con 19 m con denominación comercial añojo (A19M; n=15). La castración del grupo C24M se realizó a los 202 ± 9 días de edad. En la figura 1 se puede ver el esquema de manejo de ambos sistemas de producción.

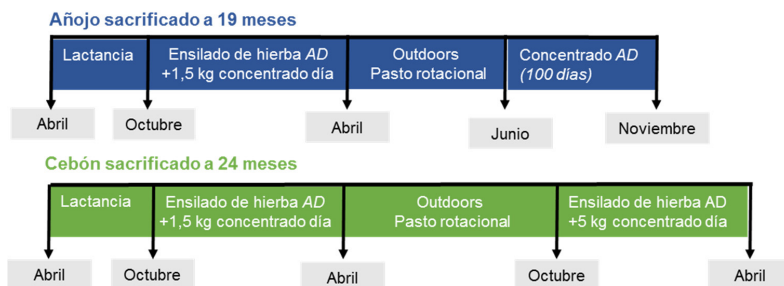


Figura 1. Diagrama del sistema de manejo para ambos tratamientos.

Los animales fueron sacrificados al alcanzar su correspondiente edad de sacrificio (A19M 586 ± 9 días; C24M a 733 ± 8 días). Las canales fueron divididas y cada media canal se suspendió (S) de forma diferente: de manera tradicional por el tendón de Aquiles (T) o pélvica (P). A 48 h *post-mortem* se extrajo el músculo *Longissimus thoracis* (LT) y se dividió en secciones que fueron maduradas (M) al vacío durante 7, 14 y 21 días a 2 °C. Los análisis de pérdidas por cocinado (PC) y textura instrumental fueron realizados siguiendo la metodología descrita por Morán et al. (2017). Para evaluar la textura instrumental de la muestra se tomaron tres parámetros: la fuerza de corte (WB-FC), relacionada con la resistencia de una muestra a la penetración, el módulo de deformación o pendiente (WB-pendiente) relacionado con la resistencia de una muestra a la deformación por estrés, y por último se tomó el área total (WB-área) que la energía total empleada para el corte, y se relacionada con la masticabilidad. El análisis de la varianza (ANOVA) fue realizado utilizando IBM-SPSS vers. 25. Se incluyeron en

el modelo lineal los factores fijos C, M y S, así como sus interacciones y el efecto animal y se utilizó del test Bonferroni para las comparaciones múltiples entre los niveles de los factores. El tamaño del efecto fue evaluado mediante η^2 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en PC (*Tabla 1*) indican una menor PC en filetes C24M seguramente debido al menor contenido en agua presente en los animales castrados (Morán et al. 2017). Por otro lado, la interacción M*C indica que el efecto de la maduración sobre PC solo fue significativo en las canales A19M, concordando con estudios previos (Nian et al. 2018 a, b). En animales A19M se encontraron diferencias significativas entre 7 y 14 días que desaparecieron tras 21 días de maduración. Esto puede explicarse porque el contenido inicial de agua en el filete descendió por pérdidas por almacenamiento, igualándose a C24M tras 21 días de maduración. Atendiendo al tipo de canal, los resultados indican menor WB-FC, WB-pendiente y WB-área en C24M comparado con A19M (*Tabla 1*). Los valores obtenidos en los tres factores C, S y M para A19M fueron similares a los aportados por Nian et al. (2018b).

Tabla 1. Pérdidas por cocinado (PC, %) y textura instrumental del músculo *Longissimus thoracis* medidas en sus 3 componentes: fuerza de corte (FC, N), pendiente (MPa) y área (J) a distintos días de maduración (M) procedente de dos tipos de canales (C; añojo A19M y cebón C24M) y con distintos sistemas de suspensión (S; tradicional T y pélvica P).

	M (días)	A19M		C24M		EEM	p-valor					
		P	T	P	T		C	S	M	M*C	M*S	C*S
PC	7	25,8 ^a	27,8 ^a	21,4	22,1	0,3	***	ns	***	*	ns	ns
	14	26,8 ^a	26,5 ^a	22,5	22,3							
	21	24,5 ^b	23,0 ^b	21,4	21,1							
FC	7	34,9 ^a	36,3 ^a	21,1	19,2	0,6	***	ns	***	***	ns	ns
	14	30,7 ^b	32,4 ^b	20,2	20,0							
	21	25,9 ^c	23,2 ^c	20,2	17,0							
Pendiente	7	0,808 ^a	0,797 ^a	0,452 ^a	0,372 ^a	0,020	***	***	***	***	***	ns
	14	0,712 ^b	0,737 ^b	0,416 ^a	0,399 ^a							
	21	0,611 ^c	0,412 ^c	0,383 ^b	0,245 ^b							
Área	7	0,263 ^a	0,293 ^a	0,190 ^a	0,181 ^a	0,004	***	ns	***	***	*	***
	14	0,248 ^a	0,269 ^a	0,194 ^a	0,193 ^a							
	21	0,171 ^b	0,165 ^b	0,163 ^b	0,133 ^b							

EEM: error estándar de la media. Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre días de maduración ($P \leq 0,05$) ns, no significativo ($P < 0,05$) *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$; ***, $P \leq 0,001$.

Respecto a la maduración, su efecto es significativo sobre WB-pendiente y WB-área a los 21 días, mientras que su efecto sobre WB-FC es significativo a partir de los 14 días de maduración. En todo caso, existe para todos los parámetros de textura evaluados una clara interacción M*C, debido a que los valores de partida son mucho mayores en canales A19M y las diferencias debidas a la maduración son mucho mayores en este grupo que en C24M (*Tabla 1*). A pesar de que muchos autores indican que el efecto de la maduración sobre la textura de la carne se estabiliza a partir de los 14 días (Sinclair et al., 1998), en nuestro caso todavía existe un descenso significativo hasta los 21 días. Por último, el efecto de la suspensión pélvica no fue significativo en WB-FC aunque Nian et al. (2018a) encontró un descenso en WB-FC tras 7 días de maduración. Las diferencias entre estudios pueden deberse a diferencias en los valores de WB-FC de las carnes de partida antes del proceso de maduración. En cuanto al tipo de suspensión, se observó un mayor tamaño del efecto de la interacción M*S frente a la S para la variable WB-pendiente. Los filetes procedentes de canales sometidas a suspensión pélvica tenían valores iniciales más elevados generando

mayores diferencias entre días de maduración. En el caso de WB-área, se observó un mayor tamaño del efecto (η^2) de la interacción S*C frente a la S. La aplicación de suspensión P redujo el WB-área en mayor medida en canales pertenecientes al grupo A19M. La interacción C*S*M no fue significativa en ningún caso.

En el caso de WB-FC, Shackelford et al. (1991) establecieron una categorización de terneza para el músculo LT de vacuno. Siguiendo esta clasificación, la carne de C24M sería categorizada al 100% como muy tierna desde el primer tiempo de maduración (7 días), mientras que la carne de A19M necesita una mayor maduración (Figura 2). En conclusión, los resultados de este trabajo indican que para canales C24M con maduración del LT igual o inferior a 7 días es suficiente, mientras que para A19M se necesitarían entre 14 y 21 días de maduración. No se recomienda la suspensión debido a que su efecto, al menos en el músculo estudiado es menor y no rebaja el tiempo de maduración necesario.

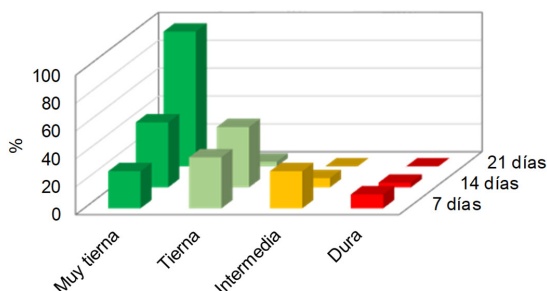


Figura 2. Clasificación de la terneza de la carne de añojos sacrificado a 19 meses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Kelly, P. et al. 2013. In: Proceedings of Teagasc National Beef Conference 9, 25-30. • Maher, S. C et al. 2004. Livest. Prod. Sci. 90, 271-277. • Moran, L. et al. 2017. Meat Sci. 125, 76-83. • Nian, Y. et al. 2018a. J Sci Food Agric 98, 4339-4350. • Nian, Y. et al. 2018b. J Sci Food Agric 98, 1914-1926. • Shackelford S.D.1991. J Muscle Foods 2, 289-296. • Shorthose, W. R., & Harris, P. V. 1990. J of Food Sci. 55, 1-8. • Sinclair, K.D. et al. 1998. J Anim Sci 66, 329-340.

Agradecimientos: Proyecto financiado por el Irish Department of Agriculture, Food and the Marine's (11/SF/322, "BullBeef"). Agradezco a Brian Murphy (Teagasc) y a Dawn Meats por su colaboración en el manejo y sacrificio de los animales. Lara Morán agradece al Gobierno Vasco la financiación para su contratación (IT944-16).

EFFECT OF POST-SLAUGHTER INTERVENTIONS ON THE TEXTURE OF BEEF FROM BULLS AND STEERS

ABSTRACT: Palatability assurance is key for meat consumer confidence and therefore optimum texture levels must be ensured when studying new production systems. The objective of the present study was to compare the effect of two different post-slaughter interventions: pelvic suspension and meat ageing on *Longissimus thoracis* muscle in order to provide market specifications for two types of commercial carcasses of dairy origin: 24 months steers and 19 month bull. The results indicate that meat from 19 months bulls is less tender than meat from 24 month steers. Between post-slaughter interventions, prolonged ageing of the meat was more effective compared with pelvic suspension of the carcass. There was a clear interaction between ageing time and type of carcass, whereby 24 month steers showed no Warner Bratzler Shear Force differences among ageing times but, 19 month bull reached the maximum tenderness after 14-21 days. It is concluded, that the use of post-slaughter interventions in 24 month steers is not needed, whereas meat ageing for 14- 21 days is highly recommended for 19 month bulls.

Keywords: hanging, ageing, steers, bull, texture

MADURACIÓN DE CARNE DE BOVINO EN SECO Y EN BOLSA TUBLIN HASTA 28 Y 45 DÍAS

Panella-Riera, N., Scappini, S., Font-i-Furnols, M., y Gil, M.
IRTA-Monells, Finca Camps i Armet, s/n, 17121, Monells; nuria.panella@irta.cat

INTRODUCCIÓN

La maduración *post mortem* de la carne tiene un elevado impacto en sus características sensoriales, aunque el papel de los distintos factores que influyen en el proceso no está del todo resuelto (Kim et al., 2018). La maduración en seco - en cámaras adecuadas con temperatura y humedad relativa controladas - se presenta como una oportunidad para desarrollar un producto de vacuno diferenciado, ya que el proceso en seco puede generar compuestos que contribuyan al *flavor* de la carne y que no se encuentran en la carne madurada al vacío, especialmente en maduraciones superiores a 30 días. Algunos autores (Smith et al., 2008; Li et al., 2014) han estudiado el uso de bolsas para maduración en seco, que son permeables al vapor de agua y que aumentarían el rendimiento final de la pieza, que es uno de los inconvenientes de madurar en seco.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de dos métodos de maduración, en seco y con bolsa permeable al vapor de agua sobre el lomo bajo de animales comerciales tras 28 y 45 días de maduración, en las pérdidas de peso y rendimiento vendible, y en la calidad de la carne (color y textura).

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente estudio se planteó un diseño experimental considerando 2 métodos de maduración: DRY (maduración en seco tradicional) y TUBLIN (bolsa permeable al vapor de agua; TUBLIN 10, Dinamarca) y 2 tiempos de maduración (28 y 45 días). La maduración se realizó en una cámara de uso exclusivo configurada con los parámetros: temperatura $1,0 \pm 2,0$ °C, humedad relativa $78 \pm 20\%$; velocidad del aire 1,0-1,5 m/s. Se adquirieron 6 unidades de lomo bajo de animales comerciales (11 meses; Frisona x Angus; Clase Z; conformación: R+; engrasamiento 3) a las 48 h *post mortem* (t0). En este momento (t0) se tomó una loncha de 2,5 cm para el análisis de la textura y medida del color (CIE-L*a*b*) mediante un espectrofotómetro CR300. El resto se dividió en 2 porciones: (i) método DRY, la porción del lomo se colocó directamente en la cámara de maduración, a los 28 días de maduración, se retiró la mitad de la porción, y el resto se siguió madurando hasta los 45 días. (ii) método TUBLIN, la porción se cortó en dos trozos y se envasó al vacío con las bolsas permeables al vapor de agua y se colocó en la cámara de maduración durante 28 o 45 días. Al finalizar el periodo de maduración, se pesó cada porción, se pulió, se realizó una medida del color y tomó una muestra de 2,5 cm para la determinación de la textura. Las muestras se envasaron al vacío y se congelaron a -20°C hasta el día de análisis. Se registraron las pérdidas de humedad, pérdidas de peso por pulido, las pérdidas por descongelación y las pérdidas por cocción. Se analizó la textura instrumental mediante el test de Warner Bratzler con un texturómetro Texture Analyzer Alliance RT/5 (Moller, 1980). El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS (ver. 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), con el procedimiento MIXED considerando medidas repetidas cuando fue posible.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el proceso de maduración en seco, las piezas cárnicas sufren pérdidas de humedad y se resecan superficialmente. La Tabla 1 presenta las pérdidas por evaporación de las porciones maduras, y se puede observar que durante el primer periodo de maduración (de 0 a 28d) el método TUBLIN sufrió mayor pérdida por evaporación que el método DRY. Durante el periodo 28-45 días, no se observaron diferencias, pero sí al considerar el periodo global (de 0 a 45 d). Las pérdidas por evaporación conllevan la formación de una costra superficial en las piezas maduras que se tiene que pulir para ser consumida. Los resultados indican que tras 28d, el método TUBLIN requiere mayor pulido (60,16 % de costra descartada) que el método DRY (54,0 %), mientras que tras un periodo de 45 d no se observaron diferencias significativas entre los dos métodos de maduración (Tabla 1). A partir de las pérdidas por evaporación y por pulido, se puede calcular el rendimiento vendible como pérdida de peso

acumulada. Utilizando el DRY, a partir de 100 kg de lomo bajo, se podrían vender 40,7kg tras 28 d de maduración, y 29,9 kg tras 45d. Con el TUBLIN, a partir de 100 kg de carne fresca se pueden vender 31,1 kg de carne madurada 28d, y 27,0kg tras 45d de maduración. Estos rendimientos dependen directamente de las condiciones ambientales durante la maduración (Kim et al., 2018). Se observaron diferencias significativas en las pérdidas por descongelación y cocción después de 28 días de maduración, dónde se observó que el método DRY perdía mayor exudado que el TUBLIN durante la descongelación y la cocción (Tabla 1).

Tabla 1. Pérdidas de peso de la carne madurada en seco (DRY) o con bolsas permeables al vapor de agua (TUBLIN), por un periodo de 28 o 45 días (LSM- medias por mínimos cuadrados, S.E.- error estándar).

Perdidas de peso	DRY		TUBLIN		P-valor
	LSM	S.E.	LSM	S.E.	
Por evaporación (%)					
0-28d	11,56	0,53	21,99	0,53	<0,0001
28-45d	8,10	0,87	7,33	0,79	0,5327
0-45d	19,38	0,77	27,6	0,71	<0,0001
Por pulido (%)					
0-28d	54,00	1,94	60,16	1,94	0,0489
0-45d	62,95	1,39	62,74	1,39	0,9162
Por descongelación (%)					
t0d	25,68	1,22	25,68	1,22	1,0000
t28d	4,81	0,45	1,27	0,45	0,0002
t45d	1,12	0,20	0,67	0,18	0,1282
Por cocción (%)					
t0d	25,37	1,19	25,37	1,19	1,0000
t28d	32,33	1,62	18,26	1,62	0,0001
t45d	1,73	1,71	1,28	1,56	0,0782

Tabla 2. Color instrumental (CIE L*a*b*) del músculo longissimus thoracis madurado en seco (DRY) o con bolsas permeable al vapor de agua (TUBLIN), tras 28 o 45 días de maduración (LSM- medias por mínimos cuadrados; S.E.- error estándar).

	DRY		TUBLIN		P-valor		
	LSM	S.E.	LSM	S.E.	Método (M)	Tiempo(T)	MxT
L* - luminosidad							
t0d	35,22 ^{ab}	0,74	35,22 ^a	0,74	0,493	0,0001	0,479
t28d	36,16 ^a	0,74	36,37 ^a	0,74			
t45d	33,51 ^b	0,74	32,05 ^b	0,74			
a*- tendencia al rojo							
t0d	14,50	0,53	14,50 ^a	0,53	0,035	0,033	0,299
t28d	14,62	0,53	13,06 ^{ab}	0,53			
t45d	13,69	0,53	12,39 ^b	0,53			
b*-tendencia al amarillo							
t0d	14,25	0,41	14,25 ^a	0,41	0,007	0,009	0,071
t28d	14,90	0,41	13,81 ^a	0,41			
t45d	14,05	0,41	12,09 ^b	0,40			

La Tabla 2 muestra los resultados del color instrumental de las muestras de lomo tras 48 horas *post mortem* (t0), 28 y 45 días de maduración, con el método DRY o el TUBLIN. La interacción no fue significativa en ninguno de los 3 parámetros. El tiempo afectó significativamente a la luminosidad (L*), tendencia al rojo (a*) y a la tendencia al amarillo (b*), mientras que el método de maduración tuvo un efecto significativo sobre a* y b*. Durante la maduración, la carne

resultó más oscura, menos roja y con menor tendencia al amarillo. Asimismo, con el método DRY la carne madurada resultó más roja y menos amarilla.

En cuanto a la textura (Tabla 3), la carne resultó más tierna tras 28 d de maduración comparado con la dureza inicial, y ya no evolucionó más al finalizar el periodo de 45d. Además, fue significativamente menos masticable (menor energía total) tras los 28 d de maduración comparado con la masticabilidad inicial.

Se puede concluir que existen diferencias entre los métodos de maduración estudiados principalmente en las pérdidas de peso y rendimiento vendible durante el proceso. No se pudo confirmar la hipótesis inicial ya que el método TUBLIN presentó mayores pérdidas de peso durante la maduración. Aunque a lo largo de la maduración las características de la carne fueron cambiando, éstas no difirieron de manera importante entre métodos.

Tabla 3. Test de Warner Bratzler del longissimus thoracis madurado en seco (DRY) o con bolsas permeable al vapor de agua (TUBLIN), tras 28 o 45 días de maduración. (t0: muestra tomada a los 48 h post mortem; LSM- medias por mínimos cuadrados; S.E.- error estándar).

	DRY		TUBLIN		P-valor		
	LSM	S.E.	LSM	S.E.	Método (M)	Tiempo(T)	MxT
Fuerza cizalla (kg)							
t0d	6,01 ^a	0,45	6,01 ^a	0,45	0,060	<,0001	0,372
t28d	2,14 ^b	0,49	3,39 ^b	0,45			
t45d	2,22 ^b	0,45	3,15 ^b	0,45			
Energía total (kg.mm)							
t0d	61,57 ^a	5,46	61,57 ^a	5,46	0,151	<,0001	0,545
t28d	24,45 ^b	6,00	36,67 ^b	5,46			
t45d	25,68 ^b	5,46	33,56 ^b	5,46			
Pendiente (g/mm)							
t0d	818,70 ^a	52,44	818,70 ^a	52,44	0,063	<,0001	0,278
t28d	275,92 ^b	57,61	451,92 ^b	52,44			
t45d	291,88 ^b	52,44	379,26 ^b	52,44			

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kim, Y.H.B., Ma, D., Setyabrata, D., Farouk, M.M., Lonergan, S.M., Huff-Lonergan, E., Hunt, M.C., 2018. Meat Sci.144: 74-90.
- Li, X., Babol, J., Bredie, W.L.P., Nielsen, B., Tománková, J., Lundström, K., 2014. Meat Sci. 97: 433-442.
- Moller, A., 1980. Meat Sci.5:247-260.
- Smith, G.C., Tatum, J.D., Belk, K.E., 2008. Aust J Exp Agric.48:1465-1480.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido cofinanciado por los proyectos POCTEFA EFA144/16/DIETAPYR2 y EFA216/16/ALBERAPASTUR. Los autores agradecen la colaboración de los técnicos Albert Rossell, Agustí Quintana, Adrià Pacreu y M. José Bautista.

AGEING OF BOVINE MEAT IN DRY AND TUBLIN BAG FOR 28 AND 45 DAYS

ABSTRACT:

In this study a comparison between two types of beef ageing was performed: dry ageing and ageing in a bag highly permeable to moisture. Six pieces of short sirloin from the same anatomic side of crossbreed Holstein x Angus were used. Each piece was divided in 4 portions, which were aged for 28 or 45 days with the two ageing methods (DRY and TUBLIN) (T= 1.0 ± 2.0 °C and Relative Humidity = 78 ± 20%). TUBLIN method presented lower sealable yield than DRY method, and lower thawing and cooking losses. Besides, ageing time affected colour parameters, L*a*,b* (CIE-Lab space) and texture (WB Shear Force test).

Keywords: dry ageing, Tublin bag, ageing in bag, meat quality.

EFECTO DE LA MADURACIÓN SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE AMPARADA POR LA IGP “VACA E BOI DE GALICIA”

García-Fontán¹, M.C., Moreno², T., Abrales¹, R., Crecente², S. y García¹, G.

¹ Centro Tecnológico de la Carne. Avda. Galicia nº 4-Parque Tecnológico de Galicia 32900. Ourense.

²Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo-AGACAL. Apto 10.15080 A Coruña
*caminogarcia@ceteca.net

INTRODUCCIÓN

La demanda actual de carne de calidad procedente de vacuno mayor, está experimentando un aumento en los últimos años, sobre todo en la restauración. Esta carne suele proceder de animales de rebaños reproductivos que por desveje o algún tipo de problema, ya no sirven para el fin al que estaban destinados y, después de una fase de cebo, se envían al matadero. Se trata de una carne muy apreciada por el consumidor debido a su gusto característico proporcionado principalmente por su alto contenido graso.

Con la puesta en marcha en el año 2017 de la nueva IGP de “Vaca e Boi de Galicia”, en la que se valoriza los animales de vacuno mayor nacidos, criados y sacrificados en Galicia, surge la oportunidad de crear un nuevo nicho de negocio, con el objetivo de que el valor añadido de la venta de estos animales, repercuta en las explotaciones gallegas.

La maduración es un proceso importante ampliamente estudiado en carne de vacuno, con el fin de encontrar su punto óptimo de ternera (Campo et al., 2000). Conocer las características tecnológicas del producto final, permitirá a las empresas comercializadoras disponer de la información óptima del periodo de maduración para proporcionar al consumidor una carne de máxima calidad. Resulta fundamental pues determinar la duración óptima del periodo de maduración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio, y transcurridas 48 horas postmortem, se utilizaron 16 chuleteros diseccionados entre la 5ª y la 12ª costilla procedentes de los lomos de las medias canales izquierdas de 16 vacas cebadas de raza Rubia Galega. Los chuleteros fueron colgados y madurados en una cámara de maduración con unas condiciones de 1°C y 80% HR, durante 30 y 60 días. Como control, se analizaron las muestras a 0 días.

Para evaluar la calidad de la carne, en cada punto de muestreo y para cada chuletero, se obtuvieron del músculo *Longissimus thoracis* 4 filetes de 1 cm de grosor y 1 filete de 2 cm. Se determinó el recuento de aerobios mesófilos totales (ISO 4833:2003), enterobacterias (ISO 21528-2:2004) y *Pseudomonas* sp. (ISO13720-2:2010). El pH se determinó usando un pHmetro portátil equipado con electrodo de penetración de 6 mm de diámetro y una sonda de temperatura (Presidencia del Gobierno, 1979). La determinación del color del músculo y de la grasa subcutánea, se realizó con un colorímetro CM-600d Konica Minolta; usando el sistema de coordenadas de color CIE (1976), determinando las coordenadas cromáticas L* (luminosidad), a* (índice de rojo) y b* (índice de amarillo). La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó mediante las pérdidas por cocción y las pérdidas por goteo, según los métodos propuestos por la OECD (Honikel, 1997). La determinación de la dureza se llevó a cabo mediante la célula Warner-Bratzler (WB) con una velocidad de ensayo en 3,33 mm/s, empleando una célula de carga de 30 kg y una fuerza de contacto de 2 kg (Honikel, 1997). El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el programa estadístico SPSS (versión 19.0, EEUU). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para estudiar el efecto del tiempo de maduración sobre la calidad de la carne de vacas de raza Rubia Galega. 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 se recogen los valores medios de los parámetros físico-químicos del músculo *Longissimus thoracis* de vacas de Rubia Galega a lo largo del periodo de maduración. Los valores de pH mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en función del tiempo de maduración, siendo la carne madurada durante 60 días, la que presentó valores más altos (5,78). Nuestros valores de pH (5,59-5,78) se encuentran dentro de los valores observados

por otros autores para carne de vacuno madurada en seco (DeGeer y col., 2009; Li y col., 2014; Lida y col., 2016; Berger y col., 2018;). A pesar de haber diferencias significativas, el nivel de significación fue <0,05 unidades, lo que probablemente no afecte a los resultados de la maduración.

Tabla 1. Influencia del tiempo de maduración sobre las propiedades físico-químicas del músculo *Longissimus thoracis* de vacas cebadas de raza Rubia Galega.

	Tiempo Maduración			EE	Significancia
	0 días	30 días	60 días		
pH	5,59 ^a	5,61 ^a	5,78 ^b	0,03	*
<i>Parámetros color grasa subcutánea</i>					
L*	69,51 ^a	62,19 ^b	63,69 ^b	0,92	**
a*	6,26	6,41	6,23	0,29	n.s.
b*	29,45	28,44	28,19	0,64	n.s.
<i>Parámetros color magro</i>					
L*	34,4 ^a	37,04 ^b	38,25 ^b	0,41	***
a*	16,46 ^a	21,11 ^b	19,62 ^c	0,37	***
b*	11,74 ^a	15,47 ^b	15,44 ^b	0,33	***
<i>Parámetros de textura (Warner Bratzler)</i>					
CRA cocción (%)	24,99 ^a	23,53 ^a	17,54 ^b	0,65	***
CRA goteo (%)	1,35 ^a	1,05 ^b	1,04 ^b	0,04	***
Pendiente (Kg/sg)	1,09 ^a	0,89 ^b	0,65 ^c	0,04	***
Trabajo (Kg*mm)	20,30 ^a	15,28 ^b	11,83 ^c	0,78	***
Fuerza (Kg/cm ²)	4,04 ^a	3,08 ^b	2,29 ^c	0,15	***

a-c Valores con distintos superíndices para cada uno de los tiempos de maduración fueron significativamente diferentes (P<0,05). Niveles de significación: *** (P<0.001), ** (P<0.01), * (P<0.05), n.s. = P≥0.05

En cuanto a la evaluación del color de la grasa subcutánea, solamente se encontraron diferencias significativas (P<0.01) para los valores de L* a los 30 y 60 días de maduración (62,19 y 63,69 respectivamente) con respecto a los valores encontrados a las 48h posmortem (34,4). Los parámetros de color (L*, a* y b*) fueron significativamente (P<0,001) afectados por el tiempo de maduración, mostrando los valores más elevados a los 60 días para L* y b* pero no así para a* cuyo valor más alto se observó a los 30 días, lo que nos indica que la carne es más oscura (21,11) que la de 0 días (16,46) o que la de 60 días (19,62). Los valores de los parámetros de color hallados en este estudio fueron superiores a los encontrados Hulánková y col., 2018, e inferiores a los encontrados por Kim y col., 2016, para carne madurada durante 3 semanas.

La maduración tuvo un efecto positivo sobre la ternera y así lo demuestra el hecho de que la carne que mostró una menor fuerza de corte, y que por tanto resultó ser la más tierna, fue la de 60 días (2.29 Kg/cm²) diferenciándose significativamente (P<0,001) de la muestra madurada 30 días (3,08) y del control (4,04). Estos resultados son coincidentes con aquellos autores que señalan una mejora de la ternera de la carne conforme transcurre la maduración (Franco y col., 2008; Ahnström y col., 2006; Kang y col., 2017; Hulánková y col., 2018).

Los recuentos (Log ufc/g) obtenidos para todos los grupos microbianos estudiados, aumentaron significativamente a lo largo del periodo de maduración (figura 1). Los valores observados para las muestras a 0 y 30 días (1,09±0,29 vs 3,17±1,33 log ufc/g para aerobios mesófilos; ausencia en 10 g vs. 1,00±0,94 log ufc/g para enterobacterias y ausencia en 10 g vs. 4,34±0,81 log ufc/g para *Pseudomonas* spp., respectivamente) indican una calidad de la carne, desde el punto de vista microbiológico, buena y son similares a los encontrados en otros estudios que versan sobre maduración seca de carne de vacuno (Campbell y col., 2001; Ahnström y col., 2006; DeGeer y col., 2009; Li y col., 2013; Li y col., 2014).

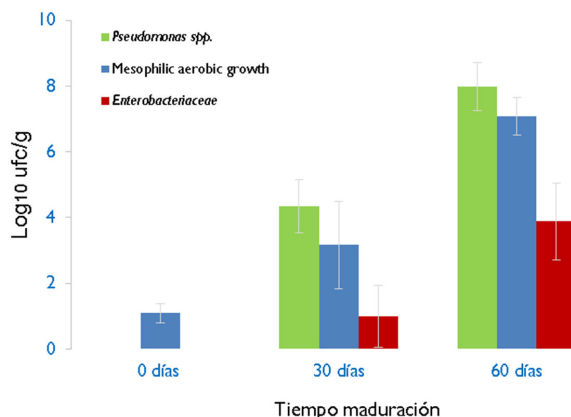


Figura 1. Recuentos (Log ufc/g) de aerobios mesófilos, enterobacteriaceae y *Pseudomonas* spp durante la maduración del músculo *Longissimus thoracis* de vacas de raza Rubia Galega

A los 60 días de maduración, los recuentos obtenidos para aerobios mesófilos (7,08±0,58 log ufc/g) y para *Pseudomonas* spp. (7,99±0,73 log ufc/g), superaron en 1 unidad logarítmica el límite máximo permitido por la ICMSE (1984) para considerar una carne apta para el consumo y que está establecido en 6 log ufc/g.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Campo y col., 2000. Meat Sci. 55 (4):371-378 • DeGeer y col., 2009. Meat Sci. 83: 768-774 • Hulánková y col., 2018. LWT-Food Sci.Tech. 89: 559-565. • Kang y col., 2017. ICOMST: 1014 p. • Li y col., 2013. Meat Sci. 95: 229-234. • Berger y col., 2018. Meat Sci. 145: 285-291. • Lida y col., 2016. Meat Sci. 112: 46-51. • Li y col., 2014. Meat Sci. 97: 433-442. • Campbell y col., 2001. J. Food Sci. 66: 196-199. • Brad Kim y col., 2016. Meat Sci. 111: 168-176. • Franco y col., 2008. Revista Argentina de Producción Animal, 28(1): 39-44. • Ahnström y col., 2006. Meat Sci. 73(4): 674-679. • ICMSE. (1984). Ecología Microbiana de los Alimentos Volumen 2. Productos alimenticios. Acribia, Zaragoza. • Honikel, 1997. Food Chem. 5:573-582. • CIE, 1978. Supplement to CIE publication No. 15 (E-1.3.1) 1971/(TO-1.3).

Agradecimientos: Este trabajo forma parte de un proyecto del Grupo Operativo Feader 2018/031B de la AEI de la Consellería de Medio Rural de la Xunta de Galicia.

TITLE: AGEING EFFECT ON THE BEEF QUALITY GUARANTEED BY THE PROTECTED GEOGRAPHICAL INDICATION 'GALICIAN COW AND STEER'

ABSTRACT: The effect of ageing times on instrumental and microbial parameters as quality parameter of the *Longissimus thoracis* muscle from "Rubia Galega" cow was assessed. Sixteen samples were ageing for 30 and 60 days at 1°C-80%HR. After ageing period, meat was tested for pH, instrumental colour, water holding capacity, shear force and microbial analysis (total aerobic mesophilic, Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp.). Microbial analysis revealed an increase in the total microbial load during the course of aging. A good microbiological quality of the meat has been observed until 30 days of aging. The dry aging of beef increased the tenderness of loin muscle in all tested times. The ageing time had effect on the parameters colour (L*, a*, b*) and in general, the aged cow loin were darker with longer ageing time.

Keywords: Protected geographical indication, ageing effect, beef quality, Galician cow and steer

EVOLUCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE DETERIORO EN CARNE DE BOVINO REFRIGERADA ENVASADA AL VACÍO

Silva^{1,2}, J.L., Cadavez², V., Machado¹, M.A.M., Figueiredo¹, E.E.S. y Gonzales-Barron², U.

¹Universidade Federal de Mato Grosso, 78060-900 Cuiabá Mato Grosso, Brasil

² Centro de Investigação de Montana (CIMO), Escola Superior Agraria, Instituto Politécnico de Bragança, 5300-253 Bragança, Portugal; ubarron@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

La carne es un alimento propicio para la proliferación de microorganismos, y por tanto de alto carácter perecedero, debido a su alto valor nutricional, nivel de acidez y tenor de agua libre. El grado de deterioro de la carne se evalúa de acuerdo al crecimiento microbiano y los metabolitos por ellos producidos. Se estima que una canal de bovino, procesada en condiciones higiénicas, puede presentar cargas de mesófilos aeróbicos entre 10^3 e 10^4 UFC/cm² (Roça y Serrano, 1995). Cuando la población bacteriana alcanza entre 10^6 a 10^7 UFC/cm², el mal olor se torna perceptible, y al llegar a los 10^8 la carne ya presenta limosidad externa. Bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus* y *Enterobacteriaceae* son los principales responsables por el deterioro (Jay, 2005). Una forma de retardar el crecimiento microbiano y extender el tiempo de vida de la carne es mediante el envasado al vacío. El objetivo de este estudio fue evaluar y caracterizar el efecto de la temperatura de refrigeración (1°C y 4°C) en la cinética de las bacterias mesófilas y ácido-lácticas en carne de bovino, de procedencia brasileña, envasada al vacío.

MATERIAL Y MÉTODOS

Todos los cortes de bife (*Longissimus dorsi*) utilizados en este experimento fueron adquiridos en un matadero localizado en Mato Grosso (Brasil), que funciona bajo el Servicio de Inspección Federal. Para el experimento a 1°C, se cortó 15 bifés de 100 g, que fueron envasados individualmente al vacío, y luego almacenados en refrigeración a 1°C por 21 días en cámara climática (BOD, Biotech). Cada 24 o 48 horas, se retiró muestras para análisis hasta totalizar 15 puntos en el tiempo al cabo de 21 días (504 h). Para el experimento a 4°C, otros 45 bifés de 100 g fueron envasados al vacío y refrigerados a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ por 60 días en la misma cámara climática. Se analizó muestras de carne cada 24, 48 o 168 horas, hasta completar los 60 días (1440 h) en 15 puntos en el tiempo. Para la cuantificación de mesófilos y bacterias ácido-lácticas, realizado a lo largo del tiempo y también en el tiempo cero, se empleó el método APHA (2015) descrito por Silva et al. (2017) utilizando 10 g de muestra. Los análisis fueron hechos en duplicado para el experimento a 1°C y en triplicado para el experimento a 4°C. Los recuentos como unidades formadoras de colonia (UFC) fueron convertidos a log UFC/g. Para extraer los parámetros cinéticos de carga microbiana inicial (Y_0 en ln UFC/g), carga microbiana máxima (Y_{\max} en ln UFC/g) y tasa máxima de crecimiento (μ_{\max} en ln UFC/h), se ajustó el modelo de Huang (2003) a cada una de las cuatro curvas experimentales, utilizando el software R. Cabe resaltar que los parámetros ajustados en el modelo de Huang están expresados en logaritmo natural y no en logaritmo base 10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ninguna de las curvas experimentales presentó fase lag, lo cual sugiere que los microorganismos cuantificados ya se encontrarían por lo menos en el inicio del desarrollo exponencial en el momento de los análisis (Tabla 1; Figuras 1 y 2). Las concentraciones iniciales (Y_0) de bacterias ácido-lácticas fueron bajas, en el orden de 3,53 ln UFC/g a 1°C y 3,17 ln UFC/g a 4°C, mientras que las de los mesófilos totales fueron más altas, de 4,33 y 5,71 ln UFC/g para las temperaturas de 1°C y 4°C, respectivamente. Como era de esperar, los microorganismos mesófilos y ácido-lácticos tuvieron un desarrollo más acelerado en la carne almacenada a 4°C (0,027 y 0,021 ln UFC/h) que en las que fueron almacenadas a 1°C (0,017 y 0,011 ln UFC/h). Tanto para los mesófilos como para las bacterias ácido-lácticas, la carga máxima fue más baja a 1°C con valores de 13,40 y 6,083 ln UFC/g, respectivamente. En un estudio realizado por Reid et al. (2017), donde analizaron mesófilos viables en carne bovina, también envasada al vacío, pero almacenada a 2°C durante 6 semanas, cuantificaron recuentos que iban desde los 6,21 ln CFU/cm² hasta los 13,57 ln CFU/cm², mientras que las bacterias ácido-lácticas se desarrollaron desde una concentración inicial de 3,63 ln UFC/cm² hasta 11,34 ln UFC/cm² en 6 semanas.

Tabla 1. Medias y errores estándar (EE) de los parámetros cinéticos de carga microbiana inicial (Y_0 en ln UFC/g), carga microbiana máxima (Y_{max} en ln UFC/g) y tasa máxima de crecimiento (μ_{max} en ln UFC/h) para los microorganismos mesófilos y bacterias ácido-lácticas en carne de bovino envasada al vacío y almacenada en refrigeración a 1°C y 4°C.

Bacteria	Temperatura	$Y_0 \pm EE$	$Y_{max} \pm EE$	$\mu_{max} \pm EE$
Mesófilos	1°C	4,33 ± 0.535	13,40 ± 1,581	0,017 ± 0,0020
	4°C	5,71 ± 0.165	20,19 ± 0,127	0,027 ± 0,0007
Ácido-lácticas	1°C	3,53 ± 0.408	6,08 ± 0,496	0,011 ± 0,0055
	4°C	3,17 ± 0.210	10,93 ± 0,133	0,021 ± 0,0014

A la temperatura de 4°C, las concentraciones máximas en la carne fueron de 20,19 ln UFC/g para los mesófilos y 10,93 ln UFC/g para las ácido-lácticas. Además, cabe destacar que los mesófilos y bacterias ácido-lácticas alcanzaron notoriamente la fase estacionaria a la temperatura de 4°C. Observando la Figura 1 (derecha), se espera que la carne esté cerca del deterioro a las 500 horas de almacenamiento a 4°C, que es cuando la carga de mesófilos alcanza ~20 ln UFC/g; no obstante, son todavía necesarios obtener recuentos de *Pseudomonas* spp y psicrotrofos para confirmar esta hipótesis. Evaluando bacterias mesófilas en carne de bovino refrigerada a 4°C, Moon et al. (2017) observaron un aumento de más de 2,3 ln UFC/g en un periodo de 7 días hasta una concentración final de 11,5 ln UFC/g. De este estudio se deduce que, a pesar que el uso de envasado al vacío retarda los procesos de deterioro microbiana, una transición de 1°C para 4°C es suficiente para duplicar las velocidades de crecimiento de las bacterias mesófilas y ácido-lácticas en la carne de bovino. Por lo tanto, durante el transporte, distribución y exposición de las carnes, es imperativo que se mantenga la cadena de frío.

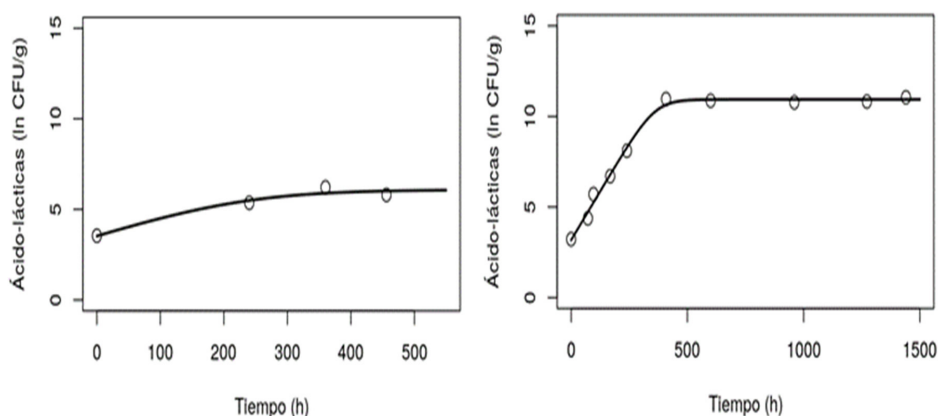


Figura 1. Curvas de crecimiento, experimentales y ajustadas, de los microorganismos mesófilos en carne de bovino envasada al vacío y refrigerada a 1°C (izquierda) y a 4°C (derecha).

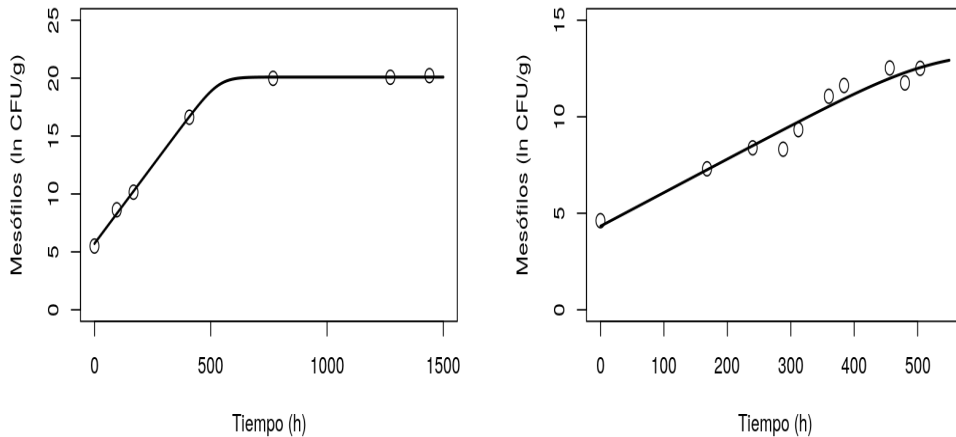


Figura 2. Curvas de crecimiento, experimentales y ajustadas, de los microorganismos ácido-lácticos en carne de bovino envasada al vacío y refrigerada a 1°C (izquierda) y a 4°C (derecha).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Huang, L. (2003). *Int J Food Microbiol.* 87, 217-227. • Jay, J. M. (2005). *Microbiología de Alimentos: Capítulo 4*; 6.ª ed. Porto Alegre: Artmed. • Moon, H.; Kim, N. H.; Kim, S. H.; Kim, Y.; Ryu, J. H.; Rhee, M. S. (2017). *Meat Sci.* 129,147-152. • Ried, R., Fanning, S., Whyte, P., Kerry, J.; Bolton, D. (2017). *Meat Sci.* 125, 46-52. • Roça, R. O.; Serrano, A. M. (1995). *Hig. Aliment.* 35, 8-13. • Silva, N., Junqueira, V. C. A. J., Silveira, N. F. A., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R.; Okazaki, M. M. (2017). *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.* Capítulos 6 e 14; 5ª ed. São Paulo: Blucher.

Agradecimientos: Los autores desean agradecer a la Universidad Federal de Mato Grosso – Brasil, la CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) - Brasil, por el apoyo al doctorando Jorge Luiz da Silva, becario de la Capes en el Programa de Doctorado Sandwich en el Exterior – PDSE edital 047/2017/Processo nº 88881.189927/2018-01.

MODELLING MESOPHILES AND LACTIC ACID BACTERIA IN VACUUM-PACKED BEEF DURING REFRIGERATED STORAGE

ABSTRACT: The objective of this study was to model the behavior of mesophilic microbiota and lactic acid bacteria (LAB) in vacuum-packed beef under refrigerated storage at 1°C (21 days) and 4°C (60 days). The Huang model was fitted to each treatment using the R software. Results showed that a change in refrigeration temperature, from 1°C to 4°C, nearly doubled the growth rate of mesophiles, from 0.017 to 0.027 ln CFU/h. Similarly, going from 1°C to 4°C, LAB growth rate increased from 0.011 to 0.021 ln CFU/h. Only at 4°C, the growth curves presented stationary phase at 20.2 ln CFU/g for mesophiles and 10.9 ln CFU/g for LAB. In addition, it was estimated that, when stored at 4°C, vacuum-packed beef meat can have a shelf life of ~20 days, although other analysis, such as psychrotrophic bacteria and *Pseudomonas* spp. should be carried out in order to confirm this preliminary estimate.

Keywords: meat quality, mesophiles, lactic acid bacteria, predictive microbiology

EVOLUCIÓN DE LA LUMINOSIDAD Y LOS PROCESOS OXIDATIVOS DURANTE LA MADURACIÓN DE LA CARNE DE TERNEROS DE RAZA RETINTA EN CASOS DFD

García-Torres, S., Cabeza de Vaca, M., Romero-Fernández, M.P. y Tejerina, D.
Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX).
garsus15@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Para la industria cárnica, la aparición de canales calificadas como DFD (dark, firm and dry, por sus siglas en inglés), supone pérdidas económicas importantes debido a la baja aceptación por parte de los consumidores, lo que conlleva una gran dificultad de comercialización, ya que da lugar a carnes oscuras y secas y otros problemas como la estabilidad microbiológica (Shange *et al.*, 2018). Este defecto está relacionado con el estrés de los animales *ante-mortem*, donde participan factores intrínsecos como la raza o el propio individuo, así como también factores extrínsecos como el sistema de producción, el manejo o el transporte al matadero. Concretamente, la mezcla de animales antes y durante el transporte genera mayor estrés y, por lo tanto, aumenta la incidencia de carne DFD (Kreikemeier *et al.*, 1998; Pérez-Linares *et al.*, 2008).

La raza Retinta constituye una raza de gran interés en las zonas ganaderas de vacuno en el Suroeste de la Península Ibérica debido a su alta rusticidad y adaptación a las explotaciones de dehesa con clima mediterráneo. Su carne es muy apreciada ya que tiene un bajo contenido de grasa intramuscular (2-3%) y su contenido de ácidos grasos es más deseable que el de otras razas mejoradas (Horcada *et al.*, 2016). El periodo de maduración de la carne es determinante de la terneza y sus máximos de calidad, pero durante este proceso se producen otras alteraciones de los parámetros de calidad que afectan, entre otros parámetros al color y a los procesos oxidativos de lípidos y proteínas.

El objetivo de este trabajo es valorar la evolución del color y los procesos oxidativos de proteínas y lípidos durante la maduración de la carne de terneros de raza Retinta en casos DFD frente a carne calificada como normal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se dispuso de 22 terneros de la raza Retinta que fueron distribuidos aleatoriamente para ser engordados en 4 lotes experimentales: dos en extensivo y dos en intensivo. En el momento del transporte al matadero, los animales fueron transportados atendiendo a dos condiciones: 1) mezcla de animales procedentes de los dos lotes experimentales de engorde en función del sistema de producción, y 2) No-mezcla, respetando el lote de engorde en el transporte. Tras 24 horas *postmortem*, se tomaron las muestras de lomo correspondientes a la zona situada entre la 6ª y 13ª costillas. A continuación, fueron transportadas hasta las instalaciones de CICYTEX donde fueron fileteadas y maduradas en refrigeración (4°C) envasadas a vacío durante 0, 3, 7 y 14 días. El pH de todas las muestras se midió a las 24 horas tras el sacrificio con un electrodo de punción sobre la canal (pH₂₄) que permitió la clasificación de la carne en normal (pH<5,9) o DFD (pH≥5,9). En cada uno de los días de maduración fijados, se midió el color CIEL (L*,a*,b*), la oxidación lipídica mediante la reacción con el ácido tiobarbitúrico (Salih *et al.*, 1987) y el nivel de oxidación proteica mediante la capacidad de unión con DPPH (Oliver *et al.*, 1987). Los resultados obtenidos se evaluaron mediante el programa SPSS 15.0 (SPSS, 2005) utilizando para ello el Análisis de Varianza (ANOVA) y el test de tukey (para comparación de medias) con uno (clasificación DFD) o dos factores fijos (sistema de producción y condiciones del transporte).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

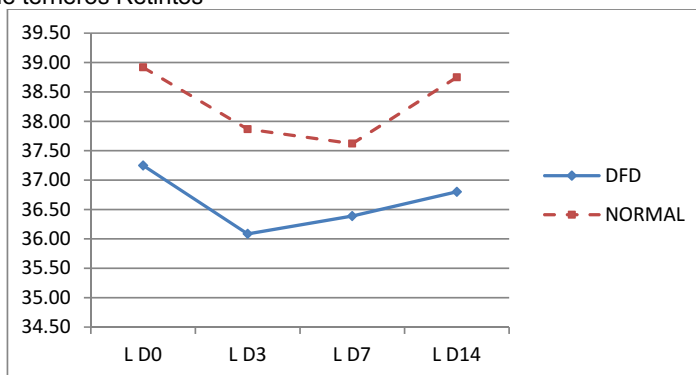
El resultado de la incidencia de casos de carne DFD (pH≥5,9) se observa en la tabla 1. Frylinck *et al.* (2013) observaron una mayor frecuencia de casos DFD en animales criados en extensivo para cruces de la raza Brahman. Según la bibliografía, los sistemas de producción afectan a los animales que muestran un comportamiento social diferente, dado que en los sistemas de producción intensiva existe una mayor competencia por el

espacio, y a veces por el alimento, que en los sistemas de producción extensivo (Miranda-de la Lama *et al.*, 2013). Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio para terneros de raza Retinta, observamos una mayor incidencia de casos con valores de $pH \geq 5,9$, en terneros engordados en intensivo frente al extensivo. A pesar de que el resultado estadístico por lote experimental no muestre diferencias significativas en el pH_{24} , se identificaron casos de carne DFD en los animales estudiados. Así en la tabla 1, se puede observar la incidencia de casos DFD en cada uno de los lotes experimentales siendo ligeramente mayor el porcentaje de carne DFD cuando los animales se habían engordado en intensivo y se mezclaban en el transporte al matadero. Se observaron menor número de casos DFD en los terneros engordados en extensivos a pesar de la conclusión de Hargreaves *et al.* (2004), que indicaron el posible aumento de casos DFD debido a la posible baja calidad energética en los músculos de los animales en este sistema de producción.

Tabla 1. Porcentaje de la incidencia de carnes clasificadas DFD ($pH \geq 5,9$) en la raza Retinta en función del sistema de producción y las condiciones de transporte

	Extensivo		Intensivo	
	Mezcla (n=6)	No Mezcla (n=5)	Mezcla (n=6)	No Mezcla (n=5)
pH normal	100%	40%	33,33%	40%
DFD	—	60%	66,66%	60%

Figura 1. Evolución de la luminosidad (L^*) a lo largo de la maduración en la carne DFD de lomo de terneros Retintos



En cuanto al color, la evolución del parámetro luminosidad (L^*) a lo largo del periodo de maduración en carne de raza Retinta, se muestra en la figura 1. Se observó que los valores de luminosidad a lo largo del periodo de maduración estudiado, y de acuerdo con los resultados obtenidos por Zhang *et al.* (2005), fueron más bajos en el caso de la carne DFD que en la carne con pH normales. Si bien estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0,05$), son acordes con las características de la carne DFD. Las características de una carne DFD, además de afectar al color de la carne y a su contenido en agua, pueden afectar a otros aspectos como el estado de oxidación de lípidos y proteínas, a lo largo del periodo de maduración estudiado. Así, en la tabla 2 se observan los resultados de la oxidación de proteínas y de lípidos, obtenidos en el día 0 (24 horas *post-mortem*) y tras 3, 7 y 14 días de maduración. Los valores observados indican que no existen diferencias en los valores de oxidación durante la maduración de la carne, entre la carne DFD y la carne clasificada como normal. Únicamente se mostraron diferencias significativas en la oxidación de proteínas tras tres días de maduración. En este caso, la carne DFD mostró valores significativamente mayores que la carne de pH normal.

A modo de conclusión podemos decir que, en el caso de los terneros de raza Retinta, el sistema de producción intensivo dio lugar a un mayor número de canales DFD, tanto si hubo mezcla o no de animales durante el transporte. Desde el punto de vista de la calidad, la luminosidad mostró valores más bajos en la carne DFD pero no hubo diferencias estadísticas con los valores de la carne normal. Por otra parte, respecto al estado de oxidación de proteínas y lípidos, la carne DFD no mostró un patrón diferente a la carne normal, en el estado oxidativo durante la maduración, salvo en el día 3 de maduración, donde los valores fueron superiores para las muestras DFD ($p \leq 0,05$). Probablemente un tamaño muestral mayor, podría mostrar diferencias estadísticas en la tendencia de los resultados, en la luminosidad con valores menores para la carne DFD y en la oxidación de proteínas con mayores valores en la carne DFD de Retinto.

Tabla 3. Procesos de oxidación durante la maduración de carne DFD

	Carne Normal	Carne DFD	EEM	Significación
<i>Oxidación de proteínas</i>				
Día 0	1,983	2,058	0,0638	ns
Día 3	1,720	2,018	0,0698	*
Día 7	2,053	2,223	0,0937	ns
Día 14	2,036	2,168	0,0499	ns
<i>Oxidación de lípidos</i>				
Día 0	0,0315	0,022	0,0029	ns
Día 3	0,0263	0,030	0,0016	ns
Día 7	0,0439	0,050	0,0031	ns
Día 14	0,0538	0,058	0,0051	ns

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ferguson DM & Warner RD. 2008. Meat Sci; 80:12–9.
- Hargreaves, A.; Barrales, L.; Larrain, R. & Zamorano, L. 2004. Cien. Inv. Agr. 31 (3), 145-229.
- Horcada, A., Polvillo, O., Juárez, M., Avilés, C., Martínez, A.L., & Peña, F. 2016. Journal of Food Composition and Analysis 49 (2016) 110–116.
- Miranda-de la Lama GC, Villarroel M & María GA. 2014. Meat Sci;98: 9–20.
- Shangea, N., Makasia, T. N., Gouwsa, P., Hoffman, L. 2018. Meat Science, 135: 14-19.
- Zhang, S. X., Farouk, M. M., Young, O. A., Wieliczko, K. J., & Podmore, C. 2005. Meat Science, 69, 765–772.

Agradecimientos: El presente trabajo se ha financiado con el Proyecto **INIA RTA2014-00034-C04-00** y cofinanciado con Fondos **FEDER**. Los autores agradecen al personal auxiliar de campo de la Finca Valdesequera y al del laboratorio del Área de calidad de carne de CICYTEX su ayuda en el desarrollo de este proyecto.

LIGHTNESS AND OXIDATIVE PROCESSES EVOLUTION DURING THE AGEING OF RETINTA BREED IN DFD MEAT CASES

ABSTRAC: In this study, the incidence of meats classified as DFD in Retinto calves was higher for the calves fattened in intensive production systems and transported mixed with others animal. The luminosity parameter (L^*) was lower, although not statistically different, than in the meat of normal pH. From the point of view of the oxidative processes along the meat aging, there were not differences except on day 3 of aging, where a higher level of protein oxidation was observed in DFD meat.

Keywords: DFD, transport, ageing, protein and lipid oxidation

SOLUBILIDAD DEL COLÁGENO Y TEXTURA DE LA CARNE BOVINA COCINADA AL VACÍO: EFECTO DEL TIEMPO DE MADURACIÓN Y DE LA TEMPERATURA DE COCINADO

Panea, B. y Ripoll, G.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. bpanea@aragon.es

INTRODUCCIÓN

La cocina al vacío aporta nuevas texturas y mejora las condiciones higiénico-sanitarias. En carne se usan temperaturas bajas, típicamente entre 55°C y 70°C. Pero en ese rango hay transformaciones estructurales en el músculo que afectan a la textura (Christensen *et al.*, 2013, Palka, 2003, Purslow *et al.*, 2016). El grado en que el calor afecta a la textura varía en función del tiempo de maduración y de la raza (Kolczak *et al.*, 2007, Panea *et al.*, 2010). El objetivo del presente trabajo fue estudiar, en dos razas bovinas de aptitudes diferentes, los cambios que ocurren en la textura de la carne y la solubilidad del colágeno en función de la temperatura de cocinado y el tiempo de maduración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 13 añejos machos de raza Pirenaica (400 días de edad y 173 Kg. PCF) y 12 de raza Frisona (300 días de edad y 113 Kg. PCF) A las 24 horas *post-mortem* se extrajo el m. *Longissimus thoracis et lumborum*, se midió el pH y se obtuvo un filete de 1 cm de espesor para cuantificar el colágeno en carne cruda (Bonnet y Kopp, 1984). La muestra se envasó al vacío y se congeló a -20°C con 1 día de maduración. El resto del lomo según un diseño factorial con tres tiempos de maduración (7, 14, 21 días) y 4 temperaturas de cocinado para la textura (crudo, 55°C, 65°C y 70°C), o 3 para el colágeno insoluble (Bonnet y Kopp, 1984) y las pérdidas por cocinado (55°C, 65°C y 70°C). Se midió el esfuerzo WB (N/cm²) en configuración longitudinal y la fuerza de compresión al 20%, (C₂₀) 80% (C₈₀) y 100% (N/cm²), con un Instron 5543. Los análisis estadísticos se han realizado intra-raza (SPSS 13.0.) ya que la comparación racial no es el objetivo del trabajo. El efecto de la maduración y temperatura se estudiaron con un GML. Se calcularon las medias y error estándar para todas las variables estableciendo las diferencias entre medias con un test de Duncan ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH₂₄ fue de 5,5, normal para la especie y permite descartar efectos sobre el resto de las variables. La maduración tuvo escaso efecto, pero la temperatura afectó a todas las variables (Tabla 1) excepto al esfuerzo WB en la Pirenaica ($p=0,102$) y al C₂₀ en la Frisona ($p=0,103$). Las pérdidas por cocinado (Figura 1) oscilaron entre el 12% y el 20% en la Pirenaica (e.e.=0,9) y aumentaron gradualmente al hacerlo la temperatura. En la Frisona variaron entre el 9% y 16% (e.e.= 0,7), con un aumento entre 55°C y 65°C. Estos valores coinciden con los de otros autores en las mismas razas (Barahona *et al.*, 2016, Panea *et al.*, 2008). La mayoría de los autores señalan que la maduración no afecta a las pérdidas por cocinado (Aaslyng *et al.*, 2003, Hughes *et al.*, 2014) pero el efecto de la temperatura está ampliamente demostrado. Según Hughes *et al.*, (2014), hacia los 65° C hay un gran movimiento de agua dentro del filete porque se aúnan la contracción del colágeno y la de las fibras musculares, pero Purslow *et al.*, (2016) concluyen que por encima de los 42°C las pérdidas se deben sólo a la contracción de las fibras musculares. La cantidad de colágeno total fue de 5,2 mg/g en la raza Pirenaica y de 5,3 mg/g en la Frisona, ($p=0,446$). En cuanto al insoluble, fue de 2,5 mg/g para la Pirenaica y de 2,4 mg/g para la Frisona ($p=0,496$). Los valores coinciden con los de otros autores en las mismas razas (Panea, 2002). En la Pirenaica, la cantidad de insoluble aumentó con la temperatura, pero en la Frisona se encontró una interacción maduración-temperatura, de acuerdo con Palka (2003). Powell *et al.*, (2000) señalan que la fracción soluble no aumenta con la temperatura en el rango 50°C-70°C. En ambas razas, se encontró un descenso del C₂₀ y del C₈₀ al pasar de crudo a 55°C, manteniéndose a partir de entonces. Para el C₁₀₀, existe en ambas razas un descenso hasta 55°C y un plato entre 55°C y 65°C, pero a partir de 65°C

desciende en la Pirenaica y se mantiene constante en la Frisona. El esfuerzo WB no se vio afectado por la temperatura en la Pirenaica pero en la Frisona aumentó progresivamente a partir de los 55°C. Las diferencias entre carne cruda y cocinada son tan grandes que enmascaran las diferencias debidas a la temperatura de cocinado. Si se elimina la carne cruda del análisis, el paso de 65°C a 70°C produce un ligero incremento en los valores de C₂₀, C₈₀ y esfuerzo WB y un ligero descenso en los valores de C₁₀₀. Los valores encontrados coinciden con los de otros autores (Monson *et al.*, 2004, Panea, 2002). Nuestros resultados parecen indicar que entre 55°C-65°C, el colágeno se está solubilizando y no ejerce un efecto sobre la textura.

Tabla 1. Valor de *p* de los efectos estudiados (tiempo de maduración y temperatura) sobre las variables estudiadas en carne de dos razas bovinas

	PIRENAICA			FRISONA		
	M	T	MxT	M	T	MxT
Esfuerzo WB (N/cm ²)	0,070	0,102	0,748	0,108	0,017	0,774
C ₂₀ (N/cm ²)	0,013	0,000	0,038	0,789	0,103	0,860
C ₈₀ (N/cm ²)	0,230	0,004	0,400	0,513	0,004	0,234
C ₁₀₀ (N/cm ²)	0,284	0,020	0,341	0,346	0,005	0,469
Colágeno insoluble (mg/g)	0,084	0,000	0,189	0,348	0,000	0,017
Pérdidas por cocinado (%)	0,421	0,000	0,631	0,907	0,000	0,057

Tabla 2. Medias para la cantidad de colágeno insoluble (mg/g músculo) en la carne de dos razas bovinas

		Temperatura de cocinado		
		55°C	65°C	70°C
FRISONA	7 días	2,93 a	4,63 b	4,08 b
	14 días	3,56	5,26	4,21
	21 días	2,88 a	3,97 b	5,50 c
PIRENAICA		3,35 a	4,21 b	4,93 c

a,b,c.- letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre temperaturas ($p < 0,05$).

Agradecimientos: Trabajo financiado por el proyecto INIA RTA2013-0046-C03. A Carolina Albertí y Rocío Elías por el trabajo en el laboratorio. Los autores forman parte de la red CYTED MARCARNE (116RT0503).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aaslyng MD (2003). Food Qual.Pref. 14, 277-288.
- Barahona M (2016). Animal 10, 709-17.
- Bonnet M (1984). Cah. Tech. INRA 5, 19-30.
- Christensen L (2013). Meat Sci. 93, 787-95.
- Hughes JM (2014). Meat Sci. 98, 520-532.
- Kolczak T (2007). Meat Sci. 75, 655-60.
- Monson F (2004). Meat Sci. 68, 595-602.
- Palka K (2003). Meat Sci. 64, 191-198.
- Panea B (2002). Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. 226 pp.
- Panea B (2008). Spanish J. Agric. Res. 6, 546-558.
- Panea B (2010). ITEA 106, 77-88.
- Powell (2000). Meat Sci. 54, 307-311.
- Purslow (2016). Food Res. Int. 89, 739-748.

TITLE: COLLAGEN SOLUBILITY AND BEEF MEAT TEXTURE UNDER VACUUM-COOKING: EFFECT OF COOKING TEMPERATURE AND AGEING TIME

ABSTRACT: Sous-vide or under-vacuum cooking is being used increasingly in restoration because it has several advantages, but both vacuum pressure and the cooking temperature affect meat texture. This paper investigates, in two cattle breeds of different aptitudes, meat texture and collagen solubility in function of the cooking temperature and ageing time. 13 animals from Pyrenean breed and 12 from Frisona breed were used. Muscle *Longissimus*

thoracis et lumbrorum was chopped following a design of three ageing times (7, 14, 21 days) and 3 or 4 cooking temperatures: raw, 55°C, 65°C and 70°C for texture, 55°C, 65°C and 70°C for insoluble collagen and cooking losses. Ageing had less effect than temperature. The solubility of collagen is slightly affected by the temperature in the range 50°C-70°C, although the conformational changes in the muscle. In general, toughness decreased until to 55° C and increased slightly since then. In view of the results, we would not recommend cooking the meat above 65° C since above it texture would be adversely affected.

Keywords: toughness, ageing, solubility, temperature

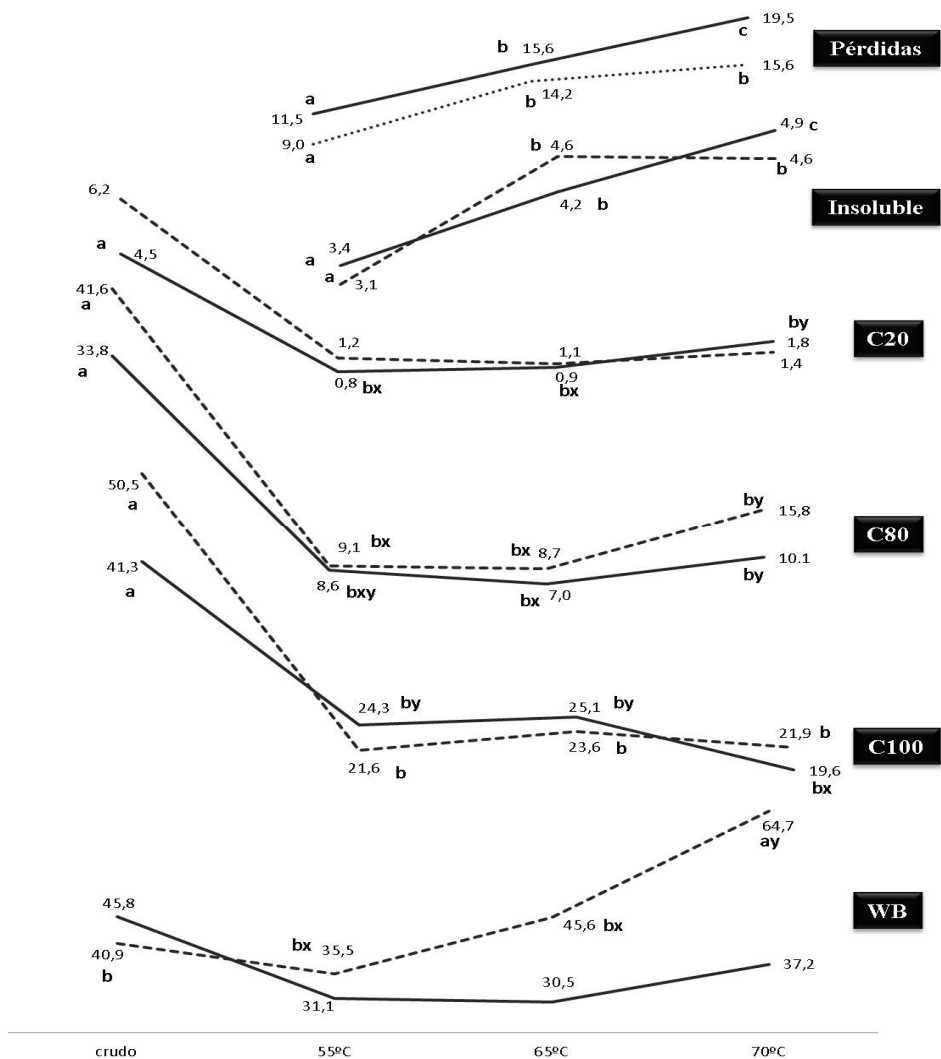


Figura 1. Influencia de la temperatura de cocinado sobre las variables estudiadas. Los valores de cada variable aparecen junto a la línea correspondiente.

Línea continua.- Pirenaica. Línea discontinua.- Frisona. Insoluble.- cantidad de colágeno insoluble (mg/g); pérdidas.- porcentaje de pérdidas de peso por cocinado. a,b,- diferencias entre temperaturas; x,y, diferencias entre temperaturas sin contar la carne cruda.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE GUISANTE EN PIENSO DE CEBO EN LA COMPOSICIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE CARNE DE TERNEROS

Bertolín, J.R., 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. jrbertolin@cita-aragon.es

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los terneros en España se alimentan durante el cebo con pienso y paja *ad libitum*, teniendo la soja como principal ingrediente proteico. La soja es importada desde terceros países lo que genera una gran dependencia comercial e incertidumbre económica debido a las fluctuaciones del precio de ésta en el mercado. Además, existe rechazo por parte de los consumidores por sus implicaciones sociales y ambientales en los países de origen (Henriksson et al., 2014), y de destino, por ser un producto mayoritariamente transgénico. De esta manera, la sustitución de la soja por otras fuentes proteicas como leguminosas de producción local podría ayudar a mejorar la sostenibilidad tanto económica como medioambiental de estos sistemas. El objetivo del presente estudio fue el de evaluar el efecto de la inclusión de guisante (*Pisum sativum*) en el pienso de cebo de terneros sobre la composición de los ácidos grasos (AG) de dos músculos.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el ensayo se han empleado 32 terneros de raza Parda de Montaña destetados primavera con un peso vivo de 210 (± 24) kg y edad de 152 (± 18) días. Los terneros se distribuyeron aleatoriamente en cuatro tratamientos con diferente tasa de inclusión de guisante en el pienso: 0% (control; 0%G), 15% (15%G), 30% (30%G), 45% (45%G). Los piensos se formularon para ser iso-energéticos (11,6 MJ/kg materia fresca) e iso-proteicos (13% sobre materia fresca). Los terneros recibieron pienso y paja a voluntad hasta su sacrificio con un peso vivo de 508 (± 6) kg y edad 360 (± 32) días. Se tomaron muestras mensuales de pienso durante el cebo, que permanecieron congeladas hasta su análisis.

Tras el sacrificio, las canales se mantuvieron a 4°C hasta extraer el músculo *longissimus thoracis* (LT) del costillar y el músculo *semitendinosus* (ST) de la canal izquierda de cada animal. Se cortó un filete de 3 cm de cada músculo (LT y ST) para determinar la composición de los ácidos grasos. Los filetes se envasaron al vacío y se mantuvieron a -20 °C hasta su picado, liofilización y posterior molienda.

El proceso de metilación y extracción de los AG se realizó siguiendo la metodología de Sukhija y Palmquist (1988) y de Lee *et al.* (2012) para los piensos y músculos respectivamente. Se utilizó un cromatógrafo de gases con detector de ionización en llama Bruker Scion 436-GC (Bruker, Billerica, Massachusetts, EE.UU.), equipado con la columna SP-2560 (200 m \times 0,25 mm ID \times 0,20 μ m, Saint Louis, Missouri, EE.UU.). La identificación se realizó mediante el uso de materiales de referencia certificados GLC-(401, 463, 532, 538, 642, 643) de Nu-Chek Prep (INC, Elysian, Minnesota, EE.UU.) y de tiempos de retención relativa encontrados en la bibliografía (Lee *et al.*, 2012; Lamas *et al.*, 2016). La cuantificación se realizó usando C19:0 como estándar interno en el pienso y C23:0 en el músculo (UNE-EN ISO 12966-4:2015). A partir de los AG individuales se calcularon el total de AG saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poliinsaturados totales (AGPI), n-6 y n-3, y sumatorio de ácido linoleico conjugado (Σ CLA). Los datos analizaron con un modelo lineal generalizado con la inclusión de guisante como efecto fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición de los AG de los piensos fue muy similar (Tabla 1), siendo el C16:0, C18:0, C18:1-9c, C18:2 n-6 y C18:3 n-3 los mayoritarios. Se observó un incremento de este último con el aumento de la proporción de guisante en el pienso.

En los músculos LT y ST se identificaron y cuantificaron 90 AG pero únicamente se muestra un resumen de los mismos (Tabla 2). Ambos músculos presentaron como ácidos grasos mayoritarios el C16:0, C18:0, C18:1-9c y C18:2 n-6, sumando alrededor del 75-80% del total. La inclusión de guisante en el pienso no afectó a ningún ácido graso mayoritario en el músculo LT pero afectó a al porcentaje de dimetil acetil (DMA)-C16:0, C18:1-10t y C18:1-11t ($P < 0,05$) en el músculo ST (Tabla 2). El porcentaje de DMA-C16:0 fue superior en los terneros 15%G

y 45%G que en los terneros 0%G ($P<0,05$). El porcentaje de C18:1-10t fue superior en los terneros 30%G que en los terneros 15%G y 45%G ($P<0,05$). El porcentaje de C18:1-11t fue superior en los terneros 0%G y 15%G que en los terneros 45%G ($P<0,05$).

Tabla 1. Composición de ácidos grasos (media \pm desviación estándar) de los piensos según la tasa de inclusión de guisante (G)¹.

	0%G	15%G	30%G	45%G
C16:0, g/100 g AG	25,77 \pm 1,02	25,88 \pm 0,28	26,89 \pm 0,89	24,31 \pm 2,07
C18:0, g/100 g AG	7,85 \pm 0,37	8,08 \pm 0,48	8,01 \pm 0,67	8,42 \pm 0,23
C18:1-9c, g/100 g AG	23,62 \pm 0,86	23,36 \pm 0,17	24,32 \pm 0,85	23,92 \pm 1,46
C18:2 n-6, g/100 g AG	37,80 \pm 1,69	37,49 \pm 0,47	34,77 \pm 0,68	37,55 \pm 0,68
C18:3 n-3, g/100 g AG	2,01 \pm 0,30	2,23 \pm 0,22	2,49 \pm 0,55	3,06 \pm 0,57
Total, mg/g MS ² pienso	53,71 \pm 1,39	51,62 \pm 2,18	52,84 \pm 5,78	50,89 \pm 4,49

¹ Se muestran los AG cuyo contenido es mayor a 1 g/100 g AG; ² materia seca.

Tabla 2. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (G) sobre la composición de ácidos grasos mayoritarios de los músculos *longissimus thoracis* y *semitendinosus* de terneros.

	0%G	15%G	30%G	45%G	E.E.M. ¹	P-valor
<i>Longissimus thoracis</i>						
C14:0, g/100 g AG	1,36	1,47	1,53	1,57	0,06	0,70
DMA-C16:0, g/100 g AG	5,14	5,44	5,34	4,61	0,30	0,77
C16:0, g/100 g AG	22,38	22,12	22,93	22,34	0,29	0,80
C16:1-9c, g/100 g AG	1,17	1,14	1,33	1,38	0,07	0,51
DMA-C18:0, g/100 g AG	3,32	3,44	3,08	2,76	0,20	0,62
C18:0, g/100 g AG	19,12	19,52	19,06	19,12	0,23	0,89
C18:1-10t, g/100 g AG	0,95	1,06	1,22	0,81	0,15	0,82
C18:1-11t, g/100 g AG	0,77	0,78	0,60	0,68	0,04	0,37
C18:1-9c, g/100 g AG	18,91	17,35	19,80	20,51	0,76	0,50
C18:1-11c, g/100 g AG	1,89	1,93	2,15	1,95	0,05	0,32
C18:2n-6, g/100 g AG	12,77	13,02	10,87	11,74	0,60	0,57
C18:3n-3, g/100 g AG	0,30	0,35	0,35	0,37	0,01	0,20
C18:2-9c, 11t, g/100 g AG	0,15	0,12	0,10	0,12	0,01	0,14
C20:4n-6, g/100 g AG	2,59	2,69	2,28	2,43	0,12	0,62
<i>Semitendinosus</i>						
C14:0, g/100 g AG	1,01	0,92	1,10	0,89	0,05	0,42
DMA-C16:0, g/100 g AG	5,73b	6,75a	6,26ab	6,65a	0,12	0,02
C16:0, g/100 g AG	20,24	18,78	20,55	19,25	0,25	0,07
C16:1-9c, g/100 g AG	1,06	0,85	1,15	0,89	0,06	0,20
DMA ² -C18:0, g/100 g AG	3,90	4,42	3,61	4,41	0,12	0,07
C18:0, g/100 g AG	17,63	17,91	17,19	17,76	0,12	0,21
C18:1-10t, g/100 g AG	0,66ab	0,43b	1,19a	0,42b	0,09	0,03
C18:1-11t, g/100 g AG	0,51a	0,52a	0,43ab	0,39b	0,02	0,03
C18:1-9c, g/100 g AG	15,92	13,63	16,91	14,12	0,56	0,17
C18:1-11c, g/100 g AG	1,89	1,92	2,16	1,97	0,06	0,37
C18:2n-6, g/100 g AG	16,31	18,23	14,16	17,58	0,51	0,06
C18:3n-3, g/100 g AG	0,43	0,47	0,52	0,51	0,02	0,32
C18:2-9c, 11t, g/100 g AG	0,13	0,12	0,10	0,11	0,01	0,63
C20:4n-6, g/100 g AG	4,28	4,67	3,92	4,66	0,13	0,18

¹ Error estándar de la media; letras diferentes indican diferencias $P<0,05$.

La inclusión de guisante en el pienso también afectó al ratio n-6:n-3 ($P < 0,05$) (Tabla 3) en ambos músculos estudiados. Los terneros 30%G presentaron un menor ratio, el cual difirió significativamente de los restantes tratamientos ($P < 0,05$), excepto con el 45%G en el músculo LD. Los terneros 45%G, 0%G y 15%G presentaron similares ratios entre ellos, independientemente del músculo estudiado. En conclusión, la inclusión de guisante en el pienso tuvo un escaso efecto en la composición de ácidos grasos de los músculos *longissimus thoracis* y *semitendinosus*, si bien según el ratio n-6:n-3 de la carne (Chikwanha *et al.*, 2017) la inclusión del 30% de guisante sería la opción más recomendable.

Tabla 3. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (G) en los ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poliinsaturados (AGPI), sumatorio de ácido linoleico conjugado (CLA) del músculo *longissimus thoracis* y *semitendinosus* de terneros.

	0%G	15%G	30%G	45%G	E.E.M. ¹	P-valor
<i>Longissimus thoracis</i>						
AGS, g/100 g AG	55,11	55,99	55,85	54,44	0,33	0,35
AGMI, g/100 g AG	27,11	25,95	28,71	29,08	0,92	0,61
AGPI total, g/100 g AG	17,78	18,06	15,45	16,48	0,76	0,59
AGPI n-6, g/100 g AG	16,30	16,60	13,95	15,02	0,73	0,56
AGPI n-3, g/100 g AG	0,89	0,94	0,94	0,91	0,04	0,96
n-6:n-3	18,64a	17,56a	14,92b	16,50ab	0,43	0,03
ΣCLA, g/100 g AG	0,20	0,18	0,15	0,16	0,01	0,16
Total, mg/g MF ² carne	16,26	15,44	15,64	15,52	0,82	0,98
<i>Semitendinosus</i>						
AGS, g/100 g AG	52,13	52,46	52,50	52,58	0,22	0,89
AGMI, g/100 g AG	23,52	20,79	25,62	21,28	0,67	0,08
AGPI, total g/100 g AG	24,35	26,75	21,88	26,14	0,64	0,07
AGPI, n-6 g/100 g AG	22,1ab	24,5a	19,23b	23,75a	0,62	0,04
AGPI, n-3 g/100 g AG	1,60	1,63	1,93	1,79	0,06	0,28
n-6:n-3	14,36a	15,31a	10,21b	13,65a	0,50	0,01
ΣCLA, g/100 g AG	0,19	0,18	0,18	0,16	0,01	0,49
Total, mg/g MF ² carne	11,75	11,52	12,89	11,07	0,40	0,47

¹ Error estándar de la media; letras diferentes indican diferencias $P < 0,05$. ² materia fresca.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bravo-Lamas L., *et al.* 2016. *Meat Sci.* 117:108-116. • Chikwanha O.C., *et al.* 2017. *Food Res. Inter.* 104: 25–38. • Henriksson M., *et al.* (2014). *Animal.* 8: 1329-1338 • Lee, M.R.F., *et al.* 2012. *Meat Sci.* 92: 863-866. • Sukhija, S.P. & Palmquist, D.L. 1988. *J. Agric. Food Chem.* 36: 1202-1206.

Agradecimientos: al INIA (RTA2014-038-C02-00, RZP2015-001, RZP2017-00001 y contrato M. Blanco (FSE)), al personal del CITA y a A. López.

EFFECT OF THE INCLUSION OF FIELD PEA IN THE CONCENTRATE DURING FATTENING ON THE FATTY ACID PROFILE OF YOUNG BULLS

ABSTRACT: The inclusion of pea (*Pisum Sativum*) as a protein substitute for soybean in fattening concentrate for young bulls was studied on the fatty acid profile of *longissimus thoracis* and *semitendinosus* muscles. Young bulls were fed concentrates with 0, 15, 30 and 45% of pea from weaning (210 ± 24) kg to slaughter (508 ± 6) kg. The inclusion of pea in the concentrates slightly affected the fatty acid composition of the muscles, except for n-6:n-3 ratio in both muscles, which was lower in the young bulls fed 30% pea in their concentrate.

Keywords: soybean, *longissimus thoracis* y *semitendinosus*, *Pisum sativum*

INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS DERIVADOS DE PLANTAS EN LA DIETA DE LOS CERDOS SOBRE LA VIDA ÚTIL Y LA PREVALENCIA DE SALMONELLA EN CHORIZOS CON BAJO CONTENIDO EN SAL

Panea, B., Albertí, P. y Ripoll, G.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. bpanea@aragon.es

INTRODUCCIÓN

Aragón presenta niveles de prevalencia de salmonelosis 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. Sin embargo, los cambios en la dieta pueden producir cambios en la calidad sensorial de los productos cárnicos. La calidad sensorial es uno de los atributos más valorados por los consumidores y en los productos cárnicos depende de los aditivos, incluida la sal. La sal es un ingrediente fundamental en los embutidos fermentados curados porque garantiza una textura adecuada y controla el crecimiento de patógenos (Corral *et al.*, 2013). Su consumo excesivo de sal es perjudicial para la salud pero reducir el contenido en sal en los embutidos puede originar defectos tecnológicos o 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 en la vida útil y la prevalencia de *Salmonella* en los chorizos con bajo contenido de sal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 72 animales, 36 machos y 36 hembras, repartidos en tres lotes. CONTROL: pienso comercial a base de maíz, soja, trigo, cebada y colza. AJO, pienso base con adición de 1 kg/Tm de extractos aromáticos de aliáceas (ajo y cebolla). ACEITE, pienso base con adición de 1 kg/Tm de un compuesto formado por una mezcla de orégano, tomillo y canela. De cada lote se muestrearon 8 piernas deshuesadas y 7 kg de tocino dorsal, provenientes de distintos cerdos y se hizo una mezcla única de 70% de magro/30% de tocino, picada con una malla de 8 mm de diámetro. En cada mezcla se hicieron dos tandas, una para elaborar un chorizo Normal y la otra para elaborar 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 UE1441/2007), 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, Gelabert *et al.*, 2003, 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 Normal, 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 Normal, 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 Normal y que en ambos conjuntos de lotes (bajos o Normal) 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, Salvador A Flores M (2013). *Meat Sci* 93, 776-85. ●Gelabert J, Gou P, Guerrero I Arnau J (2003). *Meat Sci* 65, 833-839. ●Gimeno O, Astiasarán I Bello J (2001). *Food Microbiology* 18, 329-334. ●Laranjo M, Aguheiro-Santos AC, Potes ME, Cabrita MJ, García R, Fraqueza MJ Elias M (2015). *Food Control* 56, 119-127. ●Lizaso G, Chasco J Beriain MJ (1999). *Food Microbiology* 16, 219-228. ●Ripoll G, Gonzalez-Calvo L, Molino F, Calvo JH Joy M (2013). *Meat Sci* 93, 906-13. ●Ruusunen M, Vainionpaa J, Lyly M, Lahteenmaki L, Niemisto M, Ahvenainen R Puolanne E (2005). *Meat Sci* 69, 53-60. ●Vico JP Mainar-Jaime RC (2009). XIII jornadas sobre Producción Animal Tomo I, 182-184.

Agradecimientos: A Raúl Mainar, Sara Andrés, Lourdes Murillo, Antonio Picardo, Ana Martínez y Carolina Albertí. Trabajo financiado por el proyecto FITE 557-A. Los autores forman parte de la red CYTED MARCARNE (116RT0503).

INFLUENCE OF ADDITION OF PLANTS BASED EXTRACTS TO PIG' FEED ON SHELF-LIFE AND SALMONELLA PREVALENCE OF DRY SAUSAGES WITH LOW SALT CONTENT

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 cymenic 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, specially 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 ^{ye}	47,96 ^{xab}	22,48 ^{xc}	21,96 ^{xab}	44,04 ^{xa}	31,51 ^{xc}	0,39 ^{zb}	6,40
	15 días	6,0 ^{xc}	44,48 ^{yab}	20,79 ^{yc}	15,94 ^{yc}	32,27 ^{yab}	26,36 ^{yc}	0,80 ^{yb}	6,25 ^d
	30 días	6,0 ^{xb}	46,48 ^{xya}	19,41 ^{ya}	13,254 ^{zab}	33,90 ^{yab}	23,78 ^{zbc}	1,21 ^{xa}	6,20 ^c
Bajo	1 día	5,9 ^{xe}	48,29 ^{xa}	26,22 ^{xab}	22,67 ^{abx}	40,70 ^{xb}	34,71 ^{xab}	0,40 ^{zb}	6,53
	15 días	6,0 ^{xe}	45,64 ^{yab}	24,20 ^{ya}	18,89 ^{ax}	37,63 ^{xab}	30,87 ^{yab}	0,83 ^{yb}	6,67 ^b
	30 días	5,9 ^{yc}	42,52 ^{zb}	24,02 ^{yb}	14,42 ^{za}	30,22 ^{zabc}	28,19 ^{za}	1,09 ^{xa}	6,66 ^b
Ajo	1 día	6,1 ^{ya}	47,54 ^{xab}	24,87 ^{xb}	21,68 ^{xab}	41,07 ^{bx}	33,12 ^{xbc}	0,50 ^{zab}	6,54
	15 días	6,2 ^{xa}	46,34 ^{xya}	24,03 ^{xab}	19,89 ^{ya}	38,94 ^{xa}	31,41 ^{xa}	0,95 ^{xab}	6,64 ^b
	30 días	6,1 ^{ya}	44,42 ^{yab}	19,74 ^{yb}	11,23 ^{zb}	29,07 ^{yc}	22,84 ^{yc}	0,78 ^{yb}	6,35 ^{bc}
Bajo	1 día	6,0 ^{xc}	44,70 ^c	26,82 ^{xa}	20,96 ^{xb}	37,71 ^{xc}	34,14 ^{xab}	0,61 ^{za}	6,32 ^y
	15 días	5,9 ^{yd}	44,19 ^{ab}	22,97 ^{yab}	16,47 ^{bc}	35,17 ^{yb}	28,42 ^{ybc}	0,88 ^{xb}	7,29 ^{ax}
	30 días	5,7 ^{cc}	45,65 ^a	20,61 ^{zb}	12,99 ^{zab}	31,86 ^{yab}	24,60 ^{zbc}	0,74 ^{yb}	7,32 ^{ax}
Normal	1 día	6,1 ^b	45,90 ^{bc}	26,68 ^{xa}	23,35 ^{xa}	41,15 ^{bx}	35,54 ^{xa}	0,58 ^{ya}	6,43
	15 días	6,2 ^b	46,68 ^b	24,35 ^{ya}	18,40 ^{yab}	36,85 ^{yab}	30,59 ^{yab}	1,00 ^{xab}	6,33 ^{cd}
	30 días	6,1 ^a	45,64 ^a	20,96 ^{zb}	14,66 ^{za}	34,09 ^{ya}	25,89 ^{zb}	0,69 ^{yb}	6,42 ^{bc}
Bajo	1 día	6,0 ^{xd}	46,56 ^{abc}	27,10 ^{xa}	23,54 ^{xa}	40,96 ^{xb}	35,97 ^{xa}	0,54 ^{za}	6,30 ^y
	15 días	6,0 ^{xd}	44,33 ^{ab}	22,38 ^{ybc}	15,91 ^{yc}	35,00 ^{yb}	27,64 ^{yc}	1,10 ^{xa}	6,60 ^{bcx}
	30 días	5,8 ^{yb}	44,51 ^{ab}	20,40 ^{zb}	11,92 ^{zb}	29,62 ^{zbc}	23,76 ^{zbc}	0,75 ^{yb}	6,25 ^{bcy}
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 (p<0,05); e.e.- error Normal de la media

EFEECTO DE LA TASA DE INCLUSIÓN DE GUISANTE EN PIENSO DE CEBO EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, OXIDACIÓN LIPÍDICA Y DUREZA DE CARNE DE TERNEROS

Blanco, M., Ripoll, G., Casasús, I., Bertolín, J.R., López A., Ferrer, J. 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. mblanco@cita-aragon.es

INTRODUCCIÓN

La Unión Europea intenta mejorar el abastecimiento de proteína de origen vegetal para los piensos de cebo de animales. Para ello resulta de interés la introducción de leguminosas de producción local en sustitución de la soja que se importa de terceros países. Aunque la inclusión de guisante en la dieta de cebo de corderos es posible, dado que no tiene efectos negativos sobre los rendimientos (Blanco et al., 2018a) ni sobre la calidad de la carne (Blanco et al., 2018b), su uso en el cebo de terneros ha sido escasamente estudiado. Los rendimientos obtenidos con distintas proporciones en el pienso (Lardy et al., 2009; Chen et al., 2013) permiten un 40-60% de inclusión. Pocos estudios han evaluado su efecto sobre las características de la carne, aunque Jenkins et al. (2011) observaron una mejora en la terneza de la carne de novillas. El objetivo del presente estudio fue el de evaluar el efecto de la inclusión de guisante (*Pisum sativum*) en el pienso de cebo de terneros sobre la composición química, dureza, y oxidación lipídica de la carne.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el ensayo se han empleado 32 terneros de raza Parda de Montaña, que recibieron pienso y paja a voluntad desde los 210 (± 24) a los 508 (± 6) kg. Los terneros se distribuyeron aleatoriamente en cuatro tratamientos con diferente tasa de inclusión de guisante en el pienso: 0% (control; 0%G), 15% (15%G), 30% (30%G), 45% (45%G). Los piensos se formularon para ser iso-energéticos (11,6 MJ/kg materia fresca (MF)) e iso-proteicos (13% MF). Los principales ingredientes de los piensos y la composición química figuran en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los piensos según la tasa de inclusión de guisante (G).

	0G%	15%G	30%G	45%G
Ingrediente, %				
Maíz	51,60	40,60	29,59	27,04
Cebada	20,00	20,00	20,00	20,00
Gluten feed maíz 19%	15,00	15,00	15,00	4,41
Harina de soja 47	9,71	5,49	1,28	0,00
Guisantes	0,00	15,00	30,00	45,00
Composición química, % MS				
Materia seca	89,2 \pm 3,11	89,2 \pm 3,0	89,0 \pm 3,1	88,9 \pm 3,3
Fibra neutro detergente	18,8 \pm 0,6	18,7 \pm 1,0	19,3 \pm 1,4	17,9 \pm 1,8
Fibra ácido detergente	7,2 \pm 0,7	7,9 \pm 0,8	8,4 \pm 0,6	8,5 \pm 1,2
Proteína bruta	14,7 \pm 0,7	15,3 \pm 0,5	15,5 \pm 1,0	15,9 \pm 1,1
Grasa bruta	3,7 \pm 0,8	3,7 \pm 0,9	4,1 \pm 0,8	4,0 \pm 0,6
Energía metabolizable, MJ/kg	11,5 \pm 0,4	11,4 \pm 0,8	11,7 \pm 0,2	11,6 \pm 0,3

Tras el sacrificio, las canales se mantuvieron 24 h a 4°C hasta extraer el músculo *longissimus thoracis et lumborum* del costillar de la canal izquierda de cada animal. Se cortaron filetes de 3 cm para las distintas determinaciones: 1 para la composición química, 5 para el color y la oxidación lipídica y 3 para la dureza. Los filetes para la composición química se liofilizaron y se picaron. Los filetes para el color y la oxidación lipídica se colocaron en bandejas que se cubrieron con film plástico durante 1, 4, 6, 8 y 11 días y los de la dureza se envasaron al vacío y se maduraron a 4 °C hasta los 3, 8 y 15 días *post mortem*, y después se envasaron al vacío. Todos los filetes se mantuvieron a -20 °C hasta sus análisis. Se determinó la grasa bruta (Ankom), la proteína bruta (Dumas) y el colesterol (mediante UPLC). El color de la carne se

midió con un espectrofotómetro usando el espacio CIELab. La oxidación lipídica se obtuvo por espectrofotometría mediante el procedimiento descrito por Ripoll et al. (2013). Se utilizó un Instron con una célula Warner Braztler para registrar la dureza instrumental de la carne. Los datos de la composición química analizaron con un modelo lineal generalizado con la inclusión de guisante como efecto fijo. Los datos de color, oxidación lipídica y dureza se analizaron con modelos mixtos con medidas repetidas con la inclusión de guisante, el día y su interacción como efectos fijos y el animal como efecto aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de inclusión de guisante en el pienso no afectó a la grasa bruta, proteína bruta ni al colesterol depositado en el músculo ($P > 0,05$). En cuanto a los parámetros del color del músculo, la luminosidad sólo se vio afectada por la exposición al oxígeno ($P < 0,001$) mientras que el índice de rojo, índice de amarillo y saturación se vieron afectados por la interacción entre la inclusión de guisante en el pienso y la exposición al oxígeno ($P < 0,05$). Se observaron diferencias debidas a la tasa de inclusión de guisante en el momento del corte, presentando los terneros 15%G mayor cromía que los terneros 0%G y 45%G ($P < 0,05$); y a los 11 días de exposición al oxígeno, presentado los terneros 15%G el menor valor ($P < 0,05$) (Figura 1).

Tabla 2. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (G) en la composición química de la carne

	0%G	15%G	30%G	45%G	EEM ¹	P-valor
Materia seca, %	24,75	24,63	24,25	24,63	0,09	0,41
Grasa bruta, % MF	1,39	1,10	1,32	1,37	0,09	0,61
Proteína bruta, % MF	21,86	21,74	21,52	21,91	0,07	0,24
Colesterol, mg/g MF	0,405	0,405	0,406	0,403	0,003	0,98

¹ error estándar de la media

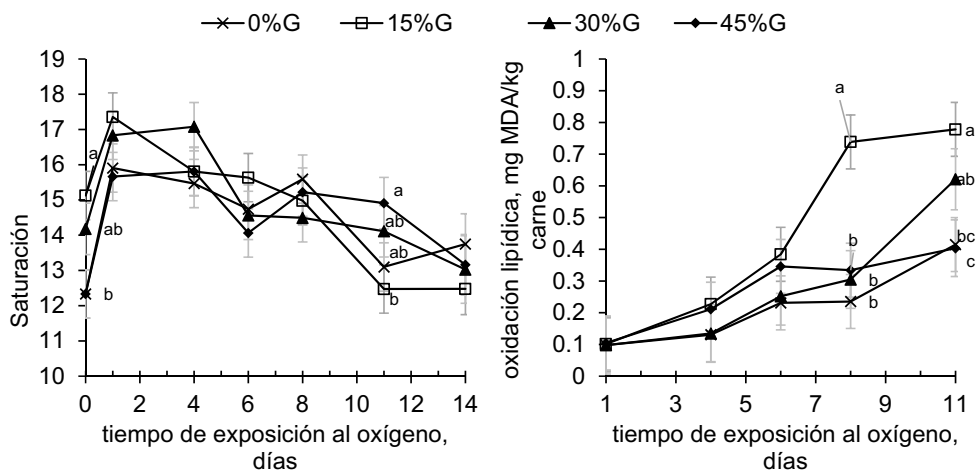


Figura 1. Evolución del efecto de la inclusión de guisante en el pienso en el color y la oxidación lipídica del músculo. En un parámetro y día, medias con diferente letra indican diferencias $P < 0,05$. MDA: malondialdehído

La oxidación lipídica se vio afectada por la interacción entre la tasa de inclusión de guisante y la exposición al oxígeno ($P < 0,01$) (Figura 1), siendo similar entre tratamientos hasta el 6 día de exposición, momento a partir del cual los terneros 15%G presentaron valores superiores a los restantes tratamientos ($P < 0,05$).

La dureza se vio afectada por la tasa de inclusión de guisante ($P < 0,05$) (Figura 2) y el tiempo de maduración ($P < 0,001$). En promedio, los terneros 0%G presentaron mayor dureza que los 15%G y 30%G ($P < 0,05$) mientras que los terneros 45% presentaron valores intermedios. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en terneras por Jenkins et al. (2011). En

conclusión, la incorporación de guisante en la dieta de los terneros es recomendable al mejorar la dureza de la carne, especialmente con una inclusión del 30%, y no tener efectos importantes en el resto de parámetros de la carne.

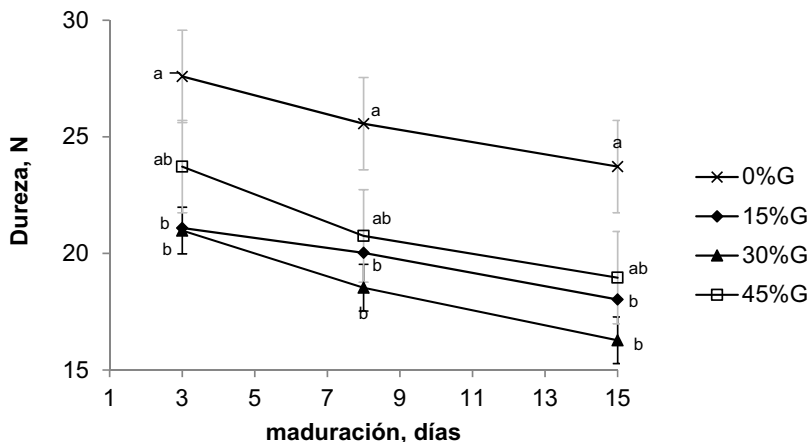


Figura 2. Evolución del efecto de la inclusión de guisante en el pienso en la dureza del músculo. En un día, medias con diferente letra indican diferencias $P < 0,05$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Blanco et al. (2018^a). EAAP Meeting. Blanco et al. (2018b). Advances in Animal Science
 Chen J.Q., et al. (2003). Canadian Journal of Animal Science 83: 779-786. • Jenkins, K.H., et al. (2011). Journal of Animal Science 89, 1167-1172. • Lardy G.P., et al. (2009). Journal of Animal Science 87: 3335-3341. • Ripoll, G., et al. (2013) Meat Science 93, 906-913.

Agradecimientos: al INIA (RTA2014-00038-C02-00, RZP2015-001, RZP2017-00001; y contrato M. Blanco (FSE)) y al personal del CITA.

EFFECT OF THE INCLUSION OF FIELD PEA (*PISUM SATIVUM*) IN THE CONCENTRATE DURING FATTENING ON THE CHEMICAL COMPOSITION, TOUGHNESS AND LIPID OXIDATION OF THE MEAT

ABSTRACT: The inclusion of pea (*Pisum Sativum*) at different rates (0, 15, 30 and 45%) to replace soybean in fattening concentrate for young bulls was studied on the chemical composition, colour, lipid oxidation and toughness through aging of *longissimus thoracis* muscle. Young bulls were fed concentrates, with different pea inclusion, and straw on ad libitum basis from weaning (210 ± 24) kg to slaughter (508 ± 6) kg. The inclusion of pea in the concentrates did not affect the chemical composition. Regarding meat colour, redness, yellowness and chroma were affected by the interaction between the inclusion of pea and the exposition to oxygen ($P < 0.05$). The lipid oxidation was affected by the interaction between the inclusion of pea and the exposition to oxygen ($P < 0.01$). Young bulls fed 15% pea had greater lipid oxidation than their counterparts from the 8th day onwards ($P < 0.05$). Meat toughness was affected by the inclusion of pea ($P < 0.05$) and aging ($P < 0.001$). Young bulls fed 0% pea had greater toughness than the young bulls fed 15% and 30% pea ($P < 0.05$). In conclusion, the inclusion of 30% pea would be the most advisable rate taking into account their lower toughness.

Keywords: pisum sativum, soybean, beef

LA REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA Y SAL COMO ESTRATEGIA PARA OBTENER CHORIZOS MÁS SALUDABLES

Panea, B. y Ripoll, G.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España. bpanea@aragon.es

INTRODUCCIÓN

La calidad sensorial y microbiológica de los embutidos depende de su formulación. La sal es un ingrediente esencial porque garantiza una textura y flavor y controla el crecimiento de microorganismos patógenos (Corral *et al.*, 2013). El consumo excesivo de sal es perjudicial para la salud humana pero reducir su cantidad en los embutidos puede originar una pérdida de calidad y causar problemas tecnológicos y de seguridad alimentaria (Ruusunen *et al.*, 2005). Por su parte, las grasas aportan untuosidad y jugosidad y contribuyen a la textura pero su consumo se asocia a la aparición de varias enfermedades. Se puede sustituir parcialmente el NaCl y la grasa por otros ingredientes, pero cualquier cambio en la formulación de un producto puede producir un rechazo en el consumidor, acostumbrado a unas características organolépticas determinadas para cada alimento. El objetivo de este trabajo es conocer la aceptación por parte de los consumidores de chorizos con menos grasa y menos sal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se fabricó un lote control y 9 lotes experimentales siguiendo un diseño factorial 3x3. Se sustituyó el NaCl del lote control por lactato de calcio (E 327, PANREAC), MgCl₂ (E 511, marca Ana María Lajusticia) o KCl (E 508, marca Carmencita) y un 10% del magro de 2ª por aceite de oliva, puré de patata Maggie o gelatina Royal. Las mezclas se picaron con un rallo de 8 mm, se dejaron reposar 24 horas a 2°C y se embutieron en tripa de cerdo natural de calibre 32-34. un. Se muestrearon chorizos en fresco para medir el pH. El final de secado se estableció en un 30% de mermas. Entonces, se tomaron muestras para determinar pH, cantidad de grasa, índice de peróxidos, ácidos grasos libres, calidad microbiológica y dos pruebas con consumidores: cata y apreciación visual. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico R. El efecto de las sustituciones se estudió mediante un análisis multivariante (GLM). Las diferencias entre medias se establecieron mediante pruebas t-Student, método de Duncan y tablas de contingencia, dependiendo de análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las mermas fueron del 32%, sin diferencias entre lotes ($p=0,814$). El pH fue de 5,41, sin diferencias entre lotes ($p=0,918$), en concordancia con otros estudios (Gimeno *et al.*, 2001). El extracto seco (E.S) fue del 75%, ligeramente más alto que el 60% descrito por otros autores (Corral *et al.*, 2017, Lizaso *et al.*, 1999) pero similares a los descritos por Mora-Gallego *et al.*, (2016). Tanto el tipo de sal como el tipo de grasa afectaron al ES ($p<0,001$) y se encontró una interacción entre efectos ($p=0,033$). Los tres lotes de ACEITE y el lote PATATA-MAGNESIO fueron significativamente diferentes del control. La sustitución de grasa ($p<0,001$) afectó al contenido en grasa de los chorizos. El lote CONTROL presentó un mayor contenido de grasa (61,4%), pero no significativamente distinto de los lotes con PATATA o con GELATINA. Los tres lotes con ACEITE presentaron un menor contenido en grasa. Los resultados obtenidos son muy altos, ya que la mayoría de los autores señalan porcentajes de grasa de entre 12% y 20% (Corral *et al.*, 2016, Mora-Gallego *et al.*, 2016). Si se calcula la cantidad teórica de grasa de los chorizos a partir de los ingredientes, los valores van del 14,4% y el 18,5%, mucho más acordes con la bibliografía. Tanto el tipo de sal como el de grasa afectaron al recuento de mesófilos ($p<0,001$) y de bacterias ácido-lácticas ($p<0,001$), pero no al de las enterobacterias ($p>0,05$). Existen interacciones entre efectos para todos los recuentos ($p<0,05$). El lote PATATA-POTASIO presentó recuentos de mesófilos más bajos que el resto ($5,7 \cdot 10^7$ ufc/g) y más parecidos al lote CONTROL ($8,6 \cdot 10^7$ ufc/g). El resto de los lotes presentaron recuentos 10 veces mayores ($1,1 \cdot 10^8$ ufc/g- $4,1 \cdot 10^8$ ufc/g). En cuanto a las BAL, el lote control presentó valores de $8,10^7$ ufc/g, sin diferencias significativas con los lotes de

PATATA (5,5 a 9,1 10⁷ ufc/g). Los recuentos son similares a los señalados por otros autores (Aaslyng *et al.*, 2014, Lizaso *et al.*, 1999). Sólo la sustitución de grasa tuvo efecto sobre el índice de peróxidos ($p=0,043$), de modo que los lotes ACEITE-LACTATO, ACEITE-POTASIO y GELATINA-LACTATO tienen valores ligeramente más altos (3,8) y el lote PATATA-LACTATO ligeramente más bajos (2,0) que el resto. Tanto la sustitución de sal como la de grasa afectaron al contenido en AGL ($p<0,001$), con una interacción entre efectos ($p=0,006$). Los lotes de ACEITE presentaron mayor contenido que el resto, entre los que no hay diferencias. En cuanto a la sal, los lotes con LACTATO presentaron mayor cantidad de AGL que el resto. En la cata se trabajó con 48 consumidores (37% hombres). No se encontraron interacciones entre efectos. El tipo de grasa sólo afectó a la nota de textura ($p=0,029$), y el lote CONTROL registró notas significativamente más altas (6,0) que los lotes ACEITE (5,1) y PATATA (5,2). El tipo de sal sólo al olor ($p=0,020$); el lote PATATA (5,5) fue significativamente distinto del lote GELATINA (6,3), pero ningún lote fue significativamente distinto del CONTROL. El punto de curado se vio afectado por el tipo de grasa ($p=0,003$), y así, el porcentaje de veces que se calificó el lote ACEITE como demasiado tierno fue mayor de lo esperado. El punto de sal se vio afectado por el tipo de sal ($p=0,003$) y el POTASIO da mayor frecuencia de “muy salado” de lo esperado. La mayoría de los chorizos tenían un punto correcto de sal, pero estaban poco curados, incluido el CONTROL. Según Aaslyng *et al.*, (2014), el sabor salado (punto de sal), la jugosidad y la textura se ven afectados cuando se reduce el contenido de sal en el salami, pero se puede sustituir hasta un 50% del NaCl por KCl sin que haya rechazo por parte de los consumidores. Según Corral *et al.*, (2016), los chorizos con reducción de sal son menos duros que los estándar y Mora-Gallego *et al.*, (2016) encontraron que los chorizos fabricados con aceites vegetales eran menos duros que los del lote control. En los adjetivos no solicitados, el 42% de los comentarios fueron defectos de textura, el 8% defectos de curado, el 6% defectos de sabor, el 2% defectos de olor y el 1% defectos de color. Ni género ni edad afectaron a la nota, al punto de curado o al punto de sal ($p>0,05$). En la prueba de apreciación visual se trabajó con 191 consumidores (40% hombres). El género no afectó ni a la nota ($p=0,737$) ni a la intención de compra ($p=0,406$). La edad no afectó a la nota ($p=0,775$) pero sí a la intención de compra ($p=0,335$) y los mayores tienen mayor predisposición a la compra. El tipo de sal no afectó ni a la nota ($p=0,534$) ni a la intención de compra ($p=0,557$) pero la grasa afectó a ambas ($p<0,001$). Los lotes de ACEITE recibieron notas significativamente más bajas (4,9) que el resto, entre los que no hubo diferencias (6,0 para el CONTROL, 6,5 para la PATATA y 6,4 para la GELATINA).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aaslyng MD (2014). Meat Sci 96, 47-55.
- Corral S (2013). Meat Sci 93, 776-85.
- Corral S (2016). Meat Sci 116, 140-50.
- Corral S (2017). Meat Sci 123, 1-7.
- Gimeno O (2001). Food Microbiol 18, 329-334.
- Lizaso G (1999). Food Microbiol 16, 219-228.
- Mora-Gallego H (2016). Meat Sci 112, 9-15.
- Ruusunen M (2005). Meat Sci 69, 53-60.

Agradecimientos: Embutidos Manolica (Pol. Ind. La Estación, 54, Andorra), Pilar Esevenri y al ALAT del CITA. Trabajo financiado por proyecto PLATEA-FITE. Los autores forman parte de la red CYTED MARCARNE (116RT0503).

THE REDUCTION OF FAT AND SALT CONTENT AS STRATEGY TO OBTAIN HEALTHIER DRY SAUSAGES

ABSTRACT: A control batch and 9 experimental batches of fermented dry sausages were elaborated following a 3 substitutes of fat x 3 substitutes of salt factorial design. Samples were taken to measure pH, fat amount, oxidation, microbiology counts, taste and visual appraisal. CONTROL presented higher fat amount (61,4%), but not statistically different from POTATO or JELLY batches. Both, type or salt and type off at affected total aerobic mesophilic ($p<0,001$) and BAL counts ($p<0,001$), but no to enterobacteria counts ($p>0,05$). POTATO-POTASSIUM

batch presented the lowest mesophilic count ($5,7 \cdot 10^7$ ufc/g). Only fat type affected peroxide index ($p=0,043$) whereas both, type of salt and type off at affected to free fatty acids content ($p<0,001$). OIL batches and LACTATE batches presented higher values than the rest, without statistical differences among them. Neither the type of salt or fat nor gender or age of consumers affected significantly to scores or to purchase intent.

Keywords: consumer, sausages, oxidation, microbiology

Tabla 1. Porcentaje de grasa de los lotes de chorizo con reducción de sal y grasa.

CONTROL		61,39	
	Lactato de Ca	MgCl ₂	KCl
ACEITE	54,95 by	54,07 by	57,06 ay
PATATA	54,43 abx	58,85 bx	60,63 ax
GELATINA	60,99 x	59,77 x	58,32 y

a,b.- efecto de la sal para cada grasa ($p<0,05$); x,y.- efecto de la grasa para cada sal ($p<0,05$); en negrita, lotes significativamente distintos del control ($p<0,05$)

Tabla 2. Recuentos microbiológicos de los lotes de chorizo con reducción de sal y grasa

CONTROL	Mesófilos			Enterobacterias			BAL		
	8,6. 10 ⁷			4,5. 10 ³			8,1. 10 ⁷		
	Lact Ca	MgCl ₂	KCl	Lact Ca	MgCl ₂	KCl	Lact Ca	MgCl ₂	KCl
ACEITE	4,1. 10 ⁸ abx	3,5. 10 ⁸ bx	3,02. 10 ⁸ bx	2,2. 10 ² by	5,7. 10 ² ab	7,7. 10 ² ax	3,3. 10 ⁸ x	4,1. 10 ⁸ ax	3,4. 10 ⁸ bx
PATATA	1,1. 10 ⁸ by	1,2. 10 ⁸ bz	5,6. 10 ⁷ az	1,0. 10 ³ x	6,9. 10 ² xy	3,0. 10 ² ay	8,5. 10 ⁷ ay	9,1. 10 ⁷ az	5,5. 10 ⁷ bz
GELATINA	3,1. 10 ⁸ ax	1,9. 10 ⁸ by	1,5. 10 ⁸ by	4,2. 10 ² by	7,5. 10 ² a	1,9. 10 ² by	3,3. 10 ⁸ ax	1,4. 10 ⁸ by	1,7. 10 ⁸ by

Lact= lactato. a,b.- efecto de la sal para cada grasa ($p<0,05$); x,y.- efecto de la grasa para cada sal ($p<0,05$); en negrita, lotes significativamente distintos del control ($p<0,05$)

Tabla 3. Valores del índice de peróxidos y ácidos grasos libres de los lotes de chorizo con reducción de sal y grasa

CONTROL	IPO (meq Ox/Kg grasa)			AGL (%)		
	Lactato de Ca	MgCl ₂	KCl	Lactato de Ca	MgCl ₂	KCl
		3,0			0,6	
ACEITE	3,9 ax	2,6 b	3,8 a	2,8 ax	2,3 bx	2,6 abx
PATATA	2,0 by	2,5 ab	3,3 a	0,7 ay	0,6 by	0,6 by
GELATINA	3,8 x	3,1	3,1	0,6 by	0,7 ay	0,6 by

a,b.- efecto de la sal para cada grasa ($p<0,05$); x,y.- efecto de la grasa para cada sal ($p<0,05$); en negrita, lotes significativamente distintos del control ($p<0,05$)

CARACTERIZACIÓN BIOMÉTRICA DE GALLOS SASSO C44. ESTUDIO PRELIMINAR

Vaz^{1,2}, P., Cerqueira^{1,3}, J.L., Cantalapiedra⁴, J. y Araújo^{1,5}, J.P.

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

²Quinta de Eira Vedra, Ardegão, Ponte de Lima, Portugal.

³Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, Vila Real, Portugal.

⁴Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España

⁵Centro de Investigação da Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Viana do Castelo.

INTRODUCCIÓN

Los productos tradicionales relacionados con sistemas de producción con bajo impacto medio ambiental, elevado bienestar animal y asociados al contexto económico-social de comunidades rurales, han tenido una demanda creciente en los países desarrollados (Chemineau, 2018, Pereira, 2017). El gallo asado es uno de los más relevantes y tradicionales productos gastronómicos de la ciudad de Barcelos. La cofradía gastronómica "O Galo de Barcelos" ha sido fundada en 2016 con el objetivo de valorizar y promover la imagen del "Galo de Barcelos" en las vertientes gastronómica y cultural (CGOGB, 2018). El sistema de producción de los gallos se hace al aire libre de un modo tradicional, con un conjunto de reglas de producción definidas por la cofradía, que inciden en la alimentación, condiciones de las instalaciones, densidades y condiciones higiénico-sanitarias. En producción animal las mediciones realizadas en animales vivos aumentan la precisión de los análisis de conformación, constituyendo, en zootecnia, un instrumento para determinar las dimensiones de los animales, y realizar una investigación comparativa (Wilson *et al.*, 1997). La FAO indica que para la caracterización fenotípica de recursos genéticos de razas o estirpes de gallinas, se debe medir una muestra de 10 a 30 machos adultos, siendo las medidas mínimas: el peso vivo, longitud corporal, envergadura, perímetro del pecho y longitud de la caña (FAO, 2012). La obtención de medidas en los gallos de las ganaderías asociadas a la Cofradía puede ser utilizada para caracterizar los animales, definir el punto ideal de sacrificio y efectuar comparaciones entre diferentes crianzas. El objetivo del presente estudio es caracterizar biométricamente los gallos Sasso C44 al sacrificio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado mediciones biométricas en 17 gallos Sasso C44 en una ganadería asociada a la cofradía gastronómica "O Galo de Barcelos". Todos los animales eran de la misma manada, presentado la misma fecha de nacimiento. Las mediciones han sido obtenidas en el momento del sacrificio, con edad de 139,7±17,3 días, siendo todos los animales criados según las normas de la cofradía. Las medidas han sido obtenidas según la metodología de FAO para la caracterización fenotípica de recursos genéticos (FAO, 2012) (Fig.1). Se usaron los siguientes instrumentos: cinta métrica para medir la envergadura (Env), perímetro del pecho (PerPec), longitud corporal (LongCor), longitud de la caña (LongCan) y perímetro de la caña (PerCan) y una báscula Kern con precisión de 10 g para determinar el peso vivo (PV) y peso canal (PC). El peso canal incluía la cabeza, las patas, el hígado, el corazón y la molienda. En el estudio estadístico se ha utilizado el paquete estadístico SPSS Windows V. 22 (SPSS. Inc.). Se calcularon las estadísticas descriptivas de las medidas y peso vivo y se realizó un análisis de componentes principales a partir de la matriz de correlaciones, con el método de rotación Varimax.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de las medidas (cm) fueron para la Env, PerPec, LongCor, LongCan y PerCan 56,2±3,40, 36,8±2,07, 51,5±3,87, 9,4±1,15 y 6,5±0,41 respectivamente (Tabla 1) y para el PV y PC (g) 4196,5±281,76 y 3395,7±257,67 respectivamente. El PV fue inferior al indicado para la estirpe (4521 g a los 91 días de edad) (Sasso, 2018), pero ligeramente superior al indicado por Vaz *et al.* (2018) a los 184 días (4110 g). La matriz de correlaciones entre las medidas y pesos demostró la existencia de correlaciones significativas ($P < 0,001$ y $P < 0,005$) entre un reducido número de variables (Tabla 2). Se destaca la correlación alta, obtenida entre el peso vivo y peso C+M (0,95), de acuerdo con el obtenido por Sanchez (2001) con el capón de Villalba y las de valor medio entre envergadura y peso vivo (0,51), envergadura y peso C+M (0,54) y entre perímetro de la caña y longitud corporal (0,51). Del análisis de componentes

principales de las medidas corporales y peso resultan dos componentes (Figura 2) que en su conjunto expresan el 62,6% de la variabilidad total. El primer componente representa el 38,3% de la variabilidad, además todos sus coeficientes son positivos. Las variables más correlacionadas con este componente son el PV, el PC y Env. El segundo factor representa el 24,3% de la varianza total. El mayor porcentaje de la varianza explicada se asocia con las medidas de la caña y longitud corporal). Son necesarios más trabajos de caracterización con otras bandadas y otras explotaciones para definir el peso y las dimensiones adecuadas al sacrificio y otros trabajos que puedan analizar y correlacionar las biometrías con el rendimiento de la canal y rendimiento de piezas nobles (pecho e pierna).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• CGOGB, Confraria Gastronómica O Galo de Barcelos, 2017. Estatutos, Barcelos. • CGOGB, Confraria Gastronómica O Galo de Barcelos, 2018. <https://ogalodebarcelos.pt/>, consultado en Dez, 2018. • Chemineau, P. 2018. XX Congreso Nacional de Zootecnia. • FAO, 2012. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. Phenotypic characterization of animal genetic resources: 107,113 • Sasso, 2018. <http://www.sasso.fr/reproducteurs-poulets-de-chair-fermiers-c44.html>, consultado en diciembre 2018. • Pereira, A.C. 2017. I Jornadas Internacionales de Avicultura • Sánchez, B.F. 2001. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. • Vaz, P.S. Machado, E., Araújo, J.P. Cerqueira, J.L., 2018. XI Congreso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animales. • Wilson, L. L., Egan, C.L. & Terosky, T.L. 1997. *J. Dairy Sci.* 80: 3077-3082.

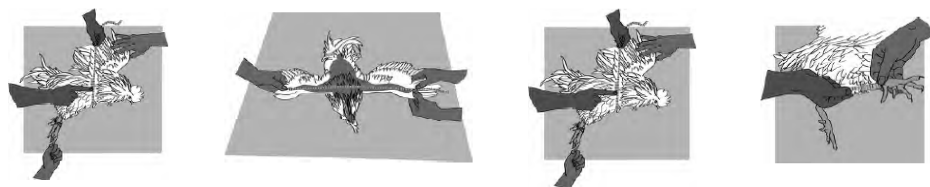
Tabla 1. Estadísticos descriptivos de las medidas biométricas, peso vivo y peso de canal.

Medidas	Media±DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
Env	56,2±3,40	50,0	61,0	6,04
PerPec	36,8±2,07	34,5	42,5	5,62
LongCor	51,5±3,87	40,0	56,0	7,52
LongCan	9,4±1,15	8,0	12,0	12,29
PerCan	6,47±0,41	5,5	7,1	6,38
PV	4196,5±281,76	3630,0	4640,0	6,71
PC	3395,7±257,67	2970,0	3801,0	7,59

Tabla 2. Correlaciones fenotípicas entre medidas biométricas y pesos.

Medidas	PC	PerPec	Env	LongCor	LongCan	PerCan
PV	0,95**	0,35	0,51*	-0,12	-0,03	-0,14
PC		0,38	0,54*	-0,11	-0,04	-0,21
PerPec			-0,02	-0,34	-0,20	0,00
Env				-0,28	0,31	-0,16
LongCor					0,18	0,51*
Long Can						0,46

Sig: Nivel de significación *** P<0.001; ** P<0.005.



Longitud Corporal

Envergadura

Perímetro del Pecho

Longitud de la Caña

Figura 1. Ilustraciones de medidas biométricas en gallos (FAO, 2012).

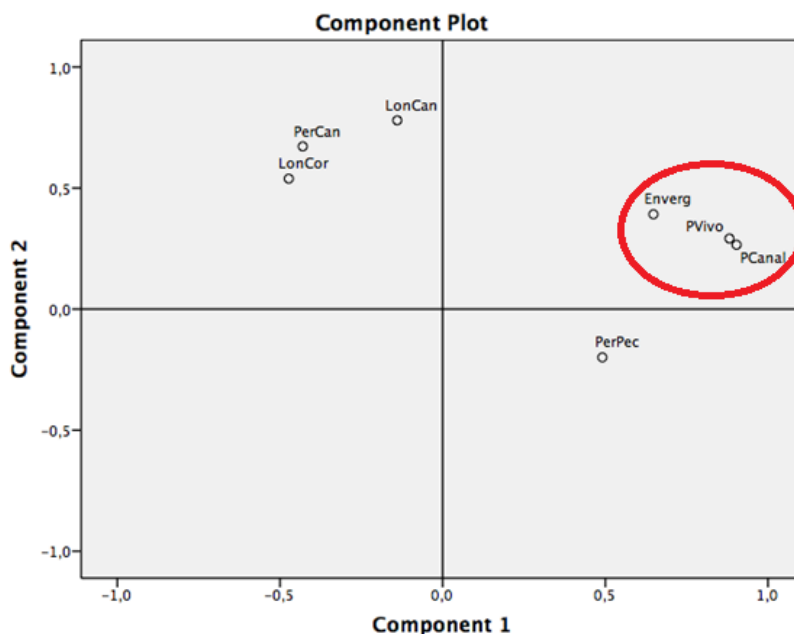


Figura 2. Proyección de las variables sobre los ejes definidos por los dos primeros componentes principales.

BIOMETRIC CHARACTERIZATION OF SASSO C44 ROOSTERS

ABSTRACT: This biometric study was carried in one farm associated to the “confraria gastronómica O Galo de Barcelos”. They were taken 5 linear measurements, the body weight and the carcass weight, according the FAO guidelines. The average live weight (PV) was $4196,6 \pm 281,76$ g and the carcass weight (PC) was $3395,7 \pm 257,67$ g. The linear measurements were (cm): wing span (Env) $56,21 \pm 3,40$, chest circumference (PerPec) $36,81 \pm 2,07$, body length (LongCorp) $51,50 \pm 3,87$, shank length (LongCan) $9,38 \pm 1,15$ and shank circumference (PerCan) $6,47 \pm 0,41$. The highest values of the correlations were between carcass weight and live weight PC-PC (0,95), carcass weight and wing span PC-Env (0,54), live weight and wing span PV-Env (0,51) and body length and shank circumference LongCorp-PerCan (0,51). In the principal component analysis, the first two components were responsible for 62,6% of the total variation. The first component accounted for 38,3%, and the second component for 24,3% of the total variation. The variables more correlated with the first component were the live and carcass weight and the wing span. More studies are required including more farms as well as the analysis of the carcass.

Keywords: Barcelos; Rooster, Sasso C44, Linear Measurements.

INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS DERIVADOS DE PLANTAS EN EL PIENSO SOBRE LA CALIDAD INSTRUMENTAL DE LA CARNE DE CERDO: VIDA ÚTIL y 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. bpaneaa@aragon.es

INTRODUCCIÓN

Aragón presenta niveles de prevalencia de salmonelosis 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. Sin embargo, una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), puede hacer la grasa de la carne más susceptible a la oxidación. Para frenar la oxidación se pueden utilizar antioxidantes sintéticos (Jensen *et al.*, 1997) pero los consumidores los rechazan debido a su posible toxicidad, por lo que hay un gran interés en antioxidantes de origen natural, entre los que se encuentran los derivados de las plantas (Haak *et al.*, 2008). 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 (Gill y Jones, 1996), pero confiere a la carne un color pardo poco atractivo. En las atmósferas tipo skin no hay apenas pérdida de color y la oxidación se minimiza (Belcher, 2006). El MAP mantiene el color rojo deseable de la carne y previene el crecimiento de patógenos, pero incrementa la oxidación (Renner, 1986). El objetivo del presente trabajo fue investigar si la adición de extractos derivados de plantas a la dieta de los cerdos es capaz de alargar la vida útil y reducir la presencia de *Salmonella* de la carne envasada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 36 machos y 36 hembras, repartidos en tres lotes. CONTROL: pienso comercial. ACEITE: pienso control + 2 Kg aceite/Tm mezcla de carvacrol, timol, eugeno y aldehído cinámico (Molimen, Barcelona). AJO: pienso control + 0,5 Kg/Tm pienso de derivados del ajo (aliina y alicina, Domca, S.A., Granada). A las 24 horas tras el sacrificio, se extrajo el *Longissimus thoracis et lumborum*, se midió el pH (Crison 507, Crison Instruments S.A., Barcelona, Spain). Se obtuvo un filete para la determinación de la cantidad de grasa intramuscular (AOCS Am 5-04) con un extractor Ankom XT10. Para el color (Minolta CM-2006, D65) TBARs (Ripoll *et al.*, 2013), textura (baño María hasta 70°C temperatura interna y célula WB en un Instron 5543) índice de oxidación (TBAR) y presencia de *Salmonella* (R.UE 2073/2005 y R. UE1441/2007), se muestreó un filete por cada tiempo de conservación (1, 4 y 7 días post-mortem) y tipo de envasado. Los tres envasados fueron: 1. FILM. Bandeja de poliexpán con FILM permeable al oxígeno. 2. MAP. Bandeja de poliestireno y atmósfera protectora 70% O₂, 30% CO₂) y 3. VACÍO. Vacío hasta el 4º día post-mortem, desembolsado y bandeja poliexpán con FILM permeable. Se hizo un GLM (SPSS 15.0) con sexo, envase y tiempo como efectos fijos y las diferencias entre medias se calcularon mediante Duncan (p<0,05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sólo el sexo afectó al pH, mayor en machos, aunque ambos están en el rango normal para la especie (Garitano *et al.*, 2012, Latorre *et al.*, 2009). Los valores de grasa intramuscular (4,02% de media; e.e.=0,18) coinciden con los de otros autores (Calvo *et al.*, 2011, Garitano *et al.*, 2012). Ninguno de los factores influyó sobre la cantidad de grasa intramuscular, posiblemente porque las dietas eran isoenergéticas e isoproteicas y todos los animales se sacrificaron al mismo peso. La ausencia de efecto de los EDP en la cantidad de grasa intramuscular ya había sido descrita por otros autores (Ranucci *et al.*, 2015). El color se vio afectado por todos los factores considerados. La L* aumentó desde el día 1 hasta el día 7, siendo mucho más marcado en MAP. Independientemente del tipo de envase, el Chroma (C*)

aumentó a lo largo de los 4 primeros días de exposición, para mantenerse constante después y los valores de C* son mayores en MAP que en los otros envases. Nuestros resultados están de acuerdo con los de otros autores que han descrito que las condiciones de envasado afectan al color de la carne (Alonso *et al.*, 2015, Álvarez-Rodríguez *et al.*, 2015). Los valores de oxidación fueron muy bajos durante todo el tiempo de almacenamiento y dependen del tiempo de almacenamiento y del envase: no hay cambio a lo largo del tiempo en el envase a VACÍO pero se incrementa tanto en FILM como en MAP y los valores en MAP son siempre más altos. El efecto antioxidante de los extractos de plantas no acaba de estar claro en la bibliografía. Así, Simitzis *et al.*, (2010) no encontraron efecto de la adición de aceite de orégano mientras que Martínez *et al.*, (2006) describen un efecto de una mezcla de romero y ácido ascórbico en la estabilidad del salchichón y Hanczakowska *et al.*, (2015) encontraron un efecto de una mezcla de hierbas (*Salvia officinalis*, *Urtica dioica*, *Melissa officinalis* and *Echinacea purpurea*) en carne de cerdo tras 5 meses de congelación. Por otra parte, Fernandez-Lopez *et al.*, (2005) concluyen que las propiedades antioxidantes del ajo dependen de las concentraciones y del método de extracción de sus compuestos activos. La textura se vio afectada por la adición de extractos y por el envase, pero no por el tiempo de almacenamiento. Tanto en FILM como al VACÍO, la carne del lote ACEITE fue más dura que el resto, pero no existen diferencias entre lotes dentro del envase MAP. La carne envasada en MAP fue siempre más dura que el resto. Sorheim *et al.*, (2004) describen que la carne es más tierna si está envasada al vacío que si está en un envase rico en oxígeno, especialmente durante los 7 primeros días y según Bell *et al.*, (1996) es el O₂ y no el CO₂ el gas responsable de un inadecuado ablandamiento de la carne. La prevalencia de *Salmonella* sólo se vio afectada por el lote, siendo menor en el lote ACEITE. Los aceites esenciales de muchas plantas son capaces de inhibir el crecimiento de patógenos, incluida la *Salmonella* (Govaris *et al.*, 2010, Hasapidou y Savvaidis, 2011). Los porcentajes de casos positivos de *Salmonella* que hemos encontrado en el presente experimento están de acuerdo con Valero *et al.*, (2014) quienes describen una prevalencia del 8,33% o con Doménech *et al.*, (2015) quienes describen una prevalencia del 4,6%,. Según Valero *et al.*, (2014) o Manfreda *et al.*, (2014) la *Salmonella* es capaz de sobrevivir, e incluso de crecer, en condiciones de refrigeración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Rodríguez J (2015). XVI Jornadas sobre Producción Animal Tomo II, 657-659.
- Belcher JN (2006). Meat Sci 74, 143-8.
- Bell RG (1996). Meat Sci 42, 371-386.
- Calvo S (2011). XIV Jornadas sobre Producción Animal Tomo II, 682-684.
- Doménech E (2015). Food Control 57, 18-23.
- Fernandez-Lopez J (2005). Meat Sci 69, 371-80.
- Garitano I (2012). ITEA I 108, 241-255.
- Gill CO (1996). Meat Sci 42, 203-213.
- Govaris A (2010). Int J Food Microbiol 137, 175-180.
- Haak L, (2008). Meat Sci 78, 239-47.
- Hanczakowska E (2015). Meat Sci 108, 61-6.
- Hasapidou A (2011). Food Res Int 44, 2751-2756.
- Jensen C (1997). Meat Sci 45, 491-500.
- Latorre MA (2009). J An Sci 87, 1464-1471.
- Manfreda G (2014). Int J Food Microbiol 184, 55-59.
- Martínez L (2006). J Sci Food Agric 86, 1298-1307.
- Ranucci D (2015). Meat Sci 100, 319-26.
- Renerre M (1986). Bull Tech CRZV Theix, INRA 65, 41-45.
- Ripoll G (2013). Meat Sci 93, 906-13.
- Simitzis PE (2010). Meat Sci 84, 670-676.
- Valero A (2014). Int J Food Microbiol 184, 60-63.
- Vico JP (2009). XIII jornadas sobre Producción Animal Tomo I, 182-184.

Agradecimientos: A Raúl Mainar, Carolina Albertí, Sara Andrés y el ALAT del CITA por el apoyo técnico y de laboratorio. Trabajo financiado por el Plan FITE.

INFLUENCE OF ADDITION OF PLANTS BASED EXTRACTS TO PIG' FEED ON 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 was able to enlarge meat shelf-life and to reduce *Salmonella* prevalence. 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 cymenic aldehyde mixture. *Longissimus thoracis et lumborum* were extracted at 24 hours post-mortem and pH, intramuscular fat, color, lipid oxidation, instrumental texture and *Salmonella* presence/absence were investigated. pH was slightly higher in males. Intramuscular fat content was unaffected by studied effects. Color changed throughout ageing, especially in MAP. Lipid oxidation was higher in MAP and they didn't happen in vacuum packaging. Texture values were higher in Oil lot and in MAP packaging.

Keywords: antioxidants, packaging, shelf-life, *Salmonella*

Tabla 1. Valores de dureza (N/cm²) para la carne de cerdo en función del envase y dieta de los cerdos

	CONTROL	AJO	ACEITE
Film	2.51 by	2.61 by	2.94 ay
Vacío	2.67 by	2.85 bx	3.24 ax
MAP	2.88 x	2.82 x	2.89 y

a, b, letras en la misma fila implican diferencias entre lotes ($p < 0,05$). x, y, letras distintas en la misma columna implican diferencias entre envases ($p < 0,05$).

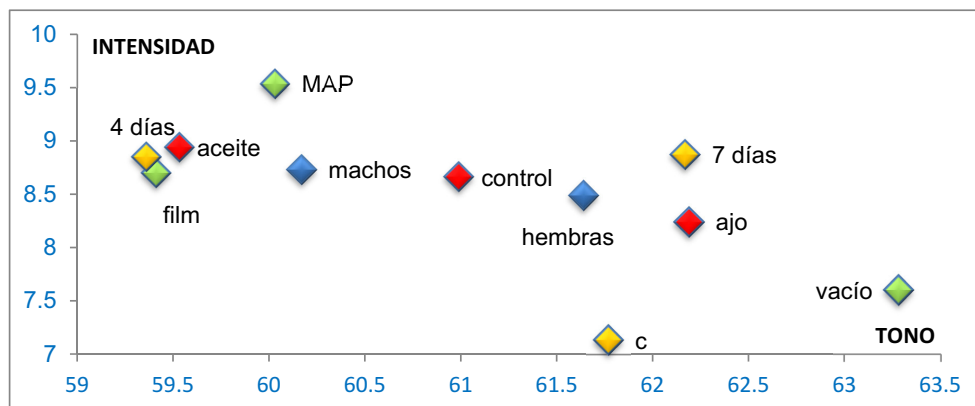


Figura 1. Representación del color de la carne de cerdo (intensidad frente a tono)

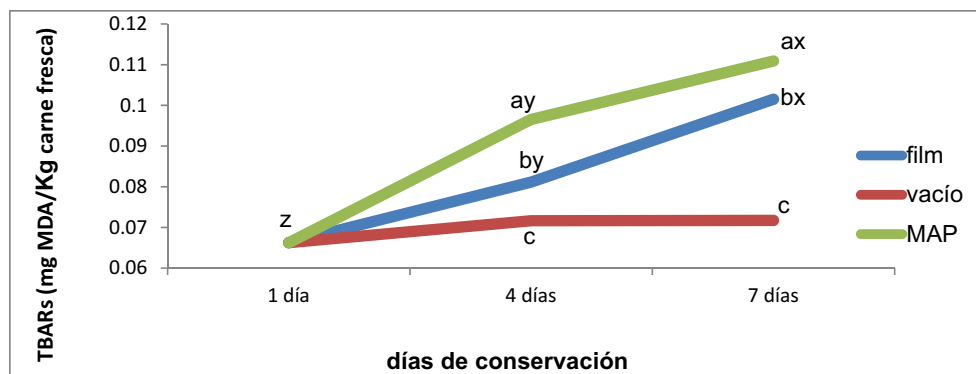


Figura 2. Evolución de los valores de oxidación de la carne de cerdo a lo largo del tiempo, en cada tipo de envase

DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POR NIRS EN CARNE LIOFILIZADA DE 15 RAZAS BOVINAS EUROPEAS

Ripoll¹, G., Failla², S., Panea¹, B., Hocquette³, J.F., Dunner⁴, S., Sañudo⁵, C., Olleta⁵, J.L., Christensen⁶, M., Ertbjerg⁷, P., Richardson⁸, I. Molto², C.y Williams⁹, J.L.

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana, 930, 50059, Zaragoza, Spain. ²CREA, Research Centre for Animal Production and Aquaculture, 00015 Monterotondo, Italy. ³INRA, VetAgro Sup, UMR1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, Saint-Genès Champanelle F-63122, France. ⁴Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain. ⁵Universidad de Zaragoza, Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). 50013, Zaragoza, Spain. ⁶Frontmtec Smørum A/S, Hassellunden 9, DK-2765 Smørum, Denmark. ⁷Department of Food and Environmental Sciences, FI-00014 University of Helsinki, Finland. ⁸Division of Farm Animal Science, University of Bristol, BS40 5DU, United Kingdom. ⁹Davies Research Centre, School of Animal and Veterinary Sciences, University of Adelaide, Roseworthy, SA 5371, Australia. gripoll@aragon.es

INTRODUCCIÓN

La espectroscopia en el infrarrojo cercano ha sido utilizada desde hace años en la industria debido a sus reconocidas ventajas como: rapidez, precisión y que no consume reactivos químicos. Su aplicación más importante ha sido la determinación de la composición de materias primas en la industria agroalimentaria. Por ejemplo, la industria cárnica usa esta tecnología para analizar la carne (Olivan et al., 2002; Prieto et al., 2006; Ripoll et al., 2008, 2018). Sin embargo, las calibraciones NIR pueden fallar cuando la sustancia a determinar está contenida en una matriz con gran porcentaje de agua, porque la absorción de las longitudes infrarrojas por parte de dicha agua es muy grande (Núñez-Sánchez et al. 2008). Así pues, eliminarla antes de la recogida del espectro puede mejorar la cuantificación de ciertas sustancias (Coppa et al., 2010; Meurens et al, 1987; Núñez-Sánchez et al., 2008; Ripoll et al., 2015). El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de la espectroscopia NIR para estimar el perfil de ácidos grasos de carne liofilizada de 15 razas bovinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 436 añejos de 15 razas europeas se cebaron con pienso comercial *ad libitum* en cinco centros de investigación de Reino Unido, Dinamarca, España, Italia y Francia. Las razas incluidas en el estudio y el número de muestras por raza fueron: Aberdeen Angus (27), Asturiana de los Valles (20), Avileña-Negra Ibérica (22), Asturiana de las Montañas (22), Charolesa (21), Danish Red (24), Highland (24), Holstein (25), Jersey (25), Limusina (20), Marchigiana (22), Piemontese (20), Pirenaica (20), Simmental (20) and South Devon (20). Los añejos se cebaron en las condiciones descritas por Albertí et al. (2008) y se sacrificaron con una edad media de 15 meses. Tras el oreo de la canal, se extrajo el músculo longissimus *thoracis* del lado izquierdo entre la 6ª y 13ª costillas y se mantuvo a 2°C durante 48 h. Pasado este tiempo, dos filetes de 3,5 cm de grosor se envasaron al vacío y congelaron a -18°C. Uno de los filetes se transportó en hielo seco al CREA-ZA (Italia) para la recogida de los espectros NIR y el otro se transportó a la Universidad de Bristol para la determinación del perfil de ácidos grasos siguiendo el procedimiento detallado por Sevane (2014). Para la recogida de los espectros, se eliminó la grasa intermuscular, se picó la carne y se liofilizó. Posteriormente, la carne liofilizada y molida se colocó en una cápsula cilíndrica de 35 mm de diámetro y una profundidad de 10 mm con cristal de cuarzo. El espectro de reflectancia se recogió por duplicado con un aparato FOSS NIRSystems 5000 (FOSS NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, USA). El espectro se recogió desde los 1000 hasta los 4000 cm⁻¹ (1000 a 2500 nm), en intervalos de 2 cm⁻¹/nm y grabado como el log (1/R). Los espectros recogidos de cada raza se repartieron entre el grupo de calibración (67 %) y el de validación (33 %) de manera que el grupo de calibración tuvo 222 espectros y el de validación tuvo 110 espectros. El tratamiento quimiométrico de los espectros y los datos se realizaron con Unscrambler X (Camo Software AS, Noruega). Los mejores modelos se eligieron en función del error estándar de la validación

(SEP), del coeficiente de determinación de la validación (R^2_p) y del valor predictivo residual ($RPD=SD/SEP$), donde SD es la desviación estándar de método de laboratorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran las medias y las desviaciones estándar de cada uno de los grupos usados para la calibración y la validación. Se observa como los ácidos grasos tienen medias y desviaciones semejantes entre ambos grupos. En general, la desviación estándar es grande con respecto a la media para todos los ácidos grasos mostrando una gran variabilidad de datos, que es conveniente para obtener modelos útiles y de calidad. Los ácidos grasos saturados o monoinsaturados, en general, tuvieron los mejores estadísticos con R^2_p mayores de 0,70 y RPD mayores de 1.8. Los ácidos grasos omega 3 y 6 son los que, de manera general tuvieron peores modelos, con R^2_p entre 0,26 y 0,60 y RPD entre 1,2 y 1,6. Barlocco et al. (2006) consideraron que una RPD cercana a 2 es adecuada para la estimación cuantitativa de la mayoría de materiales (Mouazen et al., 2005; Prieto et al., 2009). Estos resultados se obtuvieron utilizando para la mayor parte de los modelos la primera derivada del espectro y en general no fueron necesarias las distintas correcciones de dispersión como SNV o MSC, que si son necesarias cuando se trabaja con carne fresca (Ripoll et al. 2008). El uso de carne liofilizada consigue valores similares a los de la carne fresca pero tiene la ventaja del manejo de la muestra y de que se puede guardar sin alterar para nuevos análisis. Por el contrario, supone un manejo intermedio de la muestra.

Tabla 1. Estadísticas de los grupos de calibración y validación de ácidos grasos (mg/100 g de carne).

	Grupo de calibración		Grupo de validación	
	Media	CV	Media	CV
12:0	2,1	89,27	2,1	87,62
14:0	73,6	80,09	71,6	77,06
16:0	651,2	73,80	639,9	69,12
16:0ald	23,4	27,43	24,0	30,28
16:1	92,5	79,75	89,0	72,08
18:0	401,1	63,38	398,2	59,69
18:0ald	15,9	28,24	16,6	32,85
18:1t9	77,5	98,27	75,2	91,38
9c18:1	854,2	77,10	831,0	68,96
11c18:1	49,0	59,54	47,8	52,37
18:2n-6	183,3	34,29	183,3	29,87
20:1	4,0	81,43	3,8	68,45
18:3n-3	15,2	80,95	15,0	78,80
9c11tCLA	8,1	78,49	7,8	67,07
20:3n-6	9,1	27,11	9,1	29,29
20:4n-6	38,6	24,90	39,3	25,45
20:5n-3	4,2	52,20	4,3	54,45
22:4n-6	4,9	43,91	5,0	45,48
22:5n-3	9,6	32,39	9,8	35,35
22:6n-3	0,9	66,96	0,9	68,02
AG totales	2701,3	65,91	2652,1	60,21
AG saturados	1167,3	67,70	1152,3	63,73
AG monoinsaturados	1077,2	75,95	1046,8	68,15
AG poliinsaturados	265,8	29,78	266,7	27,20

CV, coeficiente de variación; AG, ácidos grasos

Tabla 2. Estadísticos de validación de los modelos de predicción

	SEP	R ² _p	RPD
12:0	0,97	0,72	1,9
14:0	27,97	0,74	2,0
16:0	234,99	0,72	1,9
16:0ald	6,66	0,16	1,0
16:1	30,31	0,78	2,1
18:0	129,39	0,70	1,8
18:0ald	4,85	0,21	1,1
18:1 t9	50,16	0,47	1,4
9c18:1	276,24	0,77	2,1
11c18:1	12,69	0,74	2,0
18:2n-6	41,32	0,43	1,3
20:1	1,10	0,71	1,8
18:3n-3	7,07	0,65	1,7
9c11tCLA	3,25	0,62	1,6
20:3n-6	2,09	0,39	1,3
20:4n-6	8,60	0,26	1,2
20:5n-3	1,90	0,38	1,3
22:4n-6	1,74	0,39	1,3
22:5n-3	2,79	0,36	1,2
22:6n-3	0,01	0,60	1,6
Total FA	730,79	0,79	2,2
SFA	355,68	0,77	2,1
MUFA	340,36	0,77	2,1
PUFA	53,81	0,45	1,3

SEP, error estándar de la validación; R²_p, coeficiente de determinación de la validación; RPD = SD/SEP; SD, desviación estándar

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí et al 2008. *Livestock Science*, 114(1), 19-30.
- Coppa et al. (2010). *Dairy Journal*, 20(3), 182-189.
- Meurens et al. (1987). (J. Hollow, K. J. Kaffka, & J. L. Gonczy Eds.). Budapest, Hungary: Akademiai Kiado.
- Núñez-Sánchez et al. (2008). *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 16(1), 381.
- Olivan et al. (2002). In, 10th International Conference on Near Infrared Spectroscopy. Kyongju, Korea.
- Prieto et al. (2006). *Meat Science*, 74(3), 487-496.
- Ripoll et al. (2008). *Meat Science*, 80(3), 697-702.
- Ripoll et al. (2015). *Animal Feed Science and Technology*, 207, 20-30.
- Ripoll et al. (2018). *Meat Science*, 143, 24-29.
- Scollan et al (2001). *British Journal of Nutrition*, 85(1), 115-124.
- Sevane et al. 2014. *Livestock Science*, 160, 1-11

Agradecimientos: Trabajo financiado por el proyecto "GemQual" (QLK5-CT-2000-00147) del Sexto programa marco de la Unión Europea.

NEAR-INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY FOR PREDICTING FATTY ACID COMPOSITION OF DRY FREEZED BEEF OF FIFTEEN EUROPEAN BREEDS

ABSTRACT: Meat from 15 European bovine breeds were used to develop calibrations to estimate the fatty acid composition. The use of dry freeze meat before the collection of NIR spectra achieved similar results than prediction models are developed with spectra from fresh meat. The spectra of meat did not need complex pretreatments as scatter corrections (SNV or MSC). The first derivative of spectra was the most usual pretreatment to develop predictive models.

Keywords: near infrared, fatty acids, dry-freeze, meat

ESTUDIO DE LA CALIDAD DEL HUEVO EN LA RAZA AUTÓCTONA GALLINA VALENCIANA DE CHULILLA: RESULTADOS PRELIMINARES

Mocé¹, E., Gómez¹, E.A., Cerisuelo¹, A.

¹CITA-IVIA, Polígono la Esperanza, 100. Apdo. 187, 12400-Segorbe, Castellón.
moce_eva@gva.es

INTRODUCCIÓN

La disminución del censo o la desaparición de razas autóctonas a favor de otras estirpes mucho más productivas ha sido un problema ligado a la implantación de los sistemas de producción intensivos. Prácticamente la mitad de las razas de aves se encuentran en peligro de extinción (revisado por Blesbois et al., 2007). Para evitar su desaparición, es necesario crear un nicho de mercado para sus producciones mediante el fomento de su consumo. No obstante, es necesario primero determinar si los alimentos producidos por estas razas presentan alguna característica diferencial que las distinga de lo ya existente y les confiera una ventaja en el mercado.

La gallina valenciana de Chulilla es una raza autóctona de la Comunidad Valenciana, catalogada como raza en peligro de extinción. Desde el año 2004 se estableció un programa de conservación de la raza basado en la conservación *in situ* de la población viva y en la conservación *ex situ* mediante la creación de bancos de recursos genéticos que almacenan semen, ADN y tejido gonadal. No obstante, no se han realizado trabajos orientados a estudiar la calidad de sus producciones.

El objetivo de este trabajo fue comparar la calidad de los huevos producidos por las gallinas de esta raza autóctona con los de gallinas de una estirpe de ponedoras comerciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se utilizaron 34 huevos de 32 gallinas ponedoras de la estirpe comercial Lohman Brown de 28 semanas de edad (ponedoras comerciales), 34 huevos de 53 gallinas de raza valenciana de Chulilla de entre 56 y 59 semanas de edad (Chulilla viejas) y 52 huevos de 39 gallinas de raza valenciana de Chulilla de entre 22 y 24 semanas de edad (Chulilla jóvenes).

Todas las gallinas fueron alimentadas con un pienso comercial a base de maíz y harina de soja para gallinas en fase de puesta perteneciente al mismo lote comercial. El pienso contenía 18,2% de proteína bruta, 0,98% de lisina y 0,4% de metionina.

De cada uno de los huevos recogidos se anotó el peso total del huevo. Además, cada huevo fue abierto y se separaron las claras de las yemas, anotando el peso de la yema. Las cáscaras se dejaron secar durante 48 h a temperatura ambiente, anotando entonces el peso de la cáscara. El peso de la clara se obtuvo por sustracción (peso total del huevo - peso de la yema - peso de la cáscara).

A partir de estos datos se generaron dos nuevas variables: el porcentaje de yema (peso de la yema/(peso de yema + peso de la clara) x 100) y el porcentaje de cáscara (peso de la cáscara/peso total del huevo x 100).

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS incluyendo el tipo de gallina (con tres niveles: ponedoras, Chulilla viejas y Chulilla jóvenes) como efecto fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para los parámetros de morfología de huevo en gallinas valencianas de Chulilla y gallinas ponedoras comerciales de la estirpe Lohmann Brown se encuentran resumidos en la Tabla 1.

Como se observa en la tabla, existen diferencias entre grupos para todos los parámetros estudiados. Con respecto al peso total del huevo, existe efecto tanto de la estirpe como de la edad de la gallina dentro de la misma estirpe. Las ponedoras y las gallinas de Chulilla viejas tienen un tamaño de huevo similar, a pesar de que hay una diferencia de 28 semanas de edad entre estos dos grupos. El efecto de la línea sobre este parámetro ha sido observado previamente en otros estudios donde se ha comparado la calidad del huevo entre distintas estirpes (Hrnčár et al., 2016; Monira et al., 2003; Popova-Ralchera et al., 2009; Silversides y Scott, 2001). Por otra parte, el peso del huevo aumenta conforme aumenta la edad de las gallinas (44,7 g a 22 s de edad y 58,9 g a 56 s de edad en gallinas de Chulilla), resultado que

corroborar las observaciones de otros autores trabajando con otras estirpes de gallinas (Kocevski et al., 2011; Popova-Ralcheva et al., 2009; Silversides y Scott, 2001).

El peso de la yema también incrementa conforme aumenta la edad de las gallinas y es diferente entre estirpes, resultado que corrobora el obtenido por otros autores previamente (Popova-Ralcheva et al., 2009; Silversides y Scott, 2001).

Resulta llamativo el peso del albumen en las gallinas que pertenecen a la estirpe Lohmann Brown que presentan mayor peso de clara que las gallinas de Chulilla de cualquiera de las edades. Por otra parte, dentro de las gallinas de Chulilla, el porcentaje de yema incrementa en términos relativos en mayor proporción con la edad (53%) de lo que aumenta el porcentaje de clara (25%), lo que corrobora el resultado observado previamente por otros autores (Silversides y Scott, 2001).

Con respecto a la cáscara, existen diferencias tanto entre edades dentro de la misma raza como entre estirpes, tal y como se observa en otros trabajos (Silversides y Scott, 2001). Nuevamente, es un parámetro que varía menos entre edades dentro de la misma raza que el tamaño de la yema. De hecho, el porcentaje de cáscara con respecto al peso total del huevo disminuye con la edad, resultado que también se observa en otros trabajos (entre 9,32 y 10,5% a 32 s y 8,93 y 10,1% a 50 s en distintas estirpes; Popova-Ralcheva et al., 2009).

Por último, las gallinas pertenecientes a la raza valenciana de Chulilla presentan mayor porcentaje de yema a cualquiera de las edades (34,7% a 56s y 30,1% a 22s) que las gallinas ponedoras (26,5% a 28s). En estudios previos se observó que la relación yema: clara era más dependiente de la raza que de la edad de los animales (Suk y Park, 2001). Por otra parte, en otros trabajos también se ha observado un efecto de la edad sobre el porcentaje de yema del huevo, presentando las gallinas de 50 s de vida un mayor porcentaje de yema que las de 32 s (Popova-Ralcheva et al., 2009).

Quizás el hecho de que la yema tenga un tamaño mayor podría darle alguna ventaja comercial a este tipo de huevos para un determinado perfil de consumidores o para determinados usos culinarios. No obstante, es necesario realizar más estudios para determinar si los huevos producidos por las gallinas de la raza valenciana de Chulilla presentan alguna otra característica diferencial (como el perfil de ácidos grasos de la yema) con respecto a las estirpes explotadas de forma comercial.

Tabla 1. Parámetros de morfología de huevo en gallinas valencianas de Chulilla y gallinas ponedoras comerciales (Lohmann Brown).

Grupos	Chulilla viejas	Chulilla jóvenes	Ponedoras comerciales	P-valor
Peso total, g	58,9±0,7a	44,7±0,6b	60,6±0,7a	<0,001
Peso yema, g	18,4±0,2a	12,0±0,2c	14,3±0,2b	<0,001
Peso clara, g	34,8±0,5b	27,7±0,4c	39,9±0,5a	<0,001
Peso cáscara, g	5,8±0,1b	5,0±0,1c	6,4±0,1a	<0,001
Porcentaje yema, %	34,7±0,4a	30,1±0,3b	26,5±0,3c	<0,001
Porcentaje cáscara, %	9,8±0,1c	11,3±0,1a	10,5±0,1b	<0,001

Chulilla viejas: edad entre 56 y 59 semanas; Chulillas jóvenes: edad entre 22 y 24 semanas; Ponedoras comerciales: 28 semanas de edad; diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blesbois, E., Seigneurin, F., Grasseau, I., Limouzin, C., Besnard, J., Gourichon, D., Coquerelle, G., Tixier-Boichard, M. 2007. *Poult. Sci.* 86: 555-564.
- Hrnčár, C., Biesiada-Drzazga, B., Nikolova, N., Hanusová, E., Hanus, A. & Bujko, J. 2016. *Acta Fytotechn. Zootechn.* 19: 123-127.
- Kocevski, D., Nikolova, N. & Kuzelov, A. *Biotechnology in Animal Husbandry* 27: 1649-1658.
- Monira, K.N., Salahuddin, M. & Miah, G. 2003. *Intern. J. Poult. Sci.* 2: 261-263.
- Popova-Ralcheva, S., Sredkova, V., Valchev, G. & Bozakova, N. 2009. *Archiva*

Zootecnica 12: 24-30. • Silversides, F.G. & Scott, T.A. 2001. Poult. Sci. 80: 1240-1245. • Suk, Y.O. & Park, C. 2001. Poult. Sci. 80: 855-858.

Agradecimientos: financiado por los proyectos RTC-2015-3265-5 y RZP2017-00004, cofinanciados con fondos FEDER.

STUDY OF EGG QUALITY IN THE AUTOCHTHONOUS HEN BREED 'VALENCIANA DE CHULILLA': PRELIMINARY RESULTS

ABSTRACT: The 'valenciana de Chulilla' hen is an endangered autochthonous breed from the valencian area. Currently there is an ongoing preservation program to maintain the genetic diversity but the quality of its products has not been determined. The objective of this study was to determine the quality of the eggs produced by this breed in comparison to a commercial laying hen. We used hens belonging to the 'valenciana de Chulilla' breed from two different ages (22 w and 56 w) and Lohmann Brown laying hens (aging 28 w). We measured the weights from the eggs, egg yolk (EY), egg white (EW) and egg shell (ES), and from these we determined the percentage of EY (%EY; respect to the EY + EW) and the percentage of ES (%ES; respect to the egg weight). Differences were observed for all the parameters between breeds and age within the 'valenciana de Chulilla' breed. All the parameters increased as the age increased, except for the %ES). EW weight was higher in laying hens and %EY lower than in the 'valenciana de Chulilla' breed. More studies are required to complete the characterization of the egg quality of this indigenous breed.

Keywords: Indigenous breed; product quality; differentiated quality; endangered breed.

SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA DE UN EMBUTIDO FERMENTADO PORTUGUÉS EN RELACIÓN A SUS CARACTERÍSTICAS INTRÍNSECAS Y VARIABLES DE PROCESO

Nunes Silva¹, B., Cadavez¹, V., Pires², P., Dias¹, T. y Gonzales-Barron¹, U.

¹ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agraria, Instituto Politécnico de Bragança. Campus de Santa Apolonia, 5301-855 Bragança, Portugal. ² Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Viana do Castelo, Portugal; ubarron@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

En Portugal, se conoce como “*chouriço*” a un embutido semi-seco fermentado hecho de carne de cerdo cruda, no molida. Su proceso de elaboración se inicia al marinar la carne en trozos en una mezcla de agua, sal, vino regional y condimentos, aunque algunas fábricas incluyen también agentes de cura en esta fase. En la etapa siguiente, la fermentación ocurre espontáneamente sin adición de cultivos iniciadores (Gonzales-Barron et al., 2015; Roseiro et al., 2010; Elias et al., 2014). Después de 2 a 3 días de maduración, la mezcla se embute en tripas de cerdo, y después de ser brevemente ahumada, se somete a un proceso de maduración a bajas temperaturas. Este proceso productivo lo llevan a cabo generalmente fabricantes artesanales en pequeña/mediana escala, y cada unidad utiliza sus propias variantes y técnicas tradicionales. Por veces, esto se traduce en la obtención de productos de calidad microbiológica, estabilidad e inocuidad variables. Aparte de eso, no es raro que el proceso de elaboración sufra variaciones dentro de la misma unidad, debido a la falta de control de algunas variables de proceso (Marcos et al., 2016); por tanto, generando variabilidad en la calidad de lote para lote. Un estudio meta-analítico sobre la ocurrencia de patógenos en productos cárnicos tradicionales de Portugal, reveló valores de prevalencia promedio para *L. monocytogenes* de 8,0% (IC 95%: 5,10-15,1%) y *S. aureus* de 18,4% (95% IC: 9,00-33,9%) en embutidos “a ser consumidos crudos” (Xavier et al., 2014), entre los cuales figura el *chouriço*.

De esta manera, queda clara la necesidad de mejorar los métodos actuales de producción de *chouriço* mediante el entendimiento de cuáles son los factores de riesgo que afectan la calidad microbiológica de este producto y cómo reducir la variabilidad entre lotes de producción. En este estudio, se realizaron muestreos en cinco etapas de procesamiento, desde carne trozada hasta producto final, para someterlas a análisis fisicoquímicos y microbiológicos, con la finalidad de: (i) identificar las variables de proceso críticas, responsables por los niveles variables de *Enterobacteriaceae*, *S. aureus*, y *L. monocytogenes* entre los distintos lotes muestreados; y (ii) evaluar las relaciones entre propiedades fisicoquímicas del producto y la contaminación microbiana a lo largo del proceso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron dos fábricas en el Nordeste de Portugal para realizar muestreos en cinco etapas de procesamiento, a saber, carne trozada, macerada, embutida, ahumada y madurada (producto final), así como también de tripas. Se investigaron 6 lotes de producción por fábrica, totalizando 12 lotes de producción. Una de las fábricas no utiliza ningún aditivo en su formulación (Fábrica I) mientras que la segunda (Fábrica II) adiciona sales de cura (nitritos y nitratos) y polifosfatos durante la maceración. Para medir el grado de contaminación microbiana en los ambientes de producción, se realizaron también frotis de un total de 6 elementos ambientales por lote, entre los que figuraron, mesas, carritos, embutidora, cuchillos y manos de operadores. Los análisis fisicoquímicos realizados en carnes fueron actividad de agua (a_w), pH, humedad, y concentraciones de hidróxido de sodio (sal), nitritos, nitratos y polifosfatos. Los análisis microbiológicos, realizados en carnes, tripas y elementos ambientales fueron recuentos de *Enterobacteriaceae*, *L. monocytogenes* y *S. aureus*. Adicionalmente, se realizaron mediciones de temperatura y humedad relativa (HR) en las salas de corte de carne, maceración, embutido y maduración. Todos los ensayos fisicoquímicos y microbiológicos fueron realizados utilizando métodos aprobados.

Se analizaron los datos provenientes de todos los lotes y las dos fábricas, a manera de revelar: (i) las dependencias entre propiedades fisicoquímicas y los recuentos microbianos a

lo largo del proceso; (ii) el impacto de la duración de los procesos y la contaminación ambiental en los recuentos microbianos a lo largo del proceso; y (iii) los factores que contribuyen al crecimiento o sobrevivencia de *Enterobacteriaceae* y patógenos durante el procesamiento. Para alcanzar los objetivos de análisis (i) y (ii), se ajustaron modelos longitudinales a cada grupo microbiano (variable de respuesta), considerando a las variables fisicoquímicas, microbiológicas o ambientales (temperatura y HR de ambientes) como variables independientes; mientras que para el objetivo de análisis (iii) se utilizaron modelos de regresión múltiple tipo paso a paso (stepwise) con un α de ingreso y salida del 0,20. Todos los modelos fueron ajustados en el software R (R Core Team, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los embutidos producidos en la Fábrica II revelaron mayor a_w promedio al final del ahumado y la maduración (0,941 y 0,930, respectivamente) que los de la Fábrica I (0,929 y 0,914, respectivamente), lo cual se debe al menor periodo de maceración en esta fábrica así como también al uso de polifosfatos en la formulación del producto. En las carnes fermentadas, los polifosfatos aumentan la fuerza iónica y la capacidad de ligación al agua, lo cual puede originar un aumento indeseable del pH, tal como aconteció en los chorizos de la Fábrica II. Aunque los chorizos de la Fábrica I hayan presentado un declive continuo de pH, en ambas fábricas el pH promedio del producto final (I: 5,369; II: 5,815) fue superior al necesario para suprimir el crecimiento de *Salmonella* spp. y *S. aureus* (5,3; ICMSF, 2005). Esta situación revela la importancia de garantizar que el tiempo en el cual la carne madurada permanece por encima de 5,3 sea mínimo para asegurar que estos patógenos no proliferen. Debido al aumento significativo en los recuentos de *Enterobacteriaceae* ($p=0,017$) y *S. aureus* ($p=0,087$) que puede ocurrir hasta el fin de la maceración, esta etapa fue considerada como un punto crítico del proceso productivo.

Tabla 1. Variables críticas contribuyentes al desarrollo y sobrevivencia de *S. aureus* y *L. monocytogenes* en carne macerada, chorizo ahumado y chorizo madurado producidos en las fábricas investigadas

Microorganismo	Variables seleccionadas paso a paso (stepwise) ^a	R ² parcial	Valor F	Pr > F
S. aureus	Carne macerada			
	<i>S. aureus</i> después de mezclar (+)	0,341	4,65	0,059
	pH de la carne macerada (+)	0,207	3,06	0,123
	Chorizo ahumado			
	[Sal] después del ahumado (-)	0,462	7,74	0,021
	Nitritos adicionados (-)	0,339	4,62	0,060
	Chorizo madurado			
	Temperatura de maceración (+)	0,408	6,22	0,034
	pH después del ahumado (+)	0,221	3,01	0,121
	Días de maduración (-)	0,197	2,21	0,171
L. monocytogenes	Carne macerada			
	<i>L. mono.</i> en la mezcla (+)	0,885	77,4	<,0001
	Temperatura de maceración (-)	0,504	10,15	0,010
	pH de la carne macerada (+)	0,336	5,07	0,048
	Nitritos adicionados (-)	0,020	1,90	0,201
	Chorizo ahumado			
	<i>L. mono.</i> en tripas (+)	0,223	2,88	0,120
	a_w después del ahumado (+)	0,222	2,86	0,122
	Chorizo madurado			
	<i>L. mono.</i> después del ahumado (+)	0,906	97,2	<,0001
<i>L. mono.</i> en tripas (+)	0,347	5,31	0,044	
Días de producción (-)	0,261	3,53	0,090	

^aAsociación positiva (+) o negativa (-) entre variables

Tal como muestra la Tabla 1, la contaminación del chorizo estuvo asociada positivamente con la temperatura ambiental de la sala donde se realiza la maceración (*S. aureus*: $p=0,034$; *L. monocytogenes*: $p=0,010$) y con el pH final de la carne macerada (*L. monocytogenes*: $p=0,048$). Los lotes con menor concentración de sal en la carne ahumada ($p=0,021$), mayor temperatura ambiental en la sala de maceración ($p=0,034$) y sujetos a menor tiempo de maduración ($p=0,171$) presentaron recuentos más altos de *S. aureus* en el producto final; mientras que niveles más altos de contaminación en la mezcla de la carne con los otros ingredientes ($p<,0001$) y en las tripas ($p=0,044$), y menor tiempo de producción ($p=0,090$) condujeron a mayores recuentos de *L. monocytogenes* en el producto final (Tabla 1).

En lo que respecta a la introducción de nitritos en la formulación, aunque su presencia haya presentado un fuerte efecto reductor de *Enterobacteriaceae* durante el ahumado ($p<,0001$) y en *L. monocytogenes* durante la maduración ($p=0,036$), su uso no reveló ningún impacto negativo en el crecimiento de *S. aureus* ($p=0,060$). En general, estos resultados revelan que, en la producción de *chouriço*, la maceración es una etapa crítica, y deben introducirse en esta fase acciones de monitorización de temperatura de macerado y pH de la carne en maceración. Adicionalmente, se necesita implementar acciones de control de calidad de las tripas, de las materias primas así como estandarizar la duración de las etapas de proceso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gonzales-Barron, U.; Cadavez, V.; Pereira, A.P.; Gomes, A.; Araújo, J.P.; Saavedra, M.J.; Estevinho, L.; Butler, F.; Pires, P.; Dias, T. 2015. *Food Res Int* 78, 50-61.
- Roseiro, L.C.; Gomes, A.; Goncalves, H.; Sol, M.; Cercas, R.; Santos, C. 2010. *Meat Sci* 84, 172-179.
- Elias, M.; Potes, M.E.; Roseiro, L.C.; Santos, C.; Gomes, A.; Agulheiro-Santos, A.C. 2014. *J Food Res* 3, 45-56.
- Marcos, C.; Viegas, C.; Almeida, A.M.; Guerra, M.M. 2016. *J Ethn Foods* 3, 51-60.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Xavier, C.; Gonzales-Barron, U.; Paula V.; Estevinho L.; Cadavez V. 2014. *Food Res Int* 55, 311-323.
- ICMSF. 2005. *Microorganisms in Foods 6. Microbial Ecology of Food Commodities: Chapter 1*; 2nd edition; New York: Kluwer Academic.

MICROBIOLOGICAL SAFETY OF PORTUGUESE DRY-FERMENTED CHOURIÇO SAUSAGES AS AFFECTED BY PROCESSING AND PHYSICOCHEMICAL FACTORS

ABSTRACT: In order to identify risk factors and main differences of the manufacturing technology of Portuguese *chouriço* leading to variable levels of *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*; microbiological and physicochemical characterisation of *chouriço* sampled at five stages of production was performed. Twelve production batches were surveyed from two factories, one of them used curing agents. The results suggest that maceration is a critical point of the process since *Enterobacteriaceae* ($p=0,017$) and *S. aureus* ($p=0,087$) could significantly increase until the end of such stage. The contamination of *chouriço* correlated positively with the maceration room temperature (*S. aureus*: $p=0,034$; *L. monocytogenes*: $p=0,010$) and the final pH of the macerated meat (*L. monocytogenes*: $p=0,048$). Batches with lower salt concentration in smoked meat ($p=0,021$), and shorter ripening time ($p=0,171$) presented higher *S. aureus* counts in *chouriço*; whereas higher levels of contamination in the mixture ($p<,0001$) and casings ($p=0,044$) led to higher *L. monocytogenes* counts in the end-product. Although nitrite showed a strong effect on reducing *Enterobacteriaceae* during smoking ($p<,0001$) and controlling *L. monocytogenes* during ripening ($p=0,036$), it did not hinder ($p=0,060$) *S. aureus* growth. These results reveal the need to implement more process controls during elaboration, and standardise the production process of *chouriço* in order to assure consumers' safety.

Keywords: *Chouriço*; *Staphylococcus aureus*; *Listeria monocytogenes*; longitudinal models.

ELABORACIÓN DE QUESO DE PASTA DURA CON COAGULANTE VEGETAL (*CYNARA CARDUNCULUS* L.): EFECTO EN EL RENDIMIENTO QUESERO Y COMPOSICIÓN DEL LACTOSUERO

Estrada^{1,2}, O., Ariño², A., Román³, M. y Juan^{1,2}, T.

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Avda. Montañana, 930,
50059 Zaragoza

²Instituto Agroalimentario de Aragón IA2 (Universidad de Zaragoza – CITA), Facultad de
Veterinaria. C/ Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza

³QUALIAM, S.L. C/ Velázquez 119, Madrid, España.
oestrada@cita-aragon.es

INTRODUCCIÓN

Actualmente los coagulantes vegetales se utilizan de manera minoritaria en la elaboración de quesos. En España solo 3 denominaciones de origen protegidas (DOPs Torta del Casar, Queso de la Serena y Flor de Guía) de los 28 quesos reconocidos por Europa con figuras de calidad diferenciada, utilizan extractos vegetales para su elaboración. En Portugal, su uso está más extendido y el coagulante vegetal se emplea en 7 de las 12 variedades de queso amparadas con DOPs. La preparación de los extractos coagulantes se realiza macerando en agua pistilos de flores de cardo (*Cynara cardunculus* L.), y el filtrado resultante es añadido directamente a la leche provocando la coagulación. Una de las características comunes de este tipo de quesos es la textura blanda y untuosa de la pasta, producida por el elevado poder proteolítico que tienen los enzimas vegetales respecto a las enzimas animales (Almeida y Simoes, 2018).

El uso de flores de cardo (*Cynara cardunculus* L.) como coagulante para elaborar queso de pasta dura puede ser un elemento diferenciador en un mercado que cada vez más demanda productos aptos para vegetarianos, o con certificaciones Halal o Kosher, en donde no intervenga el sacrificio de ningún animal, puesto que el cuajo tradicional se obtiene del abomaso de animales sacrificados en matadero. Además, supone recuperar una práctica perdida de las masías del Maestrazgo de la provincia de Teruel.

En este marco, el objetivo de este trabajo ha sido optimizar las condiciones tecnológicas para elaborar queso de oveja de pasta dura con coagulante vegetal, obtenido a partir de flores del cardo (*Cynara cardunculus* L.) como sustituto al cuajo de ternera, así como evaluar su efecto en la composición del suero y en el rendimiento quesero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se elaboraron 4 lotes de queso utilizando una cuba de 50 L de capacidad en la planta piloto de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Se realizaron 2 réplicas independientes de cada lote utilizando leche cruda de oveja de raza Assaf de una explotación ganadera de la provincia de Teruel (Aguilar del Alfambra).

Las fabricaciones experimentales consistieron en un lote elaborado con cuajo de ternera comercial (Control) y tres lotes de quesos elaborados con extractos coagulantes vegetales (CV) preparados a partir de pistilos secos y picados de flores de *Cynara cardunculus* L. Los extractos vegetales se prepararon a 3 concentraciones diferentes (5%, 3,5% y 2,5%), macerando respectivamente 25 g, 17,5 g y 12,5 g en 500 mL de agua destilada a 20 °C durante 2 horas. Para las elaboraciones se añadió a la leche cloruro de calcio (Arroyo) en proporciones de 1:8000 (Control) y 1:4000 (CV). En todos los lotes se emplearon fermentos heterofermentativos con predominio de especies mesófilas (CHOOZIT 4001/4002 MA, Danisco) constituidos por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis biovar diacetylactis* y *Streptococcus thermophilus*. Una vez alcanzada la temperatura de cuajado (30 °C para Control y 34 °C para CV) se añadió el coagulante. Para las elaboraciones Control se empleó cuajo de ternera (Arroyo, 1:15000) en una concentración 0,13 mL/L de leche. Para las elaboraciones con coagulante vegetal (CV) se añadieron 7,6 mL/L de leche. El tiempo de cuajado fue 50 minutos para el Control, 65 minutos para CV 5,0% y 80 minutos para CV 3,5% y CV 2,5%. En las fabricaciones Control, tras el corte de la cuajada, se incrementó la temperatura de la cuba a 37 °C y se agitó durante 10 minutos. En las elaboraciones con CV, la temperatura de la cuba se incrementó a 40 °C y

se agitó durante 25 minutos. El prensado se realizó en una prensa neumática horizontal, aplicando una presión progresiva desde 1,5 kg hasta 3,0 kg durante el tiempo necesario para que los quesos redujeran el pH hasta 5,40 - 5,55. Los quesos se salaron por inmersión en salmuera (18 °Bé a 10 °C) durante 5 horas y se oreadon a temperatura ambiente durante toda la noche.

Las muestras de leche y suero de cada lote se analizaron en el laboratorio de la Asociación Interprofesional Lechera de Aragón. Se determinó el porcentaje de grasa, proteína, extracto seco magro (ESM) y lactosa mediante espectroscopía infrarroja (MilkoScan, Foss Electric).

El rendimiento quesero (Rdto), considerado como los litros de leche necesarios para elaborar un kilogramo de queso, se determinó gravimétricamente pesando los quesos obtenidos en cada elaboración tras el salado y oreo, y se calculó el cociente entre los litros de leche utilizados y los kilogramos de queso obtenidos en cada fabricación.

El análisis de los datos se realizó mediante un test ANOVA considerando las diferencias significativas cuando p-valor < 0,05. Se utilizó el programa SPSS 15.0 (SPSS IBM Statistics).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 resume las condiciones tecnológicas empleadas en cada lote de fabricación para obtener una textura de la cuajada apropiada en la elaboración de quesos de pasta dura.

Tabla 1. Condiciones tecnológicas de la etapa de cuajado y batido en las elaboraciones Control, CV 5,0%, CV 3,5% y CV 2,5%.

	Control	CV 5,0%	CV 3,5%	CV 2,5%
Tª cuajado	30 °C	34 °C	34 °C	34 °C
Tiempo cuajado	50 min	65 min	80 min	80 min
Batido	37 °C/10 min	40 °C/25 min	40 °C/25 min	40 °C/25 min

La Tabla 2 recoge la composición fisicoquímica media de la leche y del suero, así como el rendimiento quesero obtenido bajo las diferentes condiciones de fabricación. El porcentaje medio de grasa ($7,66 \pm 0,35\%$), proteína ($5,54 \pm 0,01\%$) y lactosa ($4,76 \pm 0,01\%$) de la leche utilizada fue comparable a los datos de composición reportados para leches de otoño de ovejas de raza Assaf por Todaro (2014). Sin embargo, la leche utilizada para este estudio presentó un porcentaje de grasa superior al valor de 6,2% establecido por Asociación nacional de criadores de ganado ovino de la raza Assaf (www.assafe.es), aunque el valor de proteína fue similar al establecido en 5,3% por dicha Asociación.

Respecto a la composición del suero, el lote CV 2,5% presentó el mayor contenido en grasa y el menor porcentaje de lactosa y extracto seco magro de todos los lotes ($p < 0,05$), indicando una menor capacidad de la cuajada formada para retener los glóbulos grasos.

La formación de cuajadas blandas se ha relacionado con la pérdida de componentes de leche (grasa, proteínas no caseínicas y otros productos de degradación) a través del suero y con una reducción en el rendimiento quesero. Sin embargo, la mayor pérdida de grasa en el suero que observamos en las elaboraciones con CV 2,5%, no se tradujo en diferencias significativas en el rendimiento quesero ($p > 0,05$). No en vano, se obtuvieron los mismos kilogramos de queso utilizando los diferentes coagulantes.

Las modificaciones tecnológicas realizadas en el proceso de elaboración del queso con coagulante vegetal, incrementando la temperatura y el tiempo de la etapa de cuajado y de la etapa de batido/agitación, respecto a las condiciones utilizadas con cuajo de ternera permitieron obtener quesos de oveja de pasta dura con el mismo rendimiento quesero.

En conclusión, la utilización de coagulante vegetal procedente de las flores de *Cynara cardunculus* L., permite alcanzar rendimientos queseros totalmente comparables a los obtenidos con cuajo de ternera, por lo que constituye una alternativa en términos tecnológicos y productivos en el tipo de queso estudiado.

Tabla 2. Composición fisicoquímica media de leche y suero, y rendimiento quesero de las fabricaciones Control, CV 5,0%, CV 3,5% y CV 2,5%.

Leche						
		Grasa (%) p/p	Proteína (%) p/p	ESM (%) p/p	Lactosa (%) p/p	
		7,66 ± 0,35	5,54 ± 0,01	11,17 ± 0,01	4,76 ± 0,01	
Suero						
Fabricación	n	Grasa (%) p/p	Proteína (%) p/p	ESM (%) p/p	Lactosa (%) p/p	Rdto (l/kg) (Fabricación)
Control	2	1,13 ± 0,08 ^a	1,87 ± 0,02 ^a	7,66 ± 0,00 ^a	5,23 ± 0,02 ^a	4,43 ± 0,33 ^a
CV 5,0%	2	1,46 ± 0,2 ^a	1,90 ± 0,06 ^a	7,64 ± 0,18 ^a	5,18 ± 0,14 ^a	4,41 ± 0,23 ^a
CV 3,5%	2	1,23 ± 0,0 ^a	1,88 ± 0,01 ^a	7,60 ± 0,01 ^a	5,14 ± 0,00 ^a	4,78 ± 0,35 ^a
CV 2,5%	2	2,37 ± 0,13 ^b	1,80 ± 0,01 ^a	7,03 ± 0,02 ^b	4,61 ± 0,03 ^b	4,42 ± 0,17 ^a

^{a-b} Valores en la misma columna con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alemida, C.M. & Simoes, I. 2018. Appl. Microbiol. Biotechnol. 102: 4675–4686.
- Todaro, M., Bonanno, A. & Scatassa, M.L. 2014. Dairy Sci. Technol. 94: 225–239.

Agradecimientos: Convenio INIA-CITA, Fondo de Inversiones de Teruel (Gobierno de Aragón-FEDER), Asociación de Productores de Leche y Queso de Teruel y Grupo A06_17R (Gobierno de Aragón-FEDER).

ELABORATION OF HARD-CHEESE WITH VEGETABLE COAGULANT (*CYNARA CARDUNCULUS* L.): EFFECT ON CHEESE YIELD AND WHEY COMPOSITION

ABSTRACT: The aim of this work was to optimize the technological conditions using fresh extracts of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) as vegetable coagulant (CV) to manufacture hard cheeses. Four pilot-scale batches in duplicate were made with raw sheep milk using calf rennet (Control) and fresh cardoon extracts at 3 different concentrations (CV 5.0%, CV 3.5% and CV 2.5%). The coagulation took place at 30 °C in the Control and at 34 °C in all CV lots, while coagulation time for the Control (50 min) was extended to 65 min (CV 5.0%) or 80 min (CV 2.5 and 3.5%). Finally, the agitation conditions of the curd were also modified in the elaborations with plant coagulant, increasing from 37 °C (Control) to 40 °C (all CV lots) and extending the duration from 10 to 25 minutes, respectively. The technological changes made in the cheese-making process with vegetable coagulant, increasing the temperature and time of the curdling and agitation steps, with respect to the control with calf rennet, allowed to obtain hard sheep cheese with the same performance in terms of cheese yield and whey composition.

Keywords: plant coagulant, *Cynara cardunculus* L., hard cheese, yield

ELABORACIÓN DE QUESO PASTA DURA CON COAGULANTE VEGETAL (*CYNARA CARDUNCULUS* L.): EFECTO EN LA TEXTURA INSTRUMENTAL DURANTE LA MADURACIÓN

Estrada^{1,2}, O., Ariño², A., Mallor^{1,2}, C. y Juan^{1,2}, T.

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Avda. Montañana, 930, 50059 Zaragoza

²Instituto Agroalimentario de Aragón IA2 (Universidad de Zaragoza – CITA), Facultad de Veterinaria. C/ Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza
oestrada@cita-aragon.es

INTRODUCCIÓN

En el proceso de transformación de la leche en queso los enzimas coagulantes juegan un papel fundamental y su origen puede ser animal, vegetal o microbiano. En la elaboración de quesos artesanos el uso más extendido es el coagulante de origen animal obtenido a partir del abomaso de rumiantes y denominado “cuajo”. Sin embargo, existe un interés creciente por el uso de coagulantes vegetales debido al incremento de consumidores que demandan productos en los que no intervenga el sacrificio animal, bien por cuestiones morales (vegetarianismo), cuestiones religiosas (judaísmo e islamismo) o por ampliar mercado en un entorno innovador.

Los extractos de *Cynara* sp. han sido utilizados durante siglos en la elaboración de quesos artesanales de oveja y/o cabra en la Península Ibérica. Se utilizan principalmente para elaborar quesos “tipo torta” como el Queijo Serra da Estrela o el Queijo Serpa en Portugal, o la Torta del Casar o Queso de la Serena en España. La textura blanda y untuosa de estos quesos se relaciona con el elevado poder proteolítico de los enzimas vegetales sobre las caseínas de la leche, traduciéndose en una pérdida de estructura del coágulo (Roseiro et al. 2003; Sousa & Malcata, 2002).

Desde la Asociación de Productores de Leche y Queso de Teruel se ha planteado recuperar el uso de flores de cardo (*Cynara cardunculus* L.), concretamente de sus pistilos, como coagulante para la elaboración de un queso de pasta dura, como se hacía antiguamente en las masías del Maestrazgo de la provincia de Teruel.

En este marco, los objetivos del presente trabajo consistieron en: (1) optimizar las condiciones tecnológicas para la elaboración de queso de oveja de pasta dura utilizando coagulante vegetal procedente de flores del cardo (*Cynara cardunculus* L.), como sustituto del cuajo, y (2) estudiar el efecto del tipo de coagulante en la textura instrumental del queso durante la maduración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se elaboraron 4 lotes de queso utilizando una cuba de 50 L de capacidad en la planta piloto de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Se realizaron 2 réplicas independientes de cada lote utilizando leche cruda de oveja de raza Assaf de una explotación ganadera de la provincia de Teruel (Aguilar del Alfambra).

Las fabricaciones experimentales consistieron en un lote elaborado con cuajo de ternera comercial (Control) y tres lotes de quesos elaborados con extractos coagulantes vegetales (CV) preparados a partir de pistilos secos y picados de flores de *Cynara cardunculus* L. Los extractos vegetales se prepararon a 3 concentraciones diferentes (5,0%, 3,5% y 2,5%), macerando respectivamente 25 g, 17,5 g y 12,5 g en 500 mL de agua destilada a 20 °C durante 2 horas. Para las elaboraciones se añadió a la leche cloruro de calcio (Arroyo) en proporciones de 1:8000 (Control) y 1:4000 (CV). Para todos los lotes se emplearon fermentos heterofermentativos con predominio de especies mesófilas (CHOOZIT 4001/4002 MA, Danisco). Una vez alcanzada la temperatura de cuajado (30 °C para Control y 34 °C para CV) se añadió el coagulante. Para las elaboraciones Control se empleó cuajo de ternera comercial (Arroyo, 1:15000) en una concentración 0,13 mL/L de leche. Para las elaboraciones con CV se añadieron 7,6 mL de extracto/L de leche. El tiempo de cuajado fue 50 minutos para el Control, 65 minutos para CV 5,0% y 80 minutos para CV 3,5% y CV 2,5%. En las fabricaciones Control, tras el corte de la cuajada, se incrementó la temperatura de la cuba a 37 °C y se agitó durante 10 minutos. En las elaboraciones con CV, la temperatura de la cuba se incrementó a 40 °C y se agitó durante 25 minutos. El prensado se realizó en una prensa neumática

horizontal, aplicando una presión progresiva desde 1,5 kg hasta 3,0 kg durante el tiempo necesario para que los quesos redujeran el pH hasta un rango comprendido entre 5,40 - 5,55. Los quesos se salaron por inmersión en salmuera (18 °Bé a 10 °C) durante 5 horas y se orearon a temperatura ambiente durante toda la noche. Tras el oreo de los quesos se trasladaron a una cámara de maduración a 11-14 °C y 60-70% de humedad relativa, en una de las queserías de la Asociación de Productores de Leche y Queso de Teruel (Tronchón, Teruel). El seguimiento de la maduración se realizó a los 7, 30, 60, 90, 120 y 150 días. Se analizaron un total de 48 quesos (4 coagulantes x 6 días de maduración x 2 réplicas). Para la determinación de la textura instrumental de los quesos se realizaron dos pruebas, un test de penetración para determinar la dureza de la corteza del queso, utilizando la pieza de queso entera y realizando las medidas en la parte central de las dos caras planas del queso, y un análisis del perfil de textura (TPA) de la pasta del queso, utilizando 3 secciones cilíndricas de 1 cm de altura y 2 cm de diámetro de la parte interior del queso. Las propiedades de textura de los quesos se determinaron con un texturómetro TA.XT2 Plus Texture Analyser (Stable Micro Systems), equipado con una célula de carga de 30 kg. Para el análisis de dureza de la corteza de los quesos se empleó una sonda cilíndrica SMS P/4 (4 mm) de acero inoxidable. Las piezas enteras de queso fueron atemperadas a 20 °C durante tres horas. La fuerza de activación fue de 3 g, la velocidad del test 1 mm/s y la distancia de penetración 10 mm. Para el análisis de textura de la pasta de los quesos, se realizó un test de doble compresión, TPA, utilizando una sonda cilíndrica P/1R (2,5 cm de diámetro) de acero inoxidable con una velocidad de 4 mm/s, hasta alcanzar una compresión de 5 mm. Se midieron los parámetros de dureza (fuerza máxima necesaria para lograr una deformación de la muestra), adhesividad (fuerza necesaria para superar la atracción entre la muestra y una superficie), elasticidad (la altura a la que es capaz de recuperarse el alimento entre el final del primer ciclo de compresión y el comienzo del segundo), cohesividad (extensión a la que puede deformarse la muestra antes de llegar a romperse), gomosidad (fuerza para desintegrar una muestra semisólida a un estado que facilite su ingestión) y masticabilidad (trabajo necesario para masticar la muestra). El análisis de los datos se realizó aplicando un modelo lineal general (MLG) univariante y considerando la maduración como covariable. Se utilizó el programa estadístico SPSS 15.0 (SPSS IBM Statistics).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tipo de coagulante utilizado no influyó significativamente ($p > 0,05$) en la dureza de los quesos, ni a nivel de corteza, ni en la pasta de los quesos durante los 150 días de maduración estudiados (Figura 1). La dureza de la corteza y de la pasta de los quesos aumentó significativamente ($p < 0,001$) con el tiempo de maduración. A nivel de corteza, el principal incremento en la dureza se produjo entre los días 30 y 90. A partir de los 90 días de maduración, los valores de dureza de la pasta de los quesos disminuyeron.

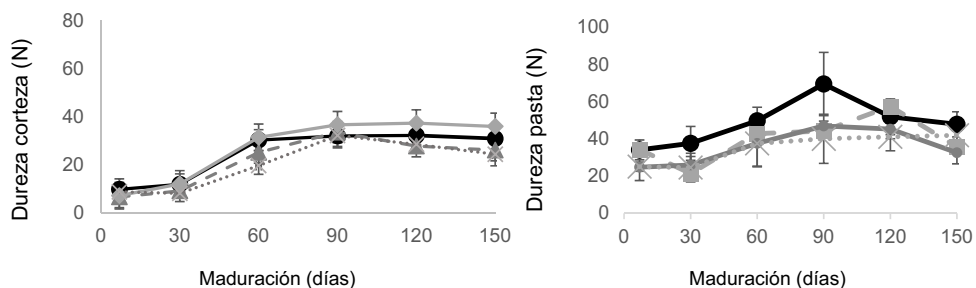


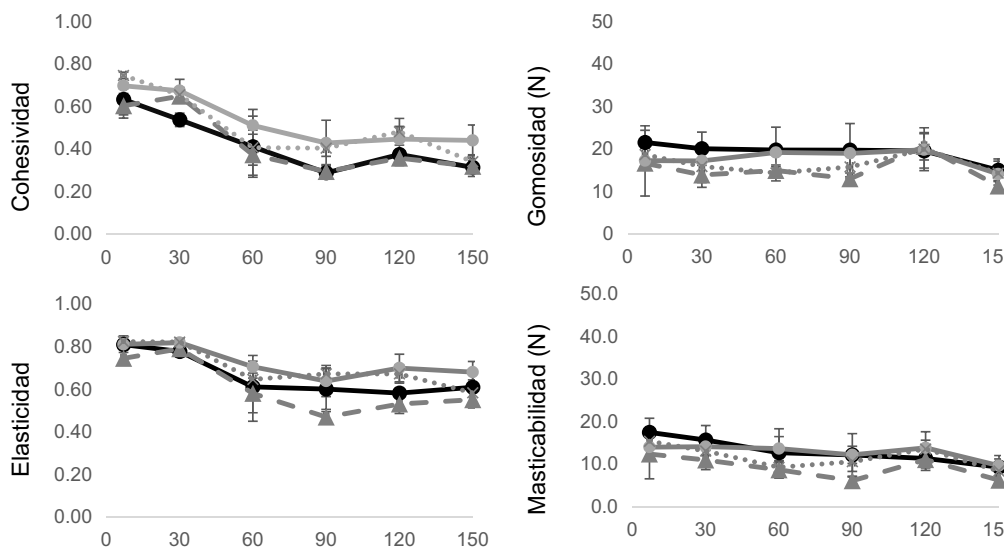
Figura 1. Valores medios (\pm desviación estándar) de la dureza de la corteza (a) (test de penetración) y de la pasta (b) (TPA) de los quesos elaborados con cuajo Control (—●—) y coagulante vegetal CV 5,0% (---▲---), CV 3,5% (—◄—) y CV 2,5% (---*---).

Los quesos evolucionaron a pastas menos cohesivas, elásticas, gomosas y con menor masticabilidad (Figura 2). El efecto de la maduración fue significativo ($p < 0,05$) para cada

parámetro evaluado mediante el análisis de perfil de textura (TPA), excepto la adhesividad ($p>0,05$) que se mantuvo constante durante la maduración. Sin embargo, el tipo de coagulante no influyó en el perfil de textura de los quesos.

Las condiciones tecnológicas empleadas en las elaboraciones con coagulante vegetal respecto a las utilizadas en las elaboraciones con cuajo de ternera, han permitido obtener quesos de oveja de pasta prensada con un perfil de textura similar, independientemente del coagulante utilizado.

A la vista de los resultados podemos concluir que, bajo las condiciones de elaboración descritas en este trabajo, la utilización de extractos de flores de cardo (*Cynara cardunculus* L.) como coagulante, se plantea como una alternativa al uso del cuajo para la elaboración de



queso de oveja de pasta dura.

Figura 2. Evolución de los parámetros de textura de la pasta de los quesos elaborados con cuajo Control (—●—) y coagulante vegetal CV 5,0% (---▲---), CV 3,5% (—■—) y CV 2,5% (.....◇.....).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Roseiro, L.B., Barbosa, M., Mames, J. & Wilbey, R. A. 2003. Int J Dairy Technol. 56:76-85.
- Sousa, M.J. & Malcata F.X. 2002. Lait 82: 151-170.

Agradecimientos: Convenio INIA-CITA, Fondo de Inversiones de Teruel (Gobierno de Aragón-FEDER), Asociación de Productores de Leche y Queso de Teruel y Grupo A06_17R (Gobierno de Aragón-FEDER).

ELABORATION OF HARD-CHEESE WITH VEGETABLE COAGULANT (*CYNARA CARDUNCULUS* L.): EFFECT ON INSTRUMENTAL TEXTURE DURING RIPENING

ABSTRACT: The aim of this work was to compare the effect of the type of coagulant in the texture of the rind and the paste of sheep milk cheese during 150 days of ripening. Calf rennet (Control) and fresh extracts of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) at three concentrations (5.0%, 3.5% and 2.5%) were evaluated. A penetration test was carried out for the evaluation of the rind texture, while a texture profile analysis (TPA) was conducted for the evaluation of the cheese paste. Cheeses made with either extracts of *Cynara cardunculus* L. or calf rennet showed a similar texture profile. Thus, this plant coagulant can be used as an adequate substitute for animal rennet in the elaboration of hard cheese.

Keywords: *Cynara cardunculus* L., plant coagulant, hard cheese, texture

CALIDAD DE LA CARNE DE RAZA PIRENAICA: CONSUMO DE PROXIMIDAD EN LA COMARCA DEL SOBRARBE

Olleta*, J.L., Guarnido, P., Sañudo, C., Resconi, V.C., Guerrero, A. y Campo, M.M.
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (Universidad de Zaragoza – CITA). c/ Miguel Servet 177. 50013-Zaragoza. *olleta@unizar.es

INTRODUCCIÓN

El mercado de la carne está siendo sometido a muchos cambios. Binomios como consumo de carne y salud, carne y bienestar animal, carne y huella de carbono-contaminación y, en definitiva, carne y sostenibilidad, son algunos de los planteamientos del consumidor y de la sociedad. Por eso es interesante valorar alternativas tales como incrementar la demanda de carne de vacuno producida localmente. Con ello se consigue minimizar el consumo de energía externa (transportes, combustibles, trabajo) para así disminuir la contaminación (Steinfeld y Gerber, 2010) y abaratar el producto. Igualmente implica la promoción cultural de lo autóctono y local como medio para asentar los valores de lo propio. Además, se incentiva el desarrollo de determinadas áreas geográficas, habitualmente rurales. Un lugar predispuesto a ello pueden ser aquellas zonas que cuentan con riqueza forrajera y especies ganaderas, como los bovinos, que las aprovechen. La ganadería puede tener menor importancia económica que otras actividades como el turismo, pero juega un papel fundamental en el mantenimiento de la diversidad ecológica, paisajística y cultural (Plieninger et al., 2006) y las políticas agrarias actuales le reconocen su multifuncionalidad: productiva, medioambiental y social. En esta idea, la carne de vacuno producida a partir de animales nacidos en una zona concreta, criados en ella a partir, en una gran proporción, de materias primas locales, sacrificados, procesados, comercializados y/o consumidos en dicha zona, debería ser una alternativa útil para ese deseado desarrollo sostenible. El objetivo de este trabajo ha sido analizar la calidad de la carne de vacuno de raza Pirenaica producida localmente en el Pirineo en la comarca del Sobrarbe, comparándola con carne de animales sacrificados en otras zonas pero que también se comercializan allí.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 24 animales distribuidos en 3 lotes: 8 terneras (10,75 meses y 238 kg canal) de raza Pirenaica nacidas, producidas y sacrificadas en la zona, alimentadas fundamentalmente con materias primas propias (A), 8 terneras (11,75 meses y 225,6 kg canal) de raza Pirenaica nacidas en la zona pero cebadas y sacrificadas fuera de ella (B) y 8 terneras (9,88 meses y 231 kg canal) de formato cárnico (cruce con raza Limusina) que son comercializadas habitualmente en el Sobrarbe, pero cuya procedencia y sacrificio son ajenos a la zona (C). Las terneras del lote A se sacrificaron en el matadero municipal de Aínsa. El resto se sacrificó en 2 mataderos industriales: lote B en MercaZaragoza (Zaragoza) y lote C en Fribin (Binéfar). A las 24 horas post sacrificio se extrajo de la media canal izquierda el redondo (músculo *semitendinosus*) que fue trasladado en condiciones de refrigeración a la Facultad de Veterinaria donde se envasó al vacío y se mantuvo a 4°C hasta la realización del muestreo. Se valoraron 2 maduraciones (4 y 11 días) medidas cada una con un filete de 3 cm guardado en frigorífico y envasado al vacío

Para la determinación de la textura instrumental se utilizó el método de cizalla (Warner-Bratzler) y el de compresión. Para el primero, las muestras una vez descongeladas (a 4°C durante 24 h previas al análisis) se cocinaron a baño maría (75°C) hasta que la parte interna del filete alcanzó los 70°C. Una vez enfriadas se cortaron prismas de 1 cm de ancho por 1 cm de alto. La medición se realizó mediante una máquina de ensayos universal INSTRON 4301. Se valoró la carga en relación a la superficie y dureza. Para el análisis de compresión se procedió de la misma manera pero utilizando carne no cocinada y una célula de compresión (Lepetit y Culioli, 1994). Se analizó el esfuerzo al

20% y 80% de compresión. Para evaluar las pérdidas por cocción se midieron las pérdidas de peso de los filetes cocinados para determinar la textura por el método de cizalla.

El análisis de consumidores se llevó a cabo en condiciones controladas en la Facultad de Veterinaria. Previo al mismo, las muestras se descongelaron en frigorífico durante 24 horas. La carne fue cocinada en un grill de doble placa precalentado a 200°C, presentándola sin sal, aceite u otros aditivos. La temperatura final de cocinado, en el interior de las muestras, fue de 70°C. Participaron 80 personas que probaron las muestras codificadas y en distinto orden para que fuera equilibrado (Macfie *et al.*, 1989). Utilizaron una escala estructurada de 8 categorías, desde me disgusta muchísimo (1) hasta me gusta muchísimo (9), donde se eliminó el punto neutro central.

El estudio estadístico se analizó con el paquete estadístico SPSS v. 22.0. Se realizó un análisis de varianza para valorar la significación del efecto lote y/o maduración y su interacción. Las diferencias entre medias se consideraron con un test de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En textura (Tabla 1) ha habido diferencias en la fuerza de corte, ofreciendo menor resistencia la ternera procedente del lote A, ocupando un lugar intermedio la ternera comercial (lote C), siendo el lote B el que presentó la carne más dura, lo que podría estar justificado por diferencias en el tratamiento *post-mortem* de las canales, además de posibles diferencias debidas a los animales o al manejo pre-sacrificio. Por lo que respecta a la maduración, los resultados tanto de las pruebas de compresión como de corte indican una superior terneza en la carne más madurada (24% y 9,7% respectivamente), debido a que los procesos enzimáticos que ocurren tras el sacrificio afectan a la fibra muscular favoreciendo el ablandamiento. Las pérdidas en el proceso de congelación-descongelación y cocinado han sido similares en los tres lotes.

Tabla 1. Análisis de la textura según los diferentes tratamientos y maduraciones

EFECTOS	TRATAMIENTO			MADURACIÓN		RMSE	TRAT	MAD
	A	B	C	4 d	11 d			
<i>n</i>	16	16	16	24	24			
C20 (N/cm ²)	8,22	8,59	7,16	9,08a	6,90b	2,83	0,34	0,01
C80 (N/cm ²)	60,28	68,92	63,98	63,68	65,11	13,51	0,20	0,71
Pérdidas congelación (%)	9,51	9,16	8,33	8,88	9,11	1,71	0,08	0,83
Pérdidas cocinado (%)	22,81	20,98	22,03	20,96	22,96	6,69	0,27	0,06
Fuerza de corte (kg/cm ²)	3,95b	4,69a	4,32ab	4,54	4,10	0,70	0,01	0,03
Dureza (kg/cm ²)	2,18	2,41	2,03	2,26	2,15	0,44	0,05	0,39

A: terneras de raza Pirenaica nacidas, producidas y sacrificadas en Sobrarbe; B: terneras de raza Pirenaica nacidas en Sobrarbe pero cebadas y sacrificadas fuera; C: terneras de formato cárnico sacrificadas fuera; RMSE: raíz del error cuadrático medio; a, b, c: letras distintas implican diferencias significativas ($P < 0.05$). Sin interacciones entre tratamiento y maduración.

En el análisis de consumidores (Tabla 2) puede decirse que los tres lotes tuvieron una valoración media-alta, destacando la mayor puntuación otorgada en todos los parámetros (aceptabilidad de la terneza, del sabor y global) al lote A, que se aproxima a 7 en una escala de 1 a 9. Esta opinión es interesante puesto que ese lote corresponde a las terneras que no salen del Sobrarbe y que supone un circuito corto de producción y comercialización. Las valoraciones más bajas se obtuvieron en el lote B, especialmente en lo relativo a la aceptabilidad de la terneza, lo que se relaciona con la

mayor dureza instrumental recogida en la Tabla 1. No ha habido interacción significativa entre tratamiento y maduración. Con 11 días de maduración los consumidores aprecian diferencias importantes respecto a 4 días, mejorando en un 6,25% las notas de ternera y aceptabilidad general.

Podríamos concluir que con estos resultados y en las condiciones del estudio, las terneras de raza Pirenaica nacidas, producidas y sacrificadas en el Sobrarbe pueden suponer un aliciente para potenciar los circuitos cortos de comercialización.

Tabla 2. Aceptabilidad del panel de consumidores de los diferentes tratamientos y maduraciones

EFECTOS	TRATAMIENTO			MADURACIÓN		RMSE	TRAT	MAD
	A	B	C	4 d	11 d			
<i>n</i>	80	80	80	80	80			
Acept. Global	6,88a	6,19b	6,50a	6,39b	6,73a	1,34	<0,001	0,004
Acept. Ternera	6,98a	5,87c	6,59b	6,28b	6,68a	1,51	<0,001	0,003
Acept. Sabor	6,89a	6,43b	6,65ab	6,52b	6,80a	1,30	0,020	0,012

A: terneras de raza Pirenaica nacidas, producidas y sacrificadas en Sobrarbe; B: terneras de raza Pirenaica nacidas en Sobrarbe pero cebadas y sacrificadas fuera; C: terneras de formato cárnico sacrificadas fuera; Acept.: aceptabilidad; RMSE: raíz del error cuadrático medio; a, b, c: letras distintas implican diferencias significativas ($P < 0.05$). Escala: 1, me disgusta muchísimo, 9, me gusta muchísimo. Sin interacciones entre tratamiento y maduración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lepetit, J., Culioli, J. 1994. *Meat Sci.* 36: 203-207.
- Macfie, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K., Vallis, L.V. 1989. *J. Sen. Stud.* 4(2): 129-148.
- Plieninger, T., Höchtl, F. Spek, T. 2006. *Environ. Sci. Policy* 9(4): 317-321.
- Steinfeld, H., Gerber, P. 2010. *PNAS* 107(43), 18237-18238.

Agradecimientos: El estudio fue financiado por el Programa de Desarrollo Rural 2014-2020 del Gobierno de Aragón y Fondos FEADER (GCP 2016-0010-00).

BEEF QUALITY OF THE PIRENAICA BREED: LOCAL CONSUMPTION IN THE SOBRARBE (HUESCA, SPAIN)

ABSTRACT: Beef produced from animals' born, reared, finished, slaughtered, processed, commercialized and consumed locally, and fed with local feedstuffs, could be considered a sustainable product and could aid in the development of rural areas. In Sobrarbe region (Huesca, Spain) three main types of beef are commercialized: with animals produced and slaughtered locally; locally produced, but slaughtered in a large-scale slaughterhouse out of the region; and produced (or just finished) and slaughtered outside Sobrarbe. The objective of this study was to assess the meat quality of these three commercial systems. Twenty four heifers were distributed in three treatments: A, from Pirenaica breed, born, reared and slaughtered in Sobrarbe; B, from Pirenaica breed born in the same region, but slaughtered in another place; and C, from Limusina crossbred, reared and slaughtered out of this zone. The group A had the lowest score in Warner Bratzler shear force (3,95 kg/cm²) and the highest acceptability by a consumer panel in overall liking, tenderness and flavour ($P < 0.05$). These results showed that a high eating quality could be reached by the local beef production in the Pyrenees.

Keywords: Local market, consumer, meat quality, Pyrenees

COMPORTAMIENTO DEL CONSUMIDOR ANTE EL CONSUMO DE LA CARNE DE CONEJO.

Sarriés*, M.V., Ruiz, M., Insausti, K. y Alfonso, L.

Instituto de Investigación Is-Food. ETSIA. Universidad Pública de Navarra. 31006 Pamplona.

*vsarries@unavarra.es.

INTRODUCCIÓN

Se considera que la carne de conejo presenta una serie de propiedades, que podrían hacer de ella un producto muy atractivo para el consumidor actual. La carne de conejo ofrece propiedades nutritivas excelentes, rica en proteínas (aprox. 22%) y ayuda a mantener una dieta equilibrada y baja en grasas (Hernández y Gondret, 2006; Dalle Zotte, y Szendrő, 2011). Su consumo está vinculado al recetario tradicional en muchas zonas de España, siendo, por tanto, un elemento fundamental en la cultura gastronómica del país, extendiendo su presencia en otros territorios del área mediterránea (Buitrago, et al. 2016). Sin embargo, el consumo de carne de conejo viene sufriendo desde hace años una retracción preocupante. En este sentido, las empresas productoras de carne de conejo están encontrando dificultades estructurales relevantes para su supervivencia y están sufriendo crecientes críticas por parte de los consumidores relacionados con las condiciones de bienestar y otras cuestiones éticas. En la actualidad, el consumo per cápita en carne de conejo en España se sitúa en el orden de unos 1,27 kilos en 2017 (MAPAMA 2018). La combinación de tales aspectos críticos está amenazando la producción de carne de conejo, cuestionando su futuro y supervivencia. Por ello, el propósito de este estudio fue conocer algunos factores y motivaciones relacionados con el consumo de carne de conejo y determinar cómo algunos factores sociodemográficos afectan a la decisión de compra.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio, se ha utilizado una encuesta en 83 consumidores. La encuesta fue realizada en diciembre de 2016 y mayo de 2017 y el cuestionario incluyó 30 preguntas abiertas y cerradas. Las preguntas abiertas permitieron que el encuestado pudiera dar respuestas por él mismo con sus propias palabras, en cambio, las preguntas cerradas, la persona encuestada tuvo unas opciones de respuesta establecidas dentro de la pregunta con una o varias opciones a elegir empleando escalas de Likert con cinco niveles jerarquizados (1=mínima puntuación; 5= máxima puntuación). Las preguntas de la encuesta fueron agrupadas en cuatro secciones. La primera, consintió en conocer las características sociodemográficas de los consumidores. En la segunda sección, en estudiar los hábitos de consumo y compra de la carne de conejo. En la tercera, en determinar los criterios y decisión de compra y por último la última parte del cuestionario, se centró en conocer los posibles frenos que afectan al consumo de la carne de conejo. El tratamiento de los datos de las variables se ha llevado a cabo mediante el programa estadístico SPSS 25.0, con el que se han calculado las frecuencias necesarias que permitieron la caracterización del perfil del entrevistado y determinar si los factores sociodemográficos causaron diferencias en la importancia de la compra de la carne de conejo. Para ello, los datos se analizaron mediante tablas de contingencia en las que se realizaron pruebas de X^2 (Chi-cuadrado). Se consideró un nivel de confianza de un 95% como valor discriminante para detectar diferencias significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados sociodemográficos obtenidos de las encuestas, el reparto fue equilibrado por sexos (48% mujer, 52% hombre) y edades (entre 18 y >65 años), aunque la mayor parte pertenecían a clase social media con ingresos de más de 1500€ (71%) y estudios universitarios (66%). En lo que respecta a los hábitos de consumo y compra de la carne de conejo, el consumo se realiza mayoritariamente en el hogar y la mayor parte de gente (77%) manifiesta no consumir conejo cuando come o cena fuera de casa (restaurantes, hoteles, etc.). Además, de los datos de la encuesta se extrae que la principal razón para el consumo de carne de conejo se debe fundamentalmente porque este tipo de carne es saludable (69%), sabrosa (57%), tiene poca grasa y "no engorda" (46%), tiene múltiples formas de preparación (36%), es de calidad (31%), fácil de preparar (27%), tiene buen precio (28%), es tradicional (24%) y puede ser una alternativa a otras carnes (20%). Estos resultados coinciden con los

hallados por Montero et al., (2018) donde se constata que la carne de conejo es considerada por los consumidores como una carne salubre, saludable y fácil de adquirir. En lo que respecta a los criterios y decisión de compra, en la tabla 1 se muestra el grado de importancia concedida por los encuestados a los distintos aspectos para consumir carne de conejo. Como criterios importantes a la hora de comprar, un 89% de los consumidores destacan la gran importancia del aspecto de la pieza (color, textura, frescura, cantidad de grasa, etc), seguido por el consejo del carnicero (un 50%), la alimentación de los animales (un 50%), así como la información acerca del conejo (forma crianza, controles sanitarios, etc.) (un 48%). Atendiendo a los factores sociodemográficos, la edad de los encuestados se relacionó de manera significativa con la importancia de la alimentación animal ($X^2 = 41,92$; $p < 0,1$), el bienestar animal ($X^2 = 44,62$; $p < 0,05$), la contribución al mantenimiento del desarrollo rural ($X^2 = 47,04$; $p < 0,05$) y se consideró importante tener más información relativa referida al animal ($X^2 = 41,85$; $p < 0,1$) como puede ser la forma crianza, los controles sanitarios, etc. La clase social mostró diferencias significativas en el aspecto derivado por el consejo del carnicero ($X^2 = 30,31$; $p < 0,1$). Para finalizar, el nivel de estudios mostró diferencias significativas en el bienestar animal ($X^2 = 41,008$; $p < 0,05$). Estos resultados coinciden con los hallados por Cullere y Dalle Zotte (2018) donde se manifiesta la relevancia que tiene el bienestar animal y otros aspectos éticos relacionados con la producción, como factores decisivos que afectan al consumo de la carne de conejo. Finalmente, en lo que respecta sobre los frenos al consumo de la carne de conejo, en la figura 1 se muestran los motivos por los que se rechaza el consumo de la carne de conejo. Las principales razones por las que no se adquiere y consume más carne de conejo son la falta de costumbre (49%) y el hecho de preferir otras carnes antes que la de conejo (33%). Algunas personas manifestaron un rechazo ya sea porque en general no gusta, por su sabor, por el aspecto de las piezas, porque es difícil de cocinar y porque requiere su tiempo de preparación. En este sentido, De Carlo (1998) y Dalle Zotte (2002) mostraron que los consumidores que rechazan la carne de conejo por su sabor, se debe a que la carne de conejo posee un sabor silvestre. En este sentido, se debería seguir trabajando mecanismos para poder mitigar o reducir ese sabor silvestre. Cullere y Dalle Zotte (2018) corroboraron que el aspecto de las piezas también es un motivo por el que los consumidores rechazan la compra de este producto, especialmente en los jóvenes, cuya elección está particularmente impulsada por la presentación del producto. Por último, del presente estudio cabe señalar, que la gran mayoría de los encuestados (un 88%) consideraron que los sellos de calidad aportan garantías a la carne de conejo, asimismo, estarían dispuestos a pagar más si la alimentación de los conejos se basara en materias primas semejantes a las que utilizan los “conejos de campo” (79%).

Tabla 1. Grado de importancia concedida por la persona a los distintos aspectos para consumir carne de conejo

	Algo (%)	Bastante (%)	Mucho (%)	Nada (%)	Poco (%)	NS/ NC (%)
AA	26,8	32,9	17,1	1,2	14,6	7,3
BA	26,8	32,9	7,3	2,4	22	8,5
DR	28	28	8,5	3,7	23,2	8,5
OG	28	26,8	12,2	9,8	15,9	7,3
P	43,9	31,7	9,8	1,2	23,2	7,3
AP	2,4	39	50	1,2	15,9	7,3
CC	26,8	34,1	15,9	2,4	6,1	9,8
OI	24,4	37,8	11	3,7	11	7,3

AA= alimentación del animal; BA= Bienestar animal; DR= Contribuye al desarrollo rural; OG= Origen geográfico; P= precio; AP= aspecto pieza; CC= Consejo carnicero; OI= Otra información

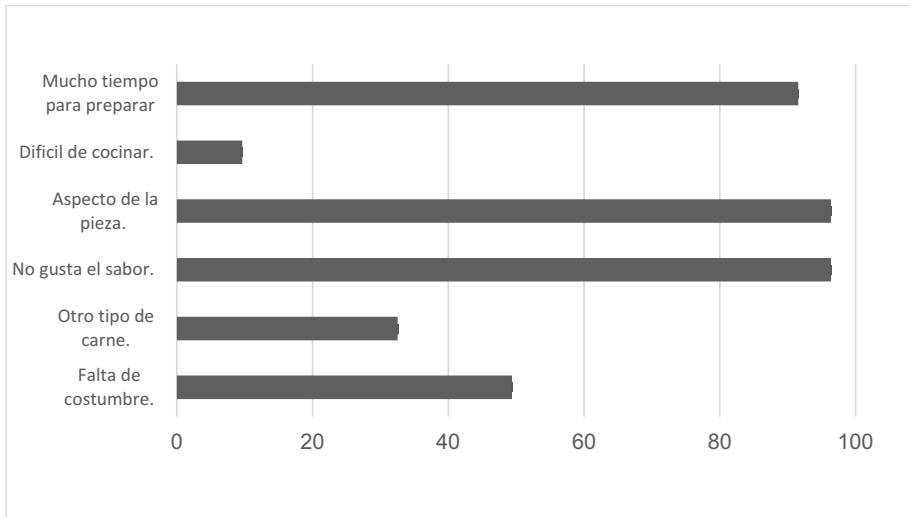


Figura 1. Motivos por los que se rechaza el consumo de la carne de conejo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Buitrago, J. M. et al. 2016. *World Rabbit Sci.* 24: 239-248. • Dalle Zotte, A. 2002. *Livest Prod Sci* 75 (2002) 11–32. • Dalle Zotte, A. et al. 2011. *Meat Sci.* 88, 319–331. • Cullere, M. et al. 2018. *Meat Sci.* 143 (2018) 137–146. • De Carlo, N. 1998. In: *Proceedings of the Workshop Il coniglio nell'alimentazione: aspettative dei consumatori e opportunità per gli operatori.* Padova, Italy, pp. 1–13 • Hernández, P. 2006. In L. Maertens, & P. Coudert (Eds.), *Recent advances in rabbit sciences* (pp. 269–290). • Montero-Vicente, L. 2018. *Span J Agric Res* 16 (3), e0110. • MAPAMA. Ministerio de Agricultura Pesca y alimentación (2018). El sector cunícola en cifras. Principales indicadores económicos. https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/estadisticas/indicadoreseconomicossectorcunicola2017_tcm30-419676.pdf.

Agradecimientos: Proyecto “Realización de análisis de calidad de la carne de conejo producida en Navarra”. Código OTRI 2016 016 089.

CONSUMER'S BEHAVIOR OF THE CONSUMPTION OF RABBIT MEAT

ABSTRACT: A survey was conducted to 83 consumers with the objective of knowing the consumer's behavior of the consumption of rabbit meat. From the results obtained, it is showed that this type of meat is healthy (69%), tasty (57%), has little fat (46%), has multiple forms of preparation (36%), has quality (31%), is easy to prepare (27%), has a good price (28%), is traditional (24%) and it can be an alternative to other meats (20%). 89% of the consumers emphasize the great importance of the aspect of the piece followed by the advice of the butcher (50%), the feeding of the animals (50%), as well as the information about the rabbit. The main reasons why more rabbit meat is not acquired and consumed are the lack of habit (49%) and the fact of preferring other meats before the rabbit (33%). Finally, the majority of the consumers (88%) considered that quality labels provide guarantees for rabbit meat and would be willing to pay more if the rabbits' diet was based on raw materials similar to those used by "field rabbits" (79%).

Keywords: Rabbit meat, consumer's behaviour, consumption of rabbit meat

ANÁLISIS DE LAS PREFERENCIAS DE LOS CONSUMIDORES DE CARNE DE CORDERO DE LA PROVINCIA DE CASTELLÓN

Blasco¹, M., Maza², M.T. y Campo¹, M.M.

¹Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, ²Departamento 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 es una tendencia observada en países económicamente desarrollados (Mathijs, 2015). En el sector ovino, donde el consumo de carne de cordero experimenta un descenso constante, agravado por la crisis económica de estos últimos años, se han tomado distintas medidas por parte del propio sector y de las instituciones (INTEROVIC, 2016), consiguiendo atenuar este descenso tan acusado (MAPA, 2018). Una actuación que se ha desarrollado en las últimas décadas en el sector cárnico ha sido la diferenciación de productos vinculada a distintos atributos como origen, raza o territorio en las que basar la creación de una marca de calidad. El objetivo del presente trabajo es analizar, mediante la realización de un experimento de elección, las preferencias de los consumidores de la provincia de Castellón por distintos atributos de la carne de cordero. En esta provincia el consumo de esta carne está por debajo de la media nacional y no existe en la actualidad ninguna marca de calidad vinculada a los atributos comúnmente empleados en la diferenciación.

MATERIAL Y MÉTODOS

La información necesaria para la realización del estudio se obtuvo a partir de encuestas presenciales a consumidores llevadas a cabo en el año 2014. Se encuestó 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 se procedió a la inversa, fijando el tamaño muestral y calculando el correspondiente error máximo para los valores de z , p y q anteriormente mencionados (Rodríguez et al., 1990). Éste fue del 5,7% que se considera admisible.

Para conseguir la representatividad de la muestra, y dada la relación existente 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 preferencias de los consumidores hacia los atributos de la carne de cordero se realizó a partir de la información obtenida de un experimento de elección. Éste se basa en simular una situación real de compra a través de la presentación de varios productos a los encuestados al tiempo que se les pide que elijan el producto que mejor cumple con sus expectativas (Picon et al., 2006). En el experimento, los productos se presentaron en el marco de 8 tarjetas de elección, donde cada tarjeta presentaba 2 alternativas, de modo que cada una se considera como un producto distinto, además de una tercera alternativa que sería la no elección de ninguna de ellas. Las alternativas son en realidad combinaciones de los distintos niveles de los atributos fijados a priori:

- Tipo de carne. Los niveles correspondían a dos fotografías de chuletas de pierna pertenecientes a un cordero de raza autóctona y a un cordero proveniente del cruce industrial.
- Origen de la carne. Dos opciones, nacional sin precisar de qué zona de España, o Castellón.
- Marca de calidad. Dos alternativas, con o sin marca de calidad.
- Precio. Tres precios, 6, 7 y 8 € para bandejas de aproximadamente 500 g.

Para la realización de los análisis se utilizó el paquete estadístico Sawtooth Software Market Research Tools SMRT, versión 4.2. Posteriormente, utilizando un modelo Logit multinomial del mismo programa, identificamos la utilidad para cada nivel de atributo analizado, lo que indica el grado de preferencia de los encuestados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron diferencias significativas en los atributos "origen", "marca de calidad" y "precio" ($P \leq 0,01$) (Figura 1). Los encuestados optaron por el origen Castellón en el 55,5% de las veces en que la opción fue presentada, frente al 43,7% de las veces en que se presentó la opción origen nacional, lo que indica que el origen Castellón incrementa la probabilidad de elección en un 27,0% respecto al origen nacional. Ello podría explicarse en parte por la preferencia que suelen manifestar muchos consumidores hacia los productos locales al ser considerados más frescos, con más gusto y de calidad más alta (Bernués et al., 2003; Chambers et al., 2007; Hersleth et al., 2012), incluso para segmentos de consumidores que dan menos importancia al origen (Font i Furnols et al., 2011). Resultados similares se obtuvieron para el atributo "marca de calidad". La presencia de marca de calidad en la carne de cordero incrementa la probabilidad de elección en un 27,5% respecto a su ausencia. El atributo "precio", se presentó con tres niveles de 6 €, 7 € y 8 € para la bandeja de 500 gramos. Los encuestados optaron por el precio más bajo en el 55,9% de las veces en que la opción fue presentada, frente al 46,9% de las veces en que se presentó la opción 7 €, y 45,6% de las veces en que se presentó la opción 8 €. Como era de esperar, los encuestados prefieren precios bajos. Aunque el precio parece no ser el atributo más importante cuando se compra (Sánchez et al., 2001; Mediano et al., 2010), algunos autores consideran el precio como uno de los atributos más importantes a la hora de comprar carne de cordero (Du Plessis et al., 2012), e incluso el factor limitante a la hora de adquirir este tipo de carne (Campo et al., 2008; Font i Furnols y Guerrero, 2014). Aunque un precio de 6 € incrementa la probabilidad de elección en un 19,2% respecto a un precio de 7 € y un 22,6% respecto a un precio de 8 €, un precio de 7 € solamente incrementa la probabilidad de elección sobre el de 8 € en un 2,9%. La explicación a este hecho no es fácil, pero podemos pensar que un precio bajo incrementa en mayor medida la probabilidad de elección, más que un precio intermedio, el cual se considera ya muy cercano al más alto.

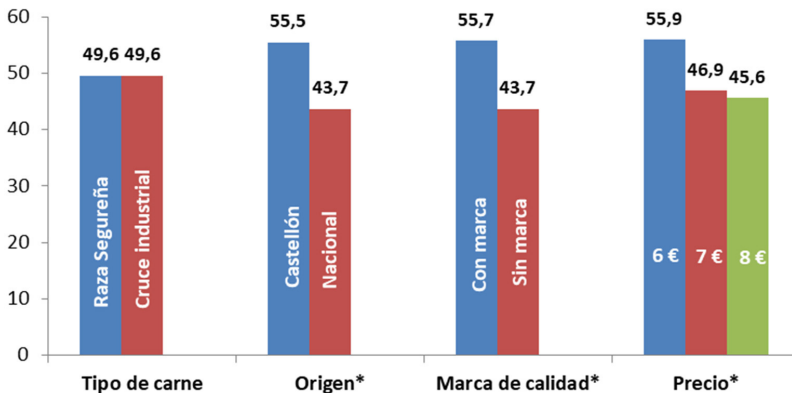


Figura 1. Preferencias de los consumidores en las tarjetas de elección. (%). * $P \leq 0,01$

Estas preferencias fueron ratificadas cuando se determinaron las utilidades. El análisis Logit multinomial estima el efecto o la utilidad de cada nivel de los atributos analizados, y dicha utilidad indica el grado de preferencia que tiene para los encuestados. Cuanto más grande es la utilidad, más preferido es el nivel. Estas utilidades quedan reflejadas en la columna "Efecto" de la tabla 1. El experimento de elección arrojó como resultado que los consumidores prefieren el precio de 6€, que la carne tenga marca de calidad y que sea de la propia provincia por este orden, no siendo significativo el tipo de carne. Esto último puede venir motivado por la similitud en el aspecto de ambas carnes.

Tras este estudio, podría considerarse la implementación de una marca de calidad que incentivase el consumo de la carne de cordero. Dadas las preferencias de los consumidores por un origen ligado a la provincia de Castellón, la marca podría referirse al origen, pudiendo ser una IGP o una marca de garantía.

Tabla 1. Utilidades por nivel de atributos.

Nivel de atributo	Efecto	St. Error	T Ratio
Raza Segureña	-0,0044	0,0209	-0,2112
Cruce industrial	0,0044	0,0209	0,2112
Origen Castellón	0,1174	0,0209	5,6030
Origen Nacional	-0,1174	0,0209	-5,6030
Con marca de calidad	0,1199	0,0209	5,7254
Sin marca de calidad	-0,1199	0,0209	-5,7254
Precio 6€	0,1497	0,0338	4,4192
Precio 7€	-0,0394	0,0338	-1,1676
Precio 8€	-0,1102	0,0349	-3,1518
Ninguna elección	-4,1167	0,2303	-17,8730
Número de tareas de elección		2400	
Logaritmo de verosimilitud		-1715,7569	
Número de parámetros		6	
Chi cuadrado		920,91	

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernués et al. 2003. Meat Sci. 65:1095-1106 • Campo et al. 2008. Agencia Aragonesa de Seguridad Alimentaria. <http://www.aragon.es> • Chambers et al. 2007. Appetite. 49:208-213 • Du Plessis y Du Rand. 2012. Food Research Intern. 47:210-217 • Font i Furnols et al. 2011. Food Quality and Preference. 22:443-451 • Font i Furnols y Guerrero. 2014. Meat Sci. 98:361-371 • Hersleth et al. 2012. Meat Sci. 90:899-907 • INTEROVIC 2016. <http://www.interovic.es> • MAPA, 2018. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid • Mathjis, E. 2015. Meat Sci. 109:112-116 • Mediano et al. 2010. PA 10/04, Gobierno Vasco • Mercasa, 2011. Publicaciones Mercasa, Madrid • Pérez, 2010. Ed. Universitaria Ramón Areces • Picón et al, 2006. Ed. La Muralla, Madrid • Rodríguez et al. 1990. Ed. Mundi-Prensa • Sánchez et al. 2001. Economía Agraria y Recursos Naturales 1:77-94

Agradecimientos: A la Diputación Provincial de Castellón por el apoyo para la realización del presente trabajo.

ANALYSIS OF LAMB CONSUMERS' PREFERENCES OF THE PROVINCE OF CASTELLÓN

ABSTRACT: In a context of continued decline in lamb consumption, this paper focuses on the possibility of increasing its intake through the differentiation of the product with a quality label in a territory where there are hardly any brands linked to the origin. For this, the opinion of 300 consumers of the province of Castellón stratified by size of place of residence was obtained. Consumers' preferences towards lamb meat were measured through a choice experiment. The results obtained show that consumers prefer a price of 6 €, lamb meat with quality label and an origin of meat from Castellón, in this order. The association of quality badge in lamb meat with the origin could be a useful tool to sell meat linked to a particular origin.

Keywords: consumer's preferences, lamb meat, choice experiment, quality badge.

ANÁLISIS DE LAS PREFERENCIAS DE LOS CONSUMIDORES POR CARNE DE CORDERO CON CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Agúndez, M.C., Gaspar, P., Escribano, M., Elghannam, A., Romero, P., Eldesouky, A., Horrillo, A. y Mesías, F.J.

Instituto de Investigación de Recursos Agrarios (INURA). Avda. Adolfo Suárez s/n.
Universidad de Extremadura. Badajoz. España
fjmesias@unex.es

INTRODUCCIÓN

El mercado de alimentos funcionales ha aumentado mucho en los últimos años debido a un creciente interés de los consumidores por su salud y a la preocupación por lo que se come (Siro et al. 2008, Murcia 2013). En España, el mercado cuenta con una oferta de más de 200 alimentos indicados como “funcionales” (Murcia 2013) de los cuales los más extendidos -entre los de origen animal- son los lácteos y los huevos. En el caso de las carnes, la presencia de estas cualidades funcionales no está muy extendida. La composición de la carne varía debido a numerosos factores, siendo la dieta del animal el factor que más fácilmente puede ser manipulado y que provoca un efecto profundo en su composición (Troy & Kerry 2010). Los lípidos están entre los compuestos bioactivos que han recibido más atención, con respecto al desarrollo de nuevos productos o preparados cárnicos más saludables (Olmedilla-Alonso et al. 2013). En los últimos años se han realizado en Extremadura distintas pruebas para alimentar corderos con subproductos de la industria transformadora del tomate. El aporte de antioxidantes (licopeno) de este subproducto aumenta la estabilidad oxidativa de la carne fresca, así como la concentración de α -tocoferol en el músculo (Gutiérrez 2016), lo que podría permitir la comercialización de las carnes etiquetadas como funcionales. El uso de este tipo de materias primas como fuente alimenticia puede tener gran interés para el sector ovino extremeño tanto por su efecto en la reducción de costes como por la posibilidad de acceder a nuevos nichos de mercado en expansión. Los objetivos de este trabajo son por ello (i) estudiar la percepción de los consumidores extremeños acerca de los alimentos funcionales, (ii) conocer las preferencias de los consumidores hacia la carne de cordero como alimento “funcional”.

MATERIAL Y MÉTODOS

La recogida de datos a 312 consumidores se realizó mediante una encuesta en línea utilizando Google Forms (www.docs.google.com). La encuesta incluía una serie de preguntas relacionadas con el nivel de conocimiento y consumo de alimentos funcionales así como preguntas para evaluar las preferencias a través de un análisis conjunto. El análisis conjunto es una técnica de investigación multivariante que permite estudiar las preferencias del consumidor con respecto a algunas características de un producto. Consiste en describir un producto por medio de los atributos que lo caracterizan y que son los de mayor importancia para el consumidor. Para la recogida de datos se presentan a los encuestados distintos estímulos (combinaciones de los atributos y niveles) y se les pide que los evalúen. En este trabajo se decidió proporcionar inicialmente una información gráfica y escrita a los encuestados (Figura 1) en la que se les explicaba el tipo de producto que se iba a valorar, así como los atributos y niveles elegidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para conocer la percepción general que tenían los consumidores extremeños de los alimentos funcionales en primer lugar se pidió a los encuestados que indicaran los alimentos funcionales que consumían. En la mayoría de las respuestas obtenidas asocian los alimentos funcionales a los productos lácteos ricos en fibra, con *bifidus*, para bajar el colesterol, con mayor cantidad de calcio y/o sin lactosa, y productos sin gluten, pero destacan aquellos productos ricos en fibra, como pueden ser pan integral, algunos tipos de galletas y/o yogures con fibra (Figura 2). Se analizaron las razones del consumo de alimentos funcionales, para lo que, en primer lugar, se preguntaron las razones que los encuestados tenían para no consumir alimentos funcionales. Como recoge la Figura 3 es importante destacar que ninguno de los encuestados marco la respuesta de “Son de peor calidad”, y que las principales razones para no consumir son la satisfacción con los alimentos convencionales, la falta de conocimiento de los alimentos funcionales y en menor medida su percepción como alimentos caros. Se pidió también a los

participantes que indicaran las razones más importantes por las que consumían alimentos funcionales. De entre las opciones proporcionadas, las más valoradas fueron que “tienen más nutrientes que los alimentos convencionales”, seguido por “son más sanos” y “son de mayor calidad”.

ATRIBUTOS CONSIDERADOS

ORIGEN:
 -Extremadura: han sido criados y procesados en Extremadura.
 -Nacional: han sido criados y/o procesados en España.
 -Importado: han sido criados y/o procesados fuera de España.

ENRIQUECIDO:
 -No enriquecido.
 -Enriquecido: los corderos son alimentados con dietas ricas en grasa insaturadas o tocoferoles, obteniendo carnes ricas en omega 3 y/o antioxidantes. **OMEGA₃**

ETIQUETADO DE CALIDAD:
 -Sin etiquetado de calidad.
 -Con etiquetado de calidad, que pueden ser:

PRECIO:
 10 €, 13€, 16 € el kilo de cordero

Figura 1. Información gráfica y escrita proporcionada a los encuestados

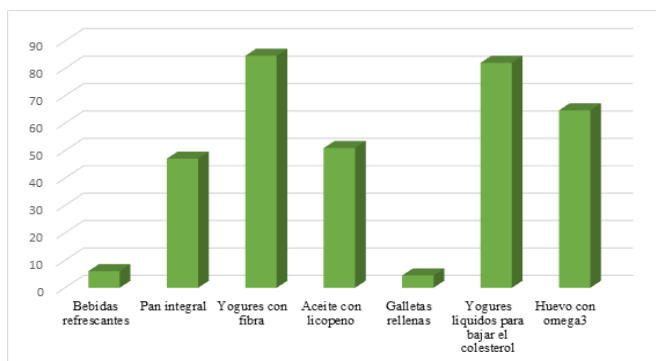


Figura 2. Alimentos que los consumidores creen que son funcionales (%)

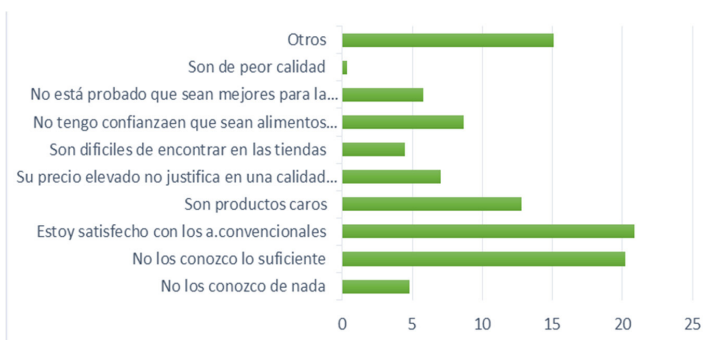


Figura 3. Razones para no consumir alimentos funcionales.

La tabla 2 muestra los resultados del análisis conjunto con el fin de evidenciar las preferencias del consumidor con respecto a los atributos seleccionados para la carne de cordero. Se aprecia que el origen del producto es el atributo al que se le asigna una mayor importancia, denotándose un comportamiento etnocéntrico ya que los encuestados rechazan claramente las carnes de importación, mientras que obtienen una fuerte utilidad positiva del origen regional de la carne. El etiquetado de calidad es también percibido como uno de los atributos de importancia, aspecto frecuente en los estudios de preferencias hacia carnes y productos cárnicos (Mesías et al. 2009). En términos generales los consumidores valoran positivamente el hecho de que la carne esté enriquecida, aunque este atributo es menos relevante que los anteriormente comentados, un resultado que está de acuerdo con los obtenidos en otros estudios desarrollados en alimentos funcionales, como los huevos (Mesías et al. 2011) o la carne de ternera (Realini et al. 2014). La menor relevancia del atributo precio se ha venido detectando en diversos estudios sobre preferencias en carne, donde el origen era considerado como uno de los atributos más importantes mientras que el precio era uno de los menos (si no el menos) valorados (Díaz et al. 2013, García-Torres et al. 2016). Esto puede estar relacionado con la búsqueda de garantías de calidad por parte del consumidor para un alimento como es la carne, que ha sido repetidamente afectado por escándalos alimentarios en los últimos años, lo que ha hecho que los consumidores sean mucho más conscientes de la calidad de la carne y de sus efectos sobre la salud, de lo que es reflejo la anteriormente comentada importancia de los atributos origen y etiquetado de calidad.

Tabla 2. Resultados del análisis conjunto: Importancia relativa de los atributos y utilidades parciales por nivel

Atributos	Niveles	Muestra global	Importancia relativa
Origen	Extremadura	0,736	
	España	0,246	35,87%
	Importado	-0,983	
Enriquecido	Enriquecido con antioxidantes y omega3	0,279	20,53%
	No enriquecido	-0,279	
Etiqueta de calidad	de Con etiqueta de calidad	0,697	25,28%
	Sin etiqueta de calidad	-0,697	
		10.00 €/kg	
Precio	13.00 €/kg	-0,991	18,31%
	16.00 €/kg	-1,220	

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Díaz et al. 2013. ITEA. 109: 476–491.
- García-Torres et al. 2016. Meat Science.114: 114–120.
- Gutiérrez, J.I. 2016. PhD Thesis, Universidad de Extremadura.
- Mesías et al.. 2009. Meat Science. 83: 684–690.
- Mesías et al. 2011. Journal of the Science of Food and Agriculture. 91:532–538.
- Murcia, J.L. 2013. Distribución y Consumo. 5:48–50.
- Olmedilla-Alonso et al. 2013. Meat Science. 95: 919-930.
- Realini et al. 2014. Food Quality and Preference. 33: 74–85.
- Siro et al. 2008. Appetite. 51: 456-467.
- Troy et al. 2010. Meat Science, 86: 214-226.

ANALYSIS OF CONSUMERS' PREFERENCES FOR FUNCTIONAL LAMB MEAT

ABSTRACT: In recent years the lamb market in Spain has been decreasing due to several reasons. Among the causes of this reduction in consumption the occasional consumption and, especially, the fact that it is closely associated with the age of the consumer, being more consumed by the elderly and little consumed in households with children and young people. All this generates unfavorable prospects for commercialization, which leads producers to look for new alternatives to boost their sales. The incorporation of functional characteristics to lamb meat might be one option. This paper analysis a sample of 312 consumers in order to study their perceptions about functional food and their preferences about enriched lamb meat.

KEYWORDS: Labeling, Enriched, Quality, Conjoint analysis

LA INFORMACIÓN DE CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA COMO FACTORES DETERMINANTES PARA LOS CONSUMIDORES POTENCIALES DE CARNE DE CERDO ENRIQUECIDA CON ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3

García-Hernandez, E¹., Tor, M¹., Teixeira A². y Álvarez-Rodríguez, J¹.

¹Universidad de Lleida. Av. Rovira Roure, 191. 25198. Lleida. España

²IPB- Centro de Investigaçao de Montanha. 5300-253. Bragança. Portugal

Esther.garcia@udl.cat

INTRODUCCIÓN

La carne de cerdo es la más consumida tanto en España como en Portugal. En la actualidad existe un interés creciente por parte del consumidor de alimentos más saludables. Sacar al mercado carne de cerdo con un mayor nivel de omega-3 podría ser de interés para el consumidor que busque ajustarse a las recomendaciones nutritivas sin tener que consumir exclusivamente las fuentes más comunes de estos ácidos grasos. Por ello, es importante conocer el perfil del consumidor que estaría dispuesto a pagar por este producto. Este estudio se centró en tres regiones de dos países que muestran una diferente densidad de porcino (Noreste de España vs. Norte de Portugal) y densidad de población (Cataluña vs. Aragón). El objetivo del estudio es identificar las potenciales diferencias en los hábitos de compra y la valoración de características de la carne y su etiqueta entre los consumidores con voluntad de aceptar un sobre coste en la compra de carne de cerdo enriquecida con omega-3 en 3 regiones de la península ibérica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos se obtuvieron a partir de 974 encuestas en línea dirigidas a consumidores de carne de Cataluña (n=442), Aragón (n=342) y norte de Portugal (n=190) durante los meses de abril y mayo de 2018.

Las preguntas se prepararon siguiendo el marco conceptual de Bernués et al. (2012) y Borgogno et al. (2015). Cada encuesta tenía 5 preguntas sobre las características sociodemográficas, 15 preguntas sobre hábitos de compra (declaraciones dicotómicas de verdadero/falso), 20 preguntas sobre los atributos que influyen en los consumidores al comprar carne de cerdo y que forman parte o podrían añadirse al etiquetado (que se puntuaban en escala de 1 a 5, siendo 1 que no tiene importancia y 5 mucha importancia). Además, se realizaron dos preguntas de elección con fotografías para valorar la voluntad de compra. Por un lado, se preguntó el tipo de lomo de cerdo preferido (magro vs. graso, en función de la grasa visual subcutánea, intermuscular e intramuscular) y el precio que estaban dispuestos a pagar por cada uno de ellos. Por otro lado, se preguntó la intención de compra de carne de cerdo enriquecida en omega-3. Los encuestados tenían 7 opciones de respuesta: En España, desde 5€/kg hasta 8€/kg (a intervalos de 0,5€/kg), y para Portugal de 3€/kg a 6€/kg (siendo 5,5€/kg y 3,5€/kg el precio base de la carne en España y Portugal, respectivamente).

Los consumidores se agruparon en 2 categorías: aquéllos que estaban dispuestos a pagar un sobre coste (+23,4±0,6%) y los que no. Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP Pro13 (Sas Institute Inc, Cary, NC, EEUU). Se valoró la asociación entre la aceptación de un sobre coste por una carne enriquecida con omega-3 y las variables sociodemográficas y hábitos de consumo en las tres regiones estudiadas mediante tablas de contingencia y test de Pearson. Así mismo, la importancia de las características de la carne e información de la etiqueta se evaluó con un modelo de mínimos cuadrados, considerando como efectos fijos la voluntad de sobre coste (pagarían vs. no pagarían) y la región (Cataluña vs. Aragón vs. Norte de Portugal) y su interacción simple.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El género de los encuestados estuvo equilibrado entre aquéllos que estaban dispuestos a pagar más (54,1% de las mujeres vs. 58,0% de los hombres, P>0,10). Un 79,3% eran personas con estudios universitarios. Más del doble de personas prefirieron carne veteadada

frente a la magra (67,8%), de los cuales no se observaron diferente proporción entre los que pagarían un sobrecoste por omega-3 y los que no (57,3% vs. 42,7%, $P>0,10$). Según un estudio en consumidores de carne de ternera, la población informada sobre salud y dietética, como los ácidos grasos omega-3, aceptaba mejor la visibilidad de la grasa, asumiendo que era grasa con un mayor porcentaje de omega-3 (Kallas et al., 2014). Los consumidores que están dispuestos a pagar mostraron diferencias significativas con los que no ($P<0,05$) en las siguientes características sociodemográficas: viven en ciudades (59,2%), el núcleo familiar mayor de 2 personas (51,4%), el lomo es la pieza de cerdo que más consumen (58,6%). No hubo diferencias significativas en la frecuencia de consumo de carne de cerdo entre segmentos de consumidores (57,5% consumían 1 o más veces carnes fresca a la semana y el 53,6% 3 veces o más de embutidos y/o carne cocida a la semana, $P>0,10$).

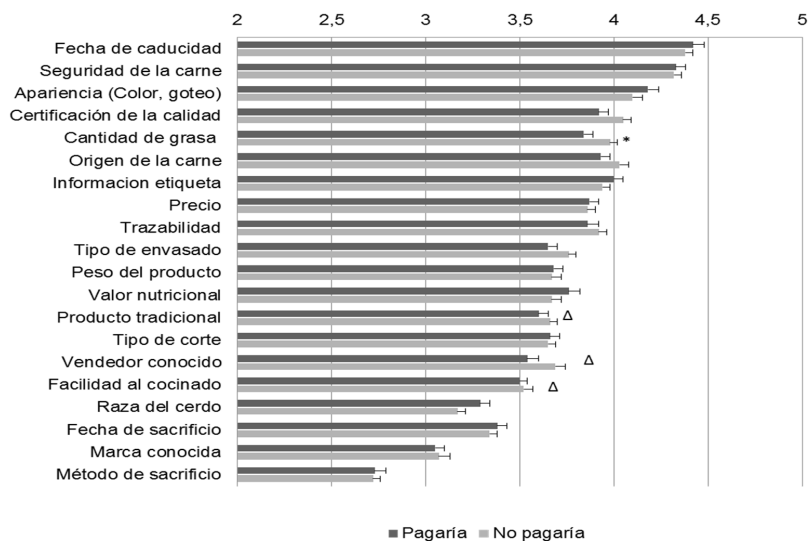


Figura 1. Atributos valorados en la etiqueta en función del segmento de consumidores con disposición a pagar por un producto con valor añadido (omega-3) (*= $P<0,01$; Δ=interacción segmento consumidores x región)

La región de origen del consumidor es un factor importante; la población de Portugal está dispuesta a pagar un precio más elevado que Cataluña y Aragón, que la tendencia era similar (67,9% vs 55,3 y 51,2%, $P<0,001$). Respecto los hábitos del consumidor, éstos presentaron diferencias significativas entre segmentos (pagarían o no por carne de cerdo enriquecida con omega-3) en la proporción de consumidores que sólo comían carne de cerdo en restaurantes, que fue superior en aquéllos que estaban dispuestos a pagar por la carne diferenciada ($P<0,01$). El precio de la carne presentó diferencias significativas en ambos grupos ($P=0,01$), siendo más importante para los consumidores que estaban dispuestos a pagar. Un factor importante es conocer el precio que están dispuestos a pagar de más por el producto, ya que expresa su grado de satisfacción con respecto a él, en especial con la carne de cerdo fresco (Resano et al., 2011).

Las características de la carne valoradas según el segmento de disposición de pago por omega-3 se exponen en la Figura 1. Éstas son, en este orden, la fecha de caducidad, seguridad alimentaria, apariencia de la carne, certificación de calidad y cantidad de grasa, lo que evidencia la importancia de realizar campañas específicas para promocionar las garantías sanitarias y los certificados de calidad que pueden provocar que el consumidor seleccione la compra de estos productos (Patch et al., 2005). El único atributo que mostró diferencias significativas en los consumidores fue la cantidad de grasa; los que no están dispuestos a pagar valoran más la cantidad de grasa respecto los que están dispuestos a pagar (3,98 vs. 3,84±0,05, $P=0,04$). Esto se puede deber a la concepción que el consumidor

tiene sobre la grasa visible en carne que la relaciona con grasa no saludable y intenta evitar o reducir su consumo. (Dieckman et al., 2009). Los consumidores consideran importante la cantidad de grasa de la carne (quinto lugar) mucho más que el precio (octavo lugar); esto coincide con Kallas et al. (2014), que encontraron un orden de atributos importantes similar en el segmento de consumidores no informados.

La región fue un factor determinante en las características que valoran del etiquetado. Portugal está dispuesto a pagar más que España ($P < 0,05$) por la información de la etiqueta, la seguridad de la carne, la trazabilidad, la certificación de la calidad, el tipo de envasado, la facilidad del cocinado, la marca, el producto tradicional, la raza, el precio, el tipo de corte, la fecha de caducidad y el origen. Sin embargo, en Cataluña y Aragón los consumidores no presentan diferencias significativas en sus valoraciones sobre las características de la carne, a excepción de la cantidad de grasa, que Cataluña valora más que Aragón (3,94 vs. 3,75 $\pm 0,07$, $P = 0,005$). Existe una interacción entre la región y los consumidores que están dispuestos a pagar en los parámetros: vendedor conocido, producto tradicional y facilidad para el cocinado. Los consumidores de Portugal y Aragón dispuestos a pagar valoran más el vendedor conocido que los consumidores de Cataluña que están dispuestos a pagar (3,75 y 3,65 vs. 3,25 $\pm 0,08$, $P < 0,001$). En la característica de producto tradicional, los consumidores de Portugal que estarían dispuestos a pagar puntúan mejor este parámetro respecto los consumidores catalanes y aragoneses (3,93 vs. 3,28 y 3,56 $\pm 0,07$, respectivamente, $P = 0,03$). En cuanto a la facilidad al cocinado, los consumidores de Portugal que pagarían valoran más este factor respecto los consumidores de Aragón y Cataluña que sí estarían dispuestos a pagar (3,83 vs. 3,29 y 3,34 $\pm 0,08$, $P = 0,02$).

En conclusión, los hábitos del consumidor que más diferencias muestran entre segmentos dispuestos o no a pagar por una carne de cerdo enriquecida con omega-3 son el consumo de carne de cerdo en restaurantes y el precio. Sería importante remarcar las características de seguridad, apariencia y certificación de calidad de la carne de cerdo, así como mejorar su cantidad de grasa, con el fin de mejorar la predisposición del consumidor para asumir un extracoste por carne enriquecida con omega-3. La región donde se realizaría la venta del producto influye mucho en las características demandadas en la etiqueta de una carne de cerdo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernués, A., et al., 2012. Food Qual. Prefer, 26, 211-220.
- Borgogno, M., et al. 2015. Food Qual. Prefer, 44, 139-147.
- Dieckman C., et al. 2009 Ann Nutr Metab; 54(suppl 1):25–32
- Kallas. 2014. Meat Sci, 97, 497-503.
- Patch C.S., et al. 2005. JNEB, 37,235-241
- Resano, H. et al. 2011. Appetite, 56(1), 167-170
- Verbeke, W., et al. 2010. Meat Sci, 84, 284-292.

Agradecimientos: Al CITA de Aragón (en especial a G. Ripoll), por su colaboración en la difusión de la encuesta.

FOOD SAFETY AND QUALITY INFORMATION IMPORTANT FACTORS FOR POTENTIAL CONSUMERS OF PORK MEAT ENRICHED WITH OMEGA-3 FATTY ACIDS

ABSTRACT: The aim of this study was to assess consumers' perception about meat characteristics and their labelling according to their willingness to accept an extra cost for n-3 PUFA-enriched pork (+23.4% vs. no premium) in three regions from Spain (Catalonian, Aragon) and Portugal (North). A valid sample of 974 respondents answered an on-line survey with questions about purchasing consumer habits and ranking for meat attributes. In consumer and purchasing habits, significant differences were observed between segments in the intake of pork in restaurants and the importance of price of meat. The attributes that consumers consider more important are the expiration date, food safety, quality certification, appearance of the meat, as well as the amount of visible fat. There are differences between regions, as Portugal valued more than Spain most of the attributes.

Keywords: pig meat; consumers; n-3; Portugal; Spain.

COMPOSICIÓN EN GRASA Y MAGRO DE CANALES DE CERDOS IBÉRICOS CRUZADOS O PUROS DETERMINADA MEDIANTE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA

Font-i-Furnols¹, M., Brun¹, A. y Gisbert¹, M.

¹IRTA-Calidad de Producto, Finca Camps i Armet, 17121 Monells, Girona, España; maria.font@irta.cat

INTRODUCCIÓN

Los cerdos ibéricos se caracterizan por tener un contenido en grasa superior al de los cerdos comerciales blancos y, además, este contenido depende de características intrínsecas y extrínsecas de los animales (Martínez-Mancipe et al., 2016; Mayoral et al., 1999; Serrano et al., 2008).

La tomografía computarizada se basa en rayos X que al atravesar un cuerpo se atenúan más o menos según la densidad de los tejidos que crucen. La atenuación se mide en valores Hounsfield (HU). Esto permite obtener imágenes de una canal en las que se diferencian los diferentes tejidos según su densidad y, mediante segmentación o aplicando ecuaciones de calibración, cuantificar los diferentes tejidos (Font-i-Furnols et al., 2009; Bardera et al., 2012). El objetivo del presente trabajo es evaluar la composición en grasa y magro de canales de cerdos ibéricos cruzados y de cerdos ibéricos puros, criados en intensivo, comparada con la de cerdo blanco y ver la existencia de diferencias en las características físicas de la grasa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 14 medias canales izquierdas de cerdos ibéricos cruzados fueron seleccionadas en dos mataderos comerciales. Las medias canales provenían de dos granjas diferentes, tenían un peso promedio de 65,7±12,0 kg [46,9-80,4] y correspondían a 7 cerdos hembras y 5 cerdos machos castrados quirúrgicamente. También se seleccionaron 4 canales de cerdos ibéricos puros procedentes de una misma granja, dos de cerdos hembras y 2 de cerdos machos castrados quirúrgicamente. Las medias canales tenían un peso promedio de 55,1±3,6 kg [51,9-60,2]. Todas las canales procedían de cerdos criados en intensivo.

Las medias canales se trasladaron refrigeradas al IRTA de Monells y se escanearon con el equipo de tomografía computarizada General Electric HiSpeed Zx/i. Los parámetros de adquisición fueron: helicoidal pitch 1, matriz 512x512, 140 kV, 145 mA y 10 mm de grosor.

Las imágenes se analizaron con el programa VisualPork (Bardera et al., 2012; Boada et al., 2009) desarrollado con esta finalidad por la Universidad de Girona y el IRTA. De todas las imágenes de la canal se obtuvo un histograma con el volumen asociado a cada uno de los valores Hounsfield. Debido a diferencias en el peso de las canales, se obtuvo el volumen relativo, calculado como el porcentaje de volumen asociado a cada HU con respecto al volumen total entre los HU -130 y +120, o sea, excluyendo el volumen de los huesos (HU > +120). Asimismo, se determinó el volumen de grasa entre HU -130 y -1 y el volumen de magro entre 0 y +120 del total de la canal.

Con fines comparativos, se incorporaron datos de trabajos previos de los que se obtuvo la distribución promedio de volúmenes de 123 medias canales de cerdo blanco representativas de la cabaña porcina española con un peso de 43,1±4,2 kg [34,9-54,5].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución de volumen asociada a cada HU para las diferentes canales escaneadas se presenta en la Figura 1. La curva en la zona de HU negativos corresponde a la grasa mientras que en la zona de HU positivos corresponde al magro. Se puede observar que en el cerdo blanco (línea de puntos), el pico más alto se encuentra en la zona del magro, debido a que estas canales tienen más magro que grasa. Por lo que respecta a las canales de cerdo ibérico puro (línea discontinua), la situación es completamente a la inversa. Sin embargo, en las canales de cerdos cruzados (línea continua), el porcentaje de grasa es ligeramente superior o similar al de magro.

Esto se puede apreciar también cuando se observa el porcentaje de grasa y magro de cada tipo de animal (Figura 2 y Tabla 1). El % de grasa en canales de cerdo blanco oscila entre 13 y 39%, las de cruces de cerdo ibérico entre 45 y 61% y las de cerdo ibérico puro entre 67 y 78%. Esta variabilidad en la composición en grasa de canales cruzadas de ibérico puede ser debida a la estirpe o a la línea materna, al peso al sacrificio, al sexo y a la alimentación (Ayuso et al., 2014; Ramirez y Cava, 2007; Serrano et al., 2008). En la Figura 3 se presenta una

imagen segmentada de la zona del lomo de una canal de cada tipo en la que se pueden apreciar las diferencias en el contenido en grasa y magro.

Se puede observar también en la Figura 1, que el pico del magro se mueve en un rango muy estrecho mientras que el pico de la grasa es más variable y se mueve en un rango más amplio. Esto es debido probablemente a que el magro tiene una densidad bastante constante mientras que la densidad de la grasa es más variable, probablemente ya que está relacionada con la genética y la alimentación de los cerdos. En general y aunque variable, los cerdos ibéricos, sobre todo los puros, tienen el pico de grasa desplazado hacia HU más negativos que el promedio de cerdos blancos, aunque en algunos casos se solapan. Asimismo, en general, los ibéricos puros tienen una grasa menos densa que los ibéricos cruzados, aunque en algunos casos es parecida. De hecho, en global y dentro de la variabilidad, a mayor contenido de grasa, menor densidad de ésta. Esta diferencia en densidades se podría explicar por la distribución, cantidad, composición y estructura de la grasa, pero faltaría realizar más análisis para poder determinarlo.

Se puede concluir que existen diferencias importantes en el contenido de grasa y magro según la genética que pueden apreciarse perfectamente a partir de imágenes de tomografía computarizada. Además, la grasa de ibéricos, en general, menos densa que la de cerdos blancos.

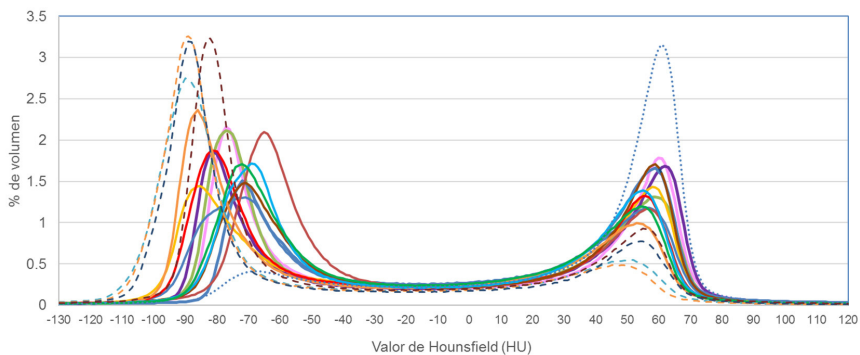


Figura 1. Volumen relativo (%) asociado a cada HU para una canal de cerdo blanco promedio (línea de puntos), 4 canales de cerdo ibérico 100% (línea de rayitas) y 14 canales de cerdo ibérico 50% (líneas continuas de colores).

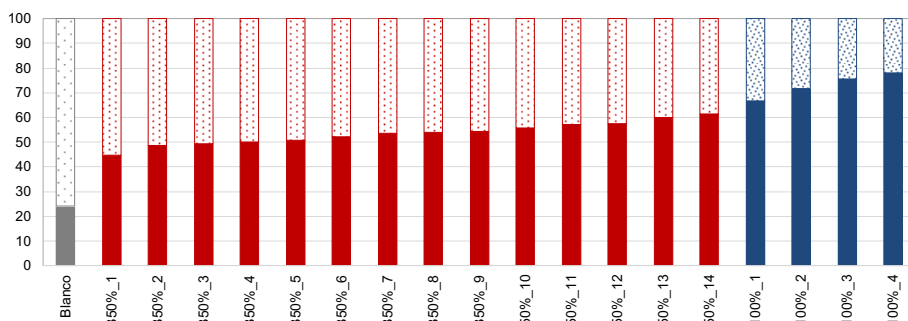


Figura 2. Volumen relativo (%) de grasa (HU entre -130 y -1) (relleno de puntos) y de magro (HU entre 0 y +120) (relleno sólido) para una canal promedio de cerdo blanco (gris), para cada canal de cerdo ibérico cruzado (IB50%_1 hasta IB50%_14)(rojo) y para cada canal de cerdo ibérico puro (IB100%_1 a IB100%_4)(azul).

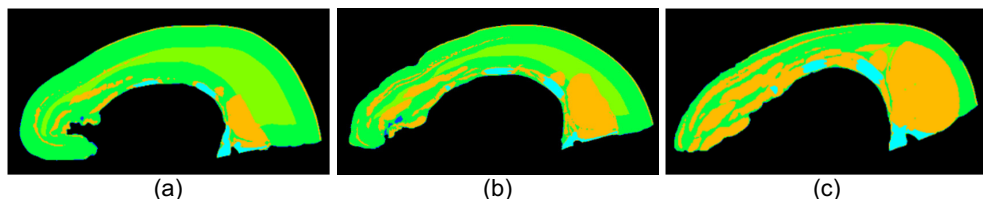


Figura 3. Imagen segmentada del lomo a nivel de la última costilla de una canal de cerdo ibérico puro (a), ibérico cruzado (b) y cerdo blanco (c) en la que se muestra en verde la grasa, en amarillo-naranja el músculo y en azul claro el hueso.

Tabla 1. Media, desviación estándar (D.E.), mínimo (Mín.) y máximo (Máx.) de los porcentajes de grasa (HU entre -130 y -1) y músculo (HU entre 0 y +120) según el tipo de cerdo.

	n	Grasa				Magro			
		Media	D.E.	Mín.	Máx.	Media	D.E.	Mín.	Máx.
Blanco	123	24.1	6.1	12.5	38.7	75.9	6.1	61.3	87.5
Ibérico cruzado	14	53.5	4.6	44.8	61.3	46.5	4.6	38.7	55.2
Ibérico puro	4	73.1	5.5	66.8	78.1	26.9	5.5	21.9	33.2

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayuso, D., González, A., Hernández, F., Peña, F. & Izquierdo, M. 2014. Meat Sci. 96 : 562-567.
- Bardera A., Martínez, R., Boada, I., Font-i-Furnols, M. & Gispert, M. 2012. FAIM I Conference of COST FA1102. Dublin, Irlanda. 25-26 Septiembre.
- Boada, I., Spinola, J., Rodriguez, J., Martínez, R. & Font i Furnols, M. 2009. II Workshop on the use of Computed Tomography (CT) in pig carcass classification. Other CT applications: live animals and meat technology, Monells, España. 16-17 Abril.
- Font i Furnols, M., Teran, F. & Gispert, M. 2009. Chemometr. Intell. Lab. Syst. 98: 31-37.
- Martínez-Mancipe, M., Rodríguez, P., Izquierdo, M., Gispert, M., Manteca, X., Mainau, E., Hernández, F.I., Claret, A., Guerrero, L. & Dalmau, A. 2016. Meat Sci. 111: 116-121.
- Mayoral, A.I., Dorado, M., Guillén, M.T., Robina, A., Vivo, J.M., Vázquez, C. & Ruiz, J. 1999. Meat Sci. 52 : 315-324.
- Ramirez, R. & Cava, R. 2007. Meat Sci. 75: 388-396.
- Serrano, M.P., Valencia, D.G., Nieto, M., Lázaro, R. & Mateos, G.G. 2008. Meat Sci. 78: 420-428.

Agradecimientos: Los autores agradecen la colaboración del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España y de los técnicos Albert Rossell, Agustí Quintana y Adrià Pacreu.

FAT AND MUSCLE TISSUE COMPOSITION OF IBERIAN CROSSBREED AND PURE BREED PIGS DETERMINED BY MEANS OF COMPUTED TOMOGRAPHY

ABSTRACT: Pure and crossbreed of Iberian pig carcasses have higher fat content than those from industrial white pigs and this content is very variable. The composition of the carcass can be measured with computed tomography. The aim of the present work is to evaluate the fat and lean content of carcasses from Iberian crossbreeds and pure Iberian pigs, reared intensively, in comparison with those of white pigs and to visualize the differences in the physical characteristics of the fat. For this purpose 14 half carcasses of Iberian crossbreeds and 4 half carcasses of pure Iberian pigs were selected and computed tomography scanned. For white pigs, images of carcasses of 123 pigs representative of the pig Spanish population were used. Computed tomography images are very useful to show that the amount of fat is much bigger in Iberian pigs compared with the white ones. Within Iberian, the amount of fat is higher in pure breed carcasses compared with the crossed ones. There is an important variability in the amount and density of fat.

Keywords: scanner, industrial white pig, adipose tissue, lean content

ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DEL USO DE REDES NEURONALES ARTIFICIALES, COMO HERRAMIENTA PARA LA PREDICCIÓN DE PARÁMETROS SENSORIALES A PARTIR DE DATOS NIRS EN JAMÓN CURADO

Hernández-Ramos¹, P., Revilla², I., González-Martín³, M.I., Vivar², A.M. y Martínez-Martín², I.

¹ Expresión Gráfica en la Ingeniería, Universidad de Salamanca, E.P.S. de Zamora, Avda Requejo 33,49022 Zamora. ²Tecnología de Alimentos, Universidad de Salamanca, E.P.S. de Zamora, Avda. Requejo 33. 49022 Zamora, ³Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Universidad de Salamanca, Plaza de la Merced s/n, 37007 Salamanca; pedrohde@usal.es

INTRODUCCIÓN

El jamón ibérico es un producto cárnico alimenticio de alta calidad, especialmente valorado por los consumidores y particularmente sensible a las variaciones organolépticas y sensoriales que signifiquen grandes diferencias entre lo esperado y lo experimentado por los consumidores. La adquisición de productos cuyas características no cumplan con lo esperado, pueden suponer una pérdida en la imagen del producto y, por tanto, pérdidas económicas de difícil recuperación. Es por ello que el mercado impone garantizar la satisfacción de los consumidores, estimando estas características durante su elaboración y curado, de forma no destructiva, rápida y económica. Para ello, se han empleado técnicas analíticas convencionales y otras más novedosas como aquellas que se fundamentan en las narices y lenguas electrónicas (e-nose y e-tongue respectivamente), imágenes hiperespectrales, espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS). La aplicación de estas técnicas sobre productos alimenticios como carne y productos cárnicos (Górska-Horczyzak et al., 2017; Feng et al., 2018), queso (González-Martín et al., 2011) y productos lácteos (Hristova & Ahmad, 2015) han permitido una estimación previa de algunas de sus características sensoriales, proporcionando la posibilidad de aplicar estrategias durante el proceso de elaboración, curado o almacenamiento del mismo, que mejoren su posición en el mercado conforme a los estudios de intención de compra. Por otro lado, las Redes Neuronales Artificiales (ANN) han demostrado su utilidad en campos como la categorización de productos alimenticios como jamón curado (Górska-Horczyzak et al., 2017) (Prevolnik et al., 2014), o queso (Pillonel et al., 2005), etc; estableciéndose como una herramienta rápida, económica y no destructiva muy útil en la lucha contra el fraude. También han sido utilizadas, conjuntamente con las técnicas comentadas anteriormente, para el procesamiento de las nubes de datos obtenidas por técnicas analíticas. En este contexto, el presente trabajo pretende evaluar la capacidad de predicción de parámetros sensoriales de una ANN, tales como los relacionados con la textura, olor, sabor y color, a partir de datos obtenidos por NIRS y estudiar la influencia de la arquitectura de la red y el número de muestras sobre dicha capacidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se parte de 3 lotes con 15, 28 y 50 muestras de jamón curado de la zona de la maza. Las muestras de jamón pertenecen a cerdos con genética 50% y 100% ibérico y con alimentación de montanera. La elaboración y curación (durante 24 meses) de las piezas ha sido realizada por Carrasco Ibéricos (Guijuelo, Salamanca) de manera tradicional. Los datos espectrales se han obtenido con el equipo FossNIRSystem 5000 acoplado a una sonda de fibra óptica de reflectancia remota con una ventana de medida de 5 cm². El espectro se registra, por triplicado, cada 2 nm en el intervalo entre 1100 a 2000 nm. Los datos sensoriales han sido obtenidos por medio de un panel de cata compuesto por 10 jueces entrenados en la metodología QDA que evaluaron los parámetros previamente acordados y definidos (Tabla 1) en una escala de 10 puntos. Los valores obtenidos han sido procesados con redes feedforward artificial neural networks (ANN) del tipo MLP (Multi Layer Perceptron) con una capa de entrada con 451 neuronas alimentada con los valores obtenidos en el NIRS, otra oculta con una configuración variable entre 1 y 30 neuronas y la de salida con una única neurona que nos mostrará el valor del parámetro sensorial en estudio estimado. Se realizaron pruebas con los algoritmos de entrenamiento Scaled Conjugate Gradient Backpropagation, Levenberg-Marquardt Backpropagation y Bayesian Regularization Backpropagation. Las funciones de transferencia empleadas han sido la Hyperbolic Tangent Sigmoid y la Linear para las neuronas de la capa oculta y de salida respectivamente. Los conjuntos de pares de datos entrada-salida esperada han sido divididos al 70% para el entrenamiento, 15% para la validación y 15% como conjunto de pares de datos independiente para el estudio de la

bonanza de la red. La determinación de la mejor arquitectura de la ANN para cada parámetro sensorial, ha exigido el entrenamiento de 30 redes para cada configuración diferente. Los entrenamientos se han realizado con valores semilla conocidos, necesarios para la asignación previa aleatoria de los pesos de las conexiones y de los valores umbrales de excitación de las neuronas, posibilitando la reproducción de los resultados. Como software se ha utilizado la Deep Learning Toolbox de MatLab (MathWorks®) en su versión R2018.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar, se procedió a realizar pruebas con los diferentes algoritmos de entrenamiento desestimándose el Bayesian Regularization Backpropagation por el elevado coste en tiempo de cómputo requerido. A continuación, y para cada uno de los algoritmos se procedió a entrenar las redes con un número de neuronas en la capa oculta entre 1 y 30. Para cada valor de número de neuronas en la capa oculta se realizaron 30 entrenamientos con asignación de diferentes valores aleatorios iniciales para los pesos de las conexiones y de los valores umbral de excitación de las neuronas (total 900 entrenamientos por parámetro, algoritmo y lote). Tras el entrenamiento se elige la mejor de las redes neuronales en función del Coeficiente de Determinación R^2 que da información sobre la bondad del ajuste de un modelo lineal a la variable que se pretende explicar, de modo que cuanto más próximo al valor 1 mejor es el ajuste. Para esta red se almacena el número semilla, de modo que los resultados puedan ser replicables. La tabla 1 muestra los valores alcanzados para R^2 de las mejores redes neuronales para los tres grupos de muestras ya que se quería saber de qué modo el número de muestras usadas en el entrenamiento influye sobre la capacidad de predicción de las ANN.

Tabla 1. Algoritmo de entrenamiento (Alg), nº de neuronas en la capa oculta (N) y valores del Coeficiente de Determinación R^2 estimados por las ANN con 15, 28 y 50 muestras.

Parámetro Sensorial	15 muestras			28 muestras			50 muestras		
	R^2	Alg.	N	R^2	Alg.	N	R^2	Alg.	N
Veteado	0,99	L	9	0,97	L	5	0,71	L	4
Color de la grasa	0,99	L	20	0,90	L	24	0,80	L	15
Homogeneidad del color	0,76	L	7	0,86	L	21	0,83	L	21
Intensidad de color	0,94	L	9	0,92	L	7	0,76	L	30
Sudado	0,99	L	8	0,89	L	28	0,79	L	7
Puntos blancos	0,98	L	17	0,90	L	18	0,77	L	5
Intensidad de olor	0,98	L	22	0,91	S	29	0,73	L	1
Olor a curado	0,97	L	3	0,84	L	11	0,75	L	13
Olor a cerdo	0,92	L	10	0,89	L	27	0,82	L	28
Olor a rancio	0,98	L	6	0,87	L	5	0,80	L	22
Olor extraño	0,84	S	16	0,82	L	25	0,72	L	1
Intensidad de sabor	0,99	L	27	0,84	L	14	0,64	L	1
Int. de sabor de la grasa	0,99	L	9	0,95	L	3	0,79	S	30
Sabor a curado	0,98	S	30	0,78	L	24	0,68	L	2
Sabor salado	0,98	L	22	0,87	L	21	0,80	L	19
Sabor dulce	1,00	L	16	0,91	L	5	0,81	L	26
Sabor ácido	0,98	L	19	0,84	L	13	0,83	L	6
Sabor rancio	0,95	L	16	0,89	L	6	0,69	L	26
Retrogusto	0,98	L	18	0,81	L	27	0,78	L	12
Sabor extraño	0,92	L	8	0,93	L	19	0,89	L	11
Dureza	0,99	L	26	0,88	L	22	0,85	L	18
Jugosidad	0,99	S	30	0,90	L	17	0,77	L	20
Grasosidad	0,96	L	19	0,90	L	11	0,82	L	22
Fibrosidad	0,99	L	30	0,94	L	22	0,86	L	16
Masticabilidad	0,98	S	19	0,76	L	15	0,73	L	5
Chiclosidad	0,99	L	29	0,92	L	12	0,79	L	11
Heterogeneidad	0,99	L	13	0,94	L	19	0,85	L	25
Residuo	0,98	L	15	0,90	L	11	0,72	L	13

L=Levenberg-Marquardt backpropagation / S=Scaled Conjugate Gradient Backpropagation

Se aprecia que en general el algoritmo que condujo a una mejor capacidad de predicción de la red fue el de Levenberg-Marquardt y que el número de neuronas en la capa oculta fue muy variable entre 3 y 29 dependiendo del parámetro sensorial analizado. En todos los casos a excepción del parámetro relacionado con la homogeneidad del color, se aprecia un descenso en la bonanza de las redes a medida que se incrementa el tamaño muestral. Ello se puede deber a una alta homogeneidad de los resultados de las catas, es decir, que productos que presentan espectros en el NIR diferentes recibieron puntuaciones muy próximas en la cata. Este hecho podría estar influyendo en la convergencia de la red hacia la solución óptima estimativa del parámetro estudiado. Los resultados muestran que en todos los casos considerados el valor de dicho coeficiente R^2 se situó por encima de 0,7, salvo para los parámetros de Intensidad de sabor ($R^2=0,64$), Sabor a curado ($R^2=0,68$) y Sabor a rancio ($R^2=0,69$) cuando se calcularon las redes para 50 muestras. A pesar de ello, estos valores pueden considerarse como buenos. En algunos casos, incluso, se llegan a obtener valores próximos a 0.90 (Sabor Extraño) lo que se puede considerar como excelente. Esto demuestra que a pesar de las limitaciones encontradas usando la Red Neuronal Artificial adecuada es posible predecir todos los parámetros sensoriales de muestras de jamón curado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Feng, C.-H. H., Makino, Y., Oshita, S., & García Martín, J. F. (2018). Hyperspectral imaging and multispectral imaging as the novel techniques for detecting defects in raw and processed meat products: Current state-of-the-art research advances. *Food Control*, 84, 165-176.
- González-Martín, M. I. I., Severiano-Pérez, P., Revilla, I., Vivar-Quintana, A. M., Hernández-Hierro, J. M. M., González-Pérez, C., & Lobos-Ortega, I. A. (2011). Prediction of sensory attributes of cheese by near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 127(1), 256-263.
- Górska-Horczyzak, E., Horczyzak, M., Guzek, D., Wojtasik-Kalinowska, I., & Wierzbicka, A. (2017). Chromatographic fingerprints supported by artificial neural network for differentiation of fresh and frozen pork. *Food Control*, 73, 237-244.
- Hristova, V. K., & Ahmad, M. A. (2015). Estimating dairy product's viscosity with artificial neural networking (ann) model. En F. of S. C. D. University. (Ed.), *PIRM-V'2015*. El Jadida, Morocco.
- Pillonel, L., Bütikofer, U., Schlichtherle-Cerny, H., Tabacchi, R., & Bosset, J. O. (2005). Geographic origin of European Emmental. Use of discriminant analysis and artificial neural network for classification purposes. *The Fourth IDF Symposium on Cheese: Ripening, Characterization and Technology*, 15(6-9), 557-562.
- Prevolnik, M., Andronikov, D., Zlender, B., Font-i-Furnols, M., Novič, M., Škorjanc, D., & Čandek-Potokar, M. (2014). Classification of dry-cured hams according to the maturation time using near infrared spectra and artificial neural networks. *Meat Science*, 96(1), 14-20.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Junta de Castilla y León la financiación a través del proyecto SA039P17.

STUDY OF THE FEASIBILITY OF USING ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS AS A TOOL FOR PREDICTING SENSORY PARAMETERS USING NIR SPECTRA IN CURED HAM

ABSTRACT: Spanish Iberico dry-cured ham is a very popular meat product owing to its sensory profile, so the sensory analysis is a cornerstone to assure the quality of these products. Some instrumental techniques such as NIRS technology has been studied to predict sensory attributes but this technique needs chemometric tools such as MPLS or ANN. The aim of this work was to study of the feasibility of using artificial neural networks for predicting sensory parameters of cured ham, because they have been hardly used for meat products. Several algorithms, number of neurons in the hidden layer and initial configurations have been tested in order to find the best ANN architecture for predicting the sensory parameters for three groups with different number of samples 15, 28 and 50. Results show that the Levenberg-Marquardt backpropagation was the best training algorithm and the number of neurons in the hidden layer depended on the sensory parameter. The predicting capacity of the ANNs decreased when the number of samples increased. However, the determination coefficient R^2 was higher than 0.7 in almost all the parameters so it was possible to predict all the sensory parameters analysed.

Keywords: cured ham, Near Infrared Spectroscopy, Sensory Analysis, Neural Networks

INFLUENCIA DE LA FORMA DE LA MUESTRA DE CARNE Y LA VELOCIDAD DE CUCHILLA EN LAS MEDICIONES DE ESFUERZO DE CORTE WARNER-BRATZLER

Cadavez, V.A.P., Van Velthoven, C. y Gonzales-Barron, U.
Centro de Investigação de Montanha (CI MO), Escola Superior Agraria, Instituto Politécnico de Bragança, 5300-253 Bragança, Portugal; ubarron@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

La ternura es una propiedad de calidad de la carne, que depende de varios factores como composición y pH, cantidad de tejido conectivo y de grasa intramuscular. La ternura – o dureza – puede medirse de varias formas; utilizando un método objetivo instrumental o sensorial, con un panel especialmente treinado, o subjetivamente, con la ayuda de un panel de consumidores. Uno de los métodos instrumentales más usados para determinar el grado de ternura o firmeza de la carne es el método Warner-Bratzler (WB) de esfuerzo de corte. Éste se ha usado desde los años 1930s para determinar la fuerza máxima (expresada en kgf o N) que se requiere para cortar una pequeña muestra de carne cruda o cocida.

En la prueba WB, algunos parámetros o variables pueden afectar los valores de los descriptores extraídos de la curva fuerza versus tiempo. Dos de estas variables son la forma de las muestras de carne y la velocidad a la cual se realiza el corte (velocidad de cuchilla). Para realizar la prueba WB, algunos investigadores (Domínguez et al., 2018; Kim et al., 2014) acondicionaron la muestra de carne a una forma de paralelepípedo utilizando un cuchillo, mientras que otros (Colle et al., 2016; Rodríguez et al., 2014) prepararon la muestra de forma cilíndrica utilizando un sacabocados. En ambos casos, los cortes se realizan siempre en paralelo a las fibras musculares de la carne. Del mismo modo, se han obtenido mediciones utilizando velocidades de cuchilla desde 0.83 hasta 10 mm/s (Nian et al. 2017; Ademeyi et al. 2016), aunque 3.33 mm/s ha sido la más usada.

Así, el objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de ambas variables, la forma de la muestra y la velocidad de cuchilla, en los valores de dos medidas de ternura del ensayo WB. En última instancia, esta investigación pretende efectuar una recomendación de la mejor forma de muestra y velocidad de cuchilla, de tal manera que se obtengan resultados uniformes y comparables en futuras mediciones de WB.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 29 lomos de cerdo correspondientes a 9 animales. Los lomos fueron cortados en ~4 cm de ancho, pesados y embolsados en bolsas de polietileno. Posteriormente se sumergieron a un baño de agua pre-calentado a 75°C, en el cual permanecieron hasta alcanzar una temperatura interna de ~70°C. Luego fueron retirados del baño y de las bolsas, y dejados enfriar hasta alcanzar 25°C. Antes de pesarlos para calcular el porcentaje de pérdida por cocción, se secaron los lomos cuidadosamente con un clínex. A continuación, se almacenaron a 4°C hasta el día siguiente. Media hora antes de los ensayos WB, se cortaron 6 cilindros de 1,2 cm de diámetro y 6 paralelepípedos de 1x1 cm. Esto fue hecho con el objetivo de mantener una temperatura uniforme en las muestras y eliminar el efecto del calentamiento progresivo de la muestra desde ser sacada del frigorífico.

Para este estudio, se realizaron dos experimentos. En el experimento 1, la fuerza pico (firmeza en N) y el área de la curva fuerza-distancia (dureza en N.s) fueron medidas a 3 velocidades de cuchilla (3, 5 y 7 mm/s), usando 8 muestras de lomos de cerdo, cortados en los dos tipos de forma. En el experimento 2, se usaron los 21 lomos restantes. De la misma forma, se midieron la firmeza y dureza de la carne cortada en los dos tipos de forma, pero a la velocidad fija de 4 mm/s. Para cada una de las medidas, firmeza y dureza, se ajustó un modelo mixto que retira los efectos aleatorios debido al animal y evalúa los efectos fijos de las dos variables. Las medias de los mínimos cuadrados fueron calculadas para todos los tratamientos. El análisis estadístico se realizó en el software R.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media de las pérdidas por cocción de los lomos de cerdo fue 28,64% (desviación estándar 3,544%), lo cual está dentro de las pérdidas normales (20 – 31%) para lomos de cerdo cocidos a 77°C (Aaslynga et al., 2013).

Los efectos de forma, velocidad e interacción, mostrados a través de los valores de F y p del análisis de varianza (Tabla 1), proporcionan una clara idea de cuánto cada variable afecta el proceso de corte. Para ambas variables, firmeza y dureza, la forma de la muestra tuvo el mayor efecto, con valores de F de 194,85 y 503,04, respectivamente. No hubo evidencia que la velocidad de cuchilla tuviese alguna influencia sobre la firmeza ($p=0,305$), aunque sí afectó significativamente la dureza ($p<0,0001$), no obstante, en menor medida que la forma de la muestra ($F=83,56$). La interacción entre forma de muestra y velocidad tampoco fue significativa, ya sea para la firmeza ($p=0,069$) o para la dureza ($p=0,106$).

En la Tabla 2 se puede apreciar que el uso de diferentes velocidades produjo una variabilidad mayor en las medidas de firmeza cuando la carne fue cortada en forma de paralelepípedo (50,55 – 63,31 N) que cuando fue cortada en forma de cilindro (48,54 – 51,57 N). De igual modo, las muestras en forma de paralelepípedo produjeron resultados de dureza (60,34 – 144 N.s) más variables que aquéllos producidos usando la forma de cilindro (58,56 – 134 N.s). Más aún, se observó que, independientemente de la forma de la muestra de carne, a medida que aumenta la velocidad de cuchilla, disminuyen los valores de dureza (Tabla 2). Esto es, sin embargo, un efecto del tiempo (eje x en la curva fuerza-tiempo), el cual necesariamente se reduce al incrementarse la velocidad de cuchilla. En general, la dureza es un parámetro más variable que la firmeza.

Tabla 1. Efectos de la forma de muestra, velocidad de cuchilla e interacción en las mediciones de firmeza y dureza del ensayo WB (Experimento 1)

	Efecto	GL	Valor F	Prob(>F)
Firmeza (N)	Forma	2	194,9	<0,0001
	Velocidad	2	1,203	0,3049
	Forma x Velocidad	2	2,758	0,0688
Dureza (N.s)	Forma	2	503,0	<0,0001
	Velocidad	2	83,56	<0,0001
	Forma x Velocidad	2	2,305	0,1056

Tabla 2. Medias de los mínimos cuadrados obtenidas para cada tratamiento del Experimento 1

Parámetro	Forma	Velocidad		Media	Error	
		(mm/s)	N		estándar	IC 95%
Firmeza (N)	Cilindro	3	16	51,57	3,701	[44,3-58,9]
		5	16	48,54	3,756	[41,2-55,8]
		7	16	50,48	3,800	[43,2-55,8]
	Paralelepípedo	3	16	50,55	3,649	[43,3-57,8]
		5	16	63,31	3,642	[56,0-70,6]
		7	16	51,37	3,480	[44,1-58,7]
Dureza (N.s)	Cilindro	3	16	134,9	10,41	[123-147]
		5	16	77,00	10,37	[64,6-89,4]
		7	16	58,56	10,60	[46,2-71,0]
	Paralelepípedo	3	16	144,1	10,67	[132-156]
		5	16	104,8	10,51	[92,3-118]
		7	16	60,34	10,53	[48,0-72,7]

Utilizando un tamaño de muestra mayor, y a una velocidad de corte fija (4 mm/s), los resultados del Experimento 2 corroboraron la influencia que tiene la forma de la muestra en las medidas de firmeza ($p<0,0001$) y dureza ($p<0,0001$) del ensayo WB. Los *box plots* de la Figura 1 ilustran que las medias de firmeza y dureza medidas en las muestras cilíndricas

(51,09 N y 101,82 N.s) fueron en ambos casos significativamente más bajas que aquéllas medidas en los paralelepípedos (60,96 N and 128,83 N.s). Cabe resaltar que la firmeza y dureza medidas en las formas cilíndricas tuvieron más repetitividad y exactitud (deducido por los errores estándar más bajos, 1,20 y 2,96, respectivamente) que cuando fueron medidas en paralelepípedos (errores estándar 1,24 y 3,06, respectivamente). En conclusión, las mediciones WB más confiables se obtuvieron usando la forma cilíndrica a velocidad de cuchilla intermedia.

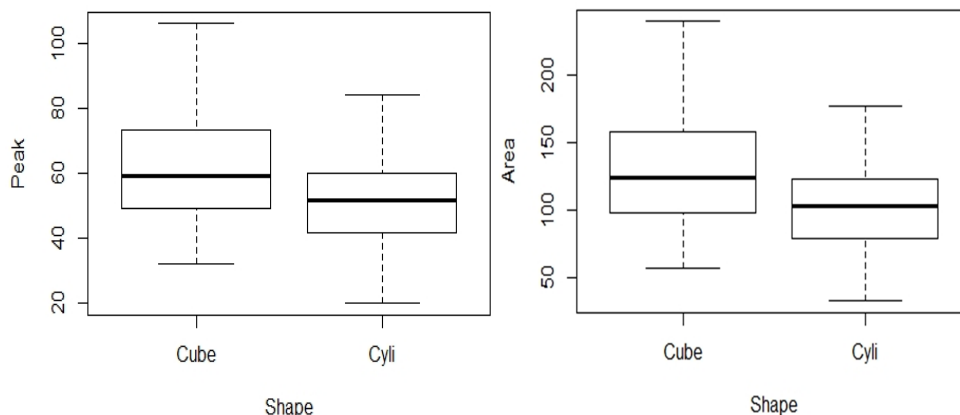


Figura 1. Diferencias ($p < 0,0001$) en firmeza (“Peak” en N) y dureza (“Area” en N.s) entre las formas de muestras de carne (“Cube”=paralelepípedo y “Cyl”=cilindro)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aaslyng, M. D.; Bejerholm, C.; Ertbjerg, P.; Bertram, H. C.; Andersen, H. J. 2003. Food Qual Prefer 14, 277-288.
- Adeyemi, K.D.; Shabow, A.B.; Abubakar, A.; Samsudin, A.A.; Sazili, A.Q. 2016. Animal Sci J 11, 1421-1432.
- Colle, M.J.; Richard, R.P.; Killinger, K.M.; Bohlscheid, J.C.; Gray, A.R.; Loucks, W.I.; Day, R.N.; Cochran, A.S.; Nasados, J.A.; Doumit, M.E. 2016. Meat Sci 119, 110-117.
- Domínguez, R.; Pateiro, M.; Crecente, S.; Ruiz, M.; Sarriés, M.V.; Lorenzo, J.M. 2018. J. Sci Food Agri 98, 266-273.
- Kim, Y.H.B.; Liesse, C.; Kemp, R.; Balan, P. 2015. Meat Sci 110, 40-45.
- Nian, Y.; Kerry, J.P.; Prendiville, R.; Allen, P. 2017. Irish J Agr Food Res 56, 31-34.
- Rodríguez, J.; Unruh, J.; Villarreal, M.; Murillo, O.; Rojas, S.; Camacho, J.; Jaeger, J.; Reinhardt, C. 2014. Meat Sci 96, 1340-1344.

INFLUENCE OF MEAT SAMPLE SHAPE AND CROSSHEAD SPEED ON WARNER-BRATZLER SHEAR FORCE MEASUREMENTS

ABSTRACT: One of the most widely used instrumental methods to measure meat tenderness is the Warner-Bratzler shear force essay; yet, many factors can affect the measurements. Two of these factors are the meat sample shape and the crosshead speed, which have been subject of study in this investigation. Two experiments were set up using 29 pork loins: in the first one, three speeds (3, 5 and 7 mm/s) and two shapes (cylinder and cube) were tested, while in the second one, the two shapes were tested at a fixed speed. Adjusting mixed linear models to the data, it was concluded that the cylinder shape at an intermediate crosshead speed produced the most reliable and reproducible measurements.

Keywords: Pork; tenderness; peak force; area

TECNOLOGÍA FT-NIRS PARA CONTROL DE CALIDAD DE LOMO DE CERDO IBÉRICO EN LA LÍNEA DE PROCESADO: INTACTO Y HOMOGENEIZADO

Cáceres-Nevalo, J.M., Garrido-Varo, A., De Pedro-Sanz, E. y Pérez-Marín, D.C.
Universidad de Córdoba, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes,
Departamento de Producción Animal, Campus de Rabanales, N-IV, km 396, Córdoba 14014.
caceresnevadojm@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La calidad de los productos derivados del cerdo Ibérico está estrechamente relacionada con el contenido de grasa intramuscular. Por tanto, es de gran importancia conocer el contenido de grasa de los lomos con la finalidad de mejorar genéticamente dicha raza, pudiendo incluir este parámetro en futuras selecciones de progenitores. La determinación de parámetros químicos con métodos clásicos conlleva un gran consumo de tiempo y reactivos químicos, así como la necesidad de destrucción de la muestra y un elevado coste de análisis. Como alternativa a los métodos clásicos de análisis, se recurre a técnicas y métodos que permitan realizar el mayor número de determinaciones posibles por unidad de tiempo, reduciendo el coste de análisis, el uso de reactivos y la destrucción de la muestra. En este sentido, la tecnología NIRS ha mostrado ser útil para medir y evaluar la calidad de la carne de cerdo. Sin embargo, la mayoría de las investigaciones han sido realizadas utilizando carne picada (Zamora-Rojas et al., 2011; Solís et al., 2001). Dado que el lomo del cerdo Ibérico es un producto cárnico de alto valor, la industria requiere tecnologías que permitan el análisis de estos productos en intacto, particularmente para la determinación de su contenido de grasa. Para poder validar la capacidad de la tecnología NIRS para el análisis de lomo intacto, evitando recurrir al homogeneizado de las muestras, es necesario desarrollar modelos robustos, con muestras que representen una amplia variabilidad en composición. Publicaciones anteriores relacionadas con el desarrollo de ecuaciones NIRS en lomo intacto de cerdo han utilizado un número reducido de muestras y/o no han sido adecuadamente validadas (González-Martín et al., 2002; Barlocco et al., 2006). El objetivo del presente estudio fue evaluar un instrumento FT-NIRS acoplado a un sensor de fibra óptica de 5 metros de longitud para determinar la composición química de piezas intactas de lomo de cerdo Ibérico, las cuales se analizaron tanto intactas como homogeneizadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se utilizaron 277 cerdos Ibéricos pertenecientes a Sánchez Romero Carvajal S.A, los cuales fueron sacrificados con un peso medio de canal de 160 kg y una edad de 14 meses. Tras el despiece de las canales se obtuvo la cinta de lomo (*Longissimus dorsi*) de la cual se tomó una muestra de unos 2 cm de grosor y 80 g de peso de la parte central. Fueron evaluados dos modos de análisis: intacto y homogeneizado. Las muestras fueron homogeneizadas mediante picadora de cuchilla horizontal una vez que habían sido analizadas en intacto. La recogida de espectros se realizó con un espectrómetro FT-NIRS, el cual trabaja en reflectancia en el rango espectral de 834,2 a 2505,6 nm con un intervalo de 1,074312 nm y posteriormente fueron tratados con el software OPUS 7.0. Este instrumento estaba conectado a un cabezal Q412 mediante fibra óptica, con una longitud de 5 m. La superficie muestreada fue de 38,46 cm². La composición química de las muestras se determinó aplicando el método oficial de referencia. El tratamiento quimiométrico de los datos espectroscópicos y químicos generados se realizó utilizando el software WinISI 1.5 y OPUS 7.0. La metodología a seguir para el desarrollo de las calibraciones es la descrita en diferentes publicaciones (Shenk & Westerhaus, 1996; Williams & Sobering, 1996). Se seleccionaron 2/3 del colectivo muestral para constituir el colectivo de calibración, y un 1/3 para el colectivo de validación. La obtención de las ecuaciones de calibración se hizo por regresión multivariante de mínimos cuadrados parciales (PLS) con el software OPUS 7.0. Para la validación de los modelos desarrollados, fue aplicado el protocolo establecido por Windham et al., (1989). Para colectivos con más de 100 muestras, Shenk et al., (2001) asume que SEP(c) límite no debería exceder 1,30 veces el valor ETC, así como el bias límite no debería exceder el 0,6 veces el valor ETC. Por otro lado, establece que coeficiente de predicción (Rp²) debería ser superior a 0,6 y la pendiente estar comprendida entre 0,9 y 1,1. Los mejores modelos fueron elegidos de acuerdo al mayor valor de Rp² y RPD_{vc}, y al menor valor de SEP(c). El estadístico RPD es usado para poder comparar diferentes trabajos entre sí.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los datos espectroscópicos de las 277 muestras analizadas en intacto, y utilizando el algoritmo CENTER (WinISI), se seleccionaron los colectivos de calibración y validación. En la Tabla 1 se recogen los estadísticos descriptivos de los colectivos de calibración y validación. El colectivo de validación estuvo representado en su totalidad por el colectivo de calibración. La tabla 2 muestra los estadísticos de calibración y validación de las mejores ecuaciones.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos para el colectivo de calibración y validación.

Parámetro	Calibración (N=185)				Validación (N=92)			
	Rango	Media	DT	CV	Rango	Media	DT	CV
Grasa	1,66-15,2	5,61	2,37	41,17	2,24-11,09	6,18	2,01	32,52
Humedad	64,89-74,45	71,55	1,55	2,17	68,31-73,86	71,2	1,41	1,98
Proteína	17,8-23,87	21,03	0,94	4,47	18,91-22,97	20,85	0,82	3,93

Tabla 2. Estadísticos de calibración y validación externa.

Parámetro	Lomo Intacto								
	ETC	ETVC	RPD _{vc}	ETP(c)	ETP(c) _{lim}	Bias	Bias _{lim}	R _p ²	Slope
Grasa	0,94	1,06	1,80	1,21	1,22	0,20	± 0,56	0,52	0,51
Humedad	0,62	0,87	1,73	0,79	0,80	-0,03	± 0,37	0,35	0,54
Proteína	0,46	0,51	1,71	0,59	0,60	-0,11	± 0,28	0,50	0,60
Parámetro	Lomo homogeneizado								
	ETC	ETVC	RPD _{vc}	ETP(c)	ETP(c) _{lim}	Bias	Bias _{lim}	R _p ²	Slope
Grasa	0,27	0,29	7,66	0,32	0,35	-0,02	± 0,16	0,98	1,00
Humedad	0,19	0,31	4,74	0,22	0,25	-0,01	± 0,11	0,93	0,90
Proteína	0,18	0,26	3,54	0,22	0,24	0,01	± 0,11	0,86	0,92

ETC: error típico de calibración; ETVC: error típico de validación cruzada; ETP: error típico de predicción; ETP(c): error típico de predicción corregido por el bias; ETP(c)_{lim}: error típico de predicción corregido por el bias límite; R_p²: coeficiente de determinación para la predicción; RPD_{vc} (DT/ETVC).

Los resultados obtenidos para lomo picado son muy similares a los obtenidos por Solís et al., (2001), Barlocco et al., (2006) y González-Martín et al., (2002), a pesar de que en nuestro caso hemos utilizado un equipo FT-NIRS con una sonda de 5 metros de longitud y una distancia a la muestra de 10 cm, mientras que en los trabajos citados anteriormente se utiliza un equipo monocromador FOSS NIRSystems 6500 (Barlocco et al., 2006; Solís et al., 2001) y un FOSS NIRSystems 5000 con una sonda de fibra óptica de 1,5 metros de longitud (González-Martín et al., 2002), los cuales miden a una distancia de 2,5 cm respecto de la muestra, y por tanto están más adaptados para análisis en laboratorio. Además, dichos autores utilizan un número reducido de muestras y mayores superficies muestreadas, a excepción de González-Martínez et al., (2002) cuya superficie muestreada es de 25 cm². Respecto a las ecuaciones de lomo intacto, Barlocco et al., 2006 obtuvo valores de RPD_{vc} para los parámetros de grasa y humedad relativamente inferiores a los obtenidos en este trabajo (1.1 y 1.4), probablemente debido a las características de su colectivo muestral, el cual además de tener un reducido número de muestras (N=44), posee unos valores de desviación típica menores (0,41 y 0,43 para grasa y humedad) que los utilizados en el presente trabajo (2,37 y 1,55). Ello, sin duda, afecta a los valores del RPD. Asimismo, el rango de grasa es relativamente pequeño (3,24-3,51) y la superficie muestreada es de 50 cm². Por otro lado, González-Martín et al., (2002) obtiene valores de RPD_{vc} (2,55 y 1,91), y ETVC (1,25 y 0,83) para grasa y humedad muy similares a los obtenidos en este trabajo. Sorprende, los elevados valores de R_{vc}² de 0,93 para grasa y aunque no es posible saber con certeza a que son

debidos, es muy probable que se haya obtenido dicho valor utilizando la totalidad de muestras, las cuales poseen una amplia variabilidad de grasa (3%-19%) y que asimismo, no se haya eliminado ninguna muestra anómala, como es habitual durante el proceso de calibración y validación cruzada. Es también probable que dado el reducido número de muestras utilizado en este trabajo (N=56), se haya producido un sobreajuste de la calibración y que estos valores no se mantengan en validación y con un mayor número de muestras. La última etapa del proceso de desarrollo de ecuaciones de calibración es la validación de dichas ecuaciones con muestras externas. La evaluación de los modelos desarrollados se llevó a cabo usando el colectivo nombrado anteriormente (N=92). Los estadísticos de validación para lomo intacto cumplen los límites establecidos por Windham et al., (1998) y Shenk et al., (2001), en el caso de bias y SEP(c), pero no para el coeficiente de determinación de predicción (R_p^2) o la pendiente (Tabla 2). Estos estadísticos muestran que las ecuaciones desarrolladas solamente podrían ser utilizadas para realizar una discriminación entre muestras con altos medios, y bajos contenidos de grasa y proteína. En cuanto a la humedad, su $R_p^2 < 0,5$ podría ser atribuido a la dificultad de realizar en paralelo, la recogida del espectro y obtener el valor de humedad de referencia, y asimismo, a los cambios considerables que existen de humedad por el propio procedimiento de análisis de vía húmeda. Por el contrario, este problema no sucede en análisis de lomo homogeneizado, ya que todos los estadísticos cumplen los límites establecidos por Windham et al., (1998) y Shenk et al., (2001).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barlocco et al., (2006). *Animal Science* 82: 111-116.
- González-Martín et al., (2002). *Analytica Chimica Acta* 453: 281-288.
- Solís et al., (2001). *ITEA*, 22(2): 613-615.
- Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O., (1996). *Near Inf. Spec.*: 198-202.
- Shenk et al., (2001). *Handbook of near-infrared analysis*: 419-1474
- Zamora-Rojas et al., (2011), *Food Chemistry* 129: 1889-1897.
- Windham et al., 1989. *Agriculture Handbook* 643: 96-103.
- Williams, P.C. & Sobering, D. (1996). *Near Infrared Spectroscopy*: 185-188.

Agradecimientos: Se agradece a Sánchez Romero Carvajal S.A. por financiar este trabajo como parte del proyecto "Análisis de lomo de cerdos ibéricos mediante tecnología NIRS".

FT-NIRS TECHNOLOGY FOR THE QUALITY CONTROL OF IBERIAN PORK LOIN IN THE PROCESSING LINE: INTACT AND HOMOGENIZED

ABSTRACT: The term "Iberian pig" is closely linked to term "quality". The quality of the products derived from the Iberian is related to the content of intramuscular fat. Therefore, it is very important to know the fat content of loins with the purpose of genetically improving said race, being able to include this parameter in future selections of parents. Conventional chemical analyses of meat products are time-consuming, expensive and destructive. The advantages of NIR spectroscopy are its speed, portability, suitability for both at-line and on-line analysis, low cost and the possibility of simultaneously measuring many different parameters in many samples. The purpose of this study was to develop and validate calibration for the prediction of moisture, protein and fat in Iberian pig pork loins using an FT-NIR instrument coupled to a 5-metre fibre optic sensor head. The best equations obtained for intact and minced loin displayed Standard Error of Cross-Validation (SECV) of 1.06% and 0.29% and Determination Coefficient of Cross-Validation (R_{CV}^2) of 0.69 and 0.98 for fat: SECV of 0.87% and 0.31% and R_{CV}^2 of 0.67 and 0.96 for moisture; while for protein, the SECV values were 0.51% and 0.26% and the R_{CV}^2 values were 0.66 and 0.92.

Keywords: FT-NIR spectroscopy spectrometer, Iberian pig loin, fibre optic probe, chemical composition.

Sanidad y bienestar
animal

EL COMPORTAMIENTO COMO DETECTOR TEMPRANO DE ENFERMEDADES EN TERNEROS MAMONES

Belaid¹, M. A., Rodríguez-Prado², D. V., Rodríguez-Prado¹, M., Chevaux³, E. y Calsamiglia¹, S.

¹Universitat Autònoma de Barcelona, 08913, Bellaterra, Barcelona, España; ²Universitat Pompeu Fabra, 08002, Barcelona, España; ³Lallemand Animal Nutrition, 31702, Blagnac, Francia.

sergio.calsamiglia@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Los problemas de salud en terneros mamones provocan pérdidas económicas importantes para los ganaderos. Estas pérdidas económicas derivan de la reducción de la ganancia de peso y el índice de conversión, el coste del tratamiento, y el deterioro de su estado de bienestar. En la práctica se usan cantidades considerables de antibióticos como medida preventiva frente a la aparición de problemas de salud con el consiguiente riesgo de generar resistencias microbianas. La Comisión Europea y la Organización Mundial de la Salud, con el objetivo de reducir el uso de antimicrobianos, han recomendado limitar el uso de antibióticos en los sistemas de producción animal.

La identificación temprana de enfermedades podría ser una buena estrategia para limitar el uso de antibióticos. Tratar a los terneros enfermos en una fase temprana antes de la aparición de síntomas clínicos, reduce su uso y mejora la efectividad del antibiótico (Schoeing et al., 2005). Quimly et al. (2001) observaron que el comportamiento alimenticio podría ser útil para predecir la morbilidad en terneros. Svensson y Jensen (2007) observaron que los terneros enfermos hacían menos visitas a los comederos en comparación con los terneros sanos el día en que fueron diagnosticados enfermos por el personal de la granja. Sin embargo, estos estudios se centraron principalmente en el diagnóstico de una enfermedad específica.

El objetivo de este estudio fue analizar si el patrón de comportamiento puede ser un buen predictor temprano de la aparición de enfermedades en terneros mamones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron cuatro grupos de terneros Frisones que llegaron a la granja en los meses de marzo (n=85), junio (n=85) septiembre (n=80) y octubre (n=75). Estos terneros (30±9 días; 65±15 kg) fueron monitorizados mediante un acelerómetro (Fedometer [FEDO] system; ENGS, Israel) durante los 60 días posteriores a su llegada a la granja. Los acelerómetros miden el número de visitas al comedero, el tiempo de acceso al comedero, el tiempo tumbado, los cambios de postura de pie a tumbado y el número de pasos. A la llegada de los terneros se registró el número de crotal, la fecha de nacimiento, el peso y la fecha de entrada en la granja. Los terneros estuvieron sometidos a un control diario del estado sanitario durante todo el periodo del estudio. Los datos registrados de los acelerómetros se transmitieron a un ordenador y se registraron en un software de gestión de los animales (Eco-herd-software; ENGS Israel). Los datos relativos al número del ternero enfermo, la fecha y las enfermedades tratadas se registraron para cada evento de morbilidad.

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el uso del paquete estadístico SAS (v.9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC). Para comparar el comportamiento de los terneros enfermos respecto a los sanos, se usó un diseño de emparejamiento (Matched-pair design), en el cual el día cuando el ternero se diagnosticó enfermo se consideró el día 0. Los emparejamientos se realizaron mediante la selección de tres terneros sanos para una misma fecha, pertenecientes a un mismo grupo, con una edad similar (±4 días) y aproximadamente el mismo peso de entrada. El periodo de interés fue de 10 días antes y después del diagnóstico de la enfermedad. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un modelo de regresión lineal para describir las diferencias de comportamiento entre terneros enfermos y sanos. El modelo incluyó los efectos fijos de la estación, la edad de entrada de los terneros y, como variables respuesta, todos los parámetros de

comportamiento indicados anteriormente. Todas las variables de predicción con $P < 0,20$ se incluyeron inicialmente en los modelos de predicción para su selección mediante el procedimiento *stepwise* hasta que los predictores restantes tuvieran una $P < 0,05$. Se seleccionaron los modelos con un valor ROC $> 0,70$. Para cada modelo se calculó la sensibilidad y la especificidad, y se seleccionó el punto de corte con la combinación más alta de sensibilidad y especificidad. Se calculó la tasa de falsos positivos y falsos negativos (Dohoo et al., 2009). La precisión se definió como la proporción de terneros sanos y enfermos diagnosticados correctamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 325 terneros utilizados en el estudio, 33 (10%) se diagnosticaron enfermos, donde 17 de ellos (51%) presentaron síntomas asociados con enfermedades respiratorias y el resto tuvieron síntomas inespecíficos, y se trataron con antibióticos y anti-inflamatorios. En todos los casos los tratamientos se aplicaron durante tres días consecutivos post-diagnóstico. La mortalidad durante este experimento fue baja, ya que sólo dos terneros murieron durante las dos primeras semanas desde su llegada a la granja.

Comportamiento normal. Para describir el comportamiento normal de los terneros mamones, sólo se incluyeron aquellos que no padecieron ningún tipo de enfermedad durante todo el período evaluado ($n=290$). A lo largo de todo el ciclo de crecimiento (9 ± 2 sem), los terneros mamones visitaron los comederos $10 \pm 1,1$ veces, y dedicaron un total de $184 \pm 32,5$ min en el comedero. Hicieron $19,5 \pm 1,75$ cambios de posición de pie a tumbado, $1476 \pm 195,2$ pasos, y estuvieron un promedio de $978 \pm 30,5$ min tumbados. Todos los parámetros cambiaron ($P < 0,05$) con la edad del ternero durante el ciclo de crecimiento.

Comparación de los terneros sanos vs enfermos. La diferencia de comportamiento entre los terneros enfermos ($n=33$) y sanos ($n=99$) comenzó a ser evidente 10 días antes del diagnóstico. El número de pasos, el número de visitas al comedero y el número de cambios de postura de pie a tumbado fueron los parámetros más afectados por el estado de salud de los terneros. Un ternero enfermo realizó un 20 % menos de visitas al comedero (días -10, -9, -6, -5, -3, -2, -1 y 0; $P < 0,05$; días -8, -7, y -4; $P < 0,10$) comparado con los terneros sanos. Asimismo, un ternero enfermo dedicó menos tiempo a comer (días -10, -9, -1 y 0; $P < 0,05$). Estas diferencias en comportamiento desaparecieron después del tratamiento de la enfermedad, excepto los días 4 y 9, cuando los terneros enfermos hicieron menos visitas al comedero que los sanos. Durante los 20 días alrededor de la enfermedad, los terneros enfermos hicieron menos pasos que los terneros sanos (enfermos vs sanos: $1178 \pm 100,3$ vs. $1437 \pm 59,2$ pasos/d). Desde el día -10 hasta el día 10, las diferencias observadas fueron significativas ($P < 0,05$) excepto en el día -9 ($P < 0,10$). Al mismo tiempo, los terneros enfermos hicieron menos cambios de postura de pie a tumbado que los sanos (enfermos vs sanos: $17,0 \pm 1,33$ vs. $19,2 \pm 0,82$ cambios/d), siendo las diferencias significativas ($P < 0,05$) en los días -6, -2, -1, 0, 2, 3, 4, 5 y 6. No hubo diferencias entre sanos y enfermos en el tiempo que los animales permanecieron tumbados excepto en el día -10, cuando los terneros enfermos estuvieron más tiempo tumbados que los sanos (enfermos vs sanos: 1057 ± 94 vs. 987 ± 50 min/d, $P < 0,05$).

Test de diagnóstico y modelos de predicción. Todos los modelos de predicción mostraron un AUC $> 0,60$ y sólo tres de ellos tuvieron un valor $> 0,70$. La mejor ecuación de predicción con los mejores resultados del test de diagnóstico fue para en el día -1. Esta ecuación incluyó la estación y la edad de entrada de los terneros como variables clasificatorias, y el número de visitas, los cambios de postura de pie a tumbado y el tiempo que permanecieron tumbados como predictores. La ecuación tuvo una sensibilidad del 69%, una especificidad del 72% y una precisión del 72%. Usando el modelo de predicción en el día -1, el 55% de los diagnósticos fueron falsos positivos y el 12% falsos negativos. En la práctica, la predicción al día -1 tiene utilidad limitada porque está a sólo un día de la aparición de los síntomas clínicos de la enfermedad. Predecir con más días de antelación permitiría actuar antes y reducir el impacto negativo sobre la producción y el bienestar. Así, la segunda mejor ecuación de predicción fue para el día -10, con una sensibilidad del 68%, una especificidad del 68%, y una precisión del 67%. Los falsos positivos y los falsos negativos en este caso fueron del 60% y 14%, respectivamente. Aunque los resultados de este estudio, no pueden compararse directamente con otros trabajos publicados en la bibliografía

debido a que los acelerómetros usados en éste estudio recogen mucha información del comportamiento animal, sí coinciden en muchos aspectos. Marchesini et al. (2018) observaron que los terneros de engorde redujeron su actividad y su rumia 3 a 6 días antes de padecer una enfermedad respiratoria. Quimby et al. (2001) y Knauer et al. (2017) también observaron que podían detectar un ternero enfermo 4 a 4,5 días antes de su diagnóstico por el personal de la granja. Surtherland et al. (2018) observaron que los terneros con diarrea neonatal disminuyeron el consumo 4 días, las visitas a los bebedores 2 días, y el cambio de postura de pie a tumbado 5 días antes de su diagnóstico clínico. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que podemos predecir que animales están en riesgo de padecer enfermedades y, por lo tanto, hacer un tratamiento preventivo dirigido con antelación. Sin embargo, la precisión del sistema puede ser limitada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dohoo, I. R., S. W. Martin, and H. Stryhn. 2009. Veterinary epidemiologic research, 2nd edn., AVC Inc., Charlottetown, Canada
- Knauer, W. A., S. M. Godden, A. Dietrich and R. E. James. 2017. The association between daily average feeding behaviors and morbidity in automatically fed group-housed preweaned dairy calves. *J. Dairy Sci.* 100:5642-5652.
- Marchesini, G., M. Cortese, D. Mottaran, R. Ricci, L. Serva, B. Contiero, S. Segato and I. Andrighetto. 2018. Effects of axial and ceiling fans on environmental conditions, performance and rumination in beef cattle during the early fattening period. *Livest. Sci.* 214:225–230.
- Quimby, W. F., F. Sowell, J. G. P. Bowman, M. E. Branine, M. E. Hubbert and H. W. Sherwood. 2001. Application of feeding behaviour to predict morbidity of newly received calves in a commercial feedlot. *Can. J. Anim. Sci.* 81:315-320.
- Schoening T. E., J. Wagner, and M. Arvand. 2005. Prevalence of erythromycin and clindamycin resistance among *Streptococcus agalactiae* isolates in Germany. *Clin. Microbiol. Infect.* 11:579–82.
- Sutherland, M. A., G. L. Lowe, F. J. Huddart, J. R. Waas, and M. Stewart. 2018. Measurement of dairy calf behavior prior to onset of clinical disease and in response to disbudding using automated calf feeders and accelerometers. *J. Dairy Sci.* 101:8208–8216.
- Svensson, C. and M. B. Jensen. 2007. Short communication: Identification of diseased calves by use of data from automatic milk feeders. *J. Dairy Sci.* 90:994-997.

Agradecimientos: A las empresas ENGS y Lllemand, a los propietarios de la granja Sat Cat Nicolau y a Oliver Valero Coppin del Servei d'Estadística Aplicada de la Universitat Autònoma de Barcelona.

BEHAVIOR AS EARLY DETECTOR OF DISEASES IN YOUNG CALVES

ABSTRACT: Morbidity in newly received calves is an important issue in beef cattle systems. Antibiotics are used as a preventive measure. The World Health Organization recommended the reduction in the use of antibiotics. The early prediction could be a good strategy to reduce its use. The objective of this study was to use the behaviour as an early predictor of health disorders in newly received calves. Holstein males (n=325) calves were weighted and fitted with accelerometers able to measure the time and number of visits to the feed bunk, step counts, lying bouts and lying time. Calves were checked daily for their health status. A matched pair design was used to determine the difference between sick and healthy calves, and data analyzed using SAS (v.9.4). The difference between sick (n=33) and healthy calves started to be evident 10 day before the onset of clinical symptoms. Sick calves spent less time and had fewer visits to the feed bunk; had fewer step and lying bouts; and spent less time lying, compared with healthy calves. Prediction of diseases based on behavioral changes could be a useful tool to select calves for preventive treatment. However, the precision of the method is limited.

Keywords: Accelerometers, behavior, calves, prediction.

EL COMPORTAMIENTO COMO INDICADOR DE SALUD EN EL GANADO DE CARNE DURANTE EL PERIODO DEL ENGORDE

Belaid¹, M.A., Rodríguez-Prado², D.V., Rodríguez-Prado¹, M., Chevaux³, E. y Calsamiglia¹, S.

¹Universitat Autònoma de Barcelona, 08913, Bellaterra, Barcelona, España; ²Universitat Pompeu Fabra, 08002, Barcelona, España; ³Lallemand Animal Nutrition, 31702, Blagnac, Francia. Email: Sergio.calsamiglia@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La mortalidad y la morbilidad en la entrada de terneros de engorde representan un coste importante para el ganadero y problemas de bienestar al animal. En estas condiciones los terneros se enfrentan a menudo a varios factores de estrés que aumentan su susceptibilidad a las enfermedades (van der Fels-Klerx et al., 2000). El uso de antibióticos y profilácticos para reducir la incidencia de patologías es indispensable para la lucha contra las infecciones. Actualmente, el uso de antimicrobianos es elevado, y es responsable en parte de la aparición de cepas bacterianas resistentes a los antimicrobianos en animales y humanos (Catry et al., 2007). El desarrollo de estrategias y sistemas de gestión que permitan prevenir y minimizar las enfermedades es una buena alternativa para reducir el uso de antibióticos (Torrence, 2001). La identificación precoz de terneros enfermos para administrar un tratamiento temprano puede mejorar la efectividad del tratamiento y reducir el uso de antibióticos (Schoening et al., 2004). El uso de sensores como los acelerómetros podrían ser una buena opción para monitorizar el comportamiento de los animales facilitando identificar los terneros con alto riesgo de padecer una enfermedad (Trénel et al., 2009). El objetivo de este trabajo fue predecir enfermedades en los terneros en la entrada del engorde mediante el uso de acelerómetros para evaluar su comportamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se instaló un sistema de acelerómetros (ENGS systems®, Fedometer [FEDO], Israel) en 770 terneros (Edad: 4 ± 1.5 meses) en una granja comercial situada en la provincia de Teruel para estudiar su comportamiento durante los primeros tres meses en la granja. Se analizaron los registros de cuatro grupos que entraron en la granja en marzo ($n=217$), junio ($n=254$), julio ($n=33$), y octubre ($n=273$). Los acelerómetros permiten medir el número de visitas al comedero, el tiempo de acceso al comedero, el tiempo que el animal permanece de pie o tumbado, los cambios de postura de pie a tumbado y el número de pasos. A la llegada de los terneros se registró el número de crotal, el peso vivo, y la fecha de nacimiento y de entrada en la granja. Se realizó un control sanitario diario durante todo el periodo del estudio por parte del personal de granja. Los datos registrados de los acelerómetros se transmitieron a un ordenador mediante un software específico (Eco-herd-software; ENGS, Israel). Para cada evento de morbilidad se registró el número del ternero enfermo, la fecha y el tipo de enfermedad para la que fueron tratados.

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el uso del paquete estadístico SAS (v.9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC). La comparación del comportamiento de los terneros enfermos respecto a los sanos se realizó mediante la aplicación de un diseño de emparejamiento (Matched-pair design), en el cual el día cuando el ternero se diagnosticó enfermo se consideró el día 0. Tres terneros sanos para una misma fecha, pertenecientes a un mismo grupo, con una edad (± 4 días) y peso de entrada aproximado se seleccionaron como sus pares sanos. El periodo de interés fue de 10 días antes y después del diagnóstico de la enfermedad. Se calculó la frecuencia de animales sanos y enfermos para los días respecto a la aparición de la enfermedad y se determinó el grado de asociación entre las variables de interés y las variables explicativas seleccionadas mediante un análisis de regresión logística. El modelo incluyó los efectos fijos de la estación, la edad de entrada de los terneros y todos los parámetros de comportamiento. Para generar las ecuaciones de predicción, se seleccionaron aquellos predictores con $P < 0,20$ mediante un proceso de eliminación manual paso a paso hasta que los predictores restantes tuvieran una $P < 0,05$. Se seleccionaron los modelos donde el valor de la curva ROC fue $> 0,70$. Para cada modelo

se calculó la sensibilidad y la especificidad, y se seleccionó el punto de corte con la combinación más alta de sensibilidad y especificidad. Se calcularon las tasas de falsos positivos y falsos negativos. La precisión se definió como la proporción de terneros sanos y enfermos diagnosticados correctamente.

Se realizó un segundo análisis con el fin de validar la mejor ecuación de predicción. De la base de datos se seleccionaron al azar 70% de los terneros enfermos para desarrollar los modelos de predicción utilizando los mismos análisis estadísticos descritos anteriormente. Se seleccionó la mejor ecuación de predicción y se aplicó en la base de datos de validación (30% de los terneros enfermos restantes). Para valorar la validez de la ecuación se compararon los resultados del test de diagnóstico (sensibilidad, especificidad, precisión y los falsos positivos y negativos) obtenidos en ambas ecuaciones, tal y como se describió anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De un total de 770 terneros, 71 terneros (9%) fueron diagnosticados enfermos. De estos, 37 terneros (52%) recibieron tratamiento frente a enfermedades respiratorias, 7 terneros (10%) recibieron tratamiento frente a problemas digestivos, 3 terneros (4%) presentaron problemas de locomoción y el resto (34%) no mostraron síntomas específicos y recibieron un tratamiento general. Todos los tratamientos, independientemente del tipo de enfermedad, se administraron durante al menos tres días consecutivos post-diagnóstico. La tasa de mortalidad durante el estudio fue del 1,2% (n= 9).

Comportamiento normal. Los terneros que no recibieron ningún tratamiento específico se incluyeron para describir su comportamiento normal (n=699). A lo largo del ciclo de crecimiento, los terneros de engorde visitaron en promedio el comedero $8\pm 0,4$ veces/d donde pasaron $91\pm 13,4$ minutos en el total de visitas. Se contabilizó un total de 2430 ± 377 pasos/d, con $28\pm 2,7$ cambios de postura de pie a tumbado, y permanecieron 888 ± 25 minutos tumbados. No obstante, se observó que el comportamiento durante el ciclo de crecimiento no fue constante ($P < 0,05$).

Terneros enfermos vs sanos. Desde el día -10, los terneros enfermos comenzaron a mostrar diferencias en su comportamiento respecto a los sanos. Los animales enfermos se caracterizaron por estar menos tiempo en el comedero (días: -10, -9, -8, -7, -6, -5, -3, -2, y -1; $P < 0,05$; -4, 0, 2, 3 y 9; $P < 0,10$), y menos tiempo tumbados (días: -10, -7, -6, -5, -4, -2, 0, 1, 2, 3, 4, y 8; $P < 0,05$; -7 y 7; $P < 0,10$) que los sanos. Los terneros enfermos también hicieron menos cambios de postura de pie a tumbados (días: -9, -8, -7, 6, 9 y 10; $P < 0,05$; 4 y 8; $P < 0,10$), menos pasos (días: -2, y 0; $P < 0,05$; -2 y 6; $P < 0,10$) y frecuentaron menos el comedero (días: 2; $P < 0,05$; -2, 3, 5, 6 y 7; $P < 0,1$) en comparación con los terneros sanos. Estos cambios en el comportamiento son importantes porque pueden ayudar a predecir la presencia o no de la enfermedad.

Test de diagnóstico y modelos de predicción. Los modelos de predicción encontrados tenían un valor del área bajo la curva (AUC) $> 0,70$. La ecuación del día -9 tuvo el valor más alto de AUC (0,85). La aplicación de esta ecuación para predecir las enfermedades tiene una sensibilidad del 62%, una especificidad del 85% y una precisión del 81%. Usando esta ecuación entre los terneros diagnosticados enfermos, el 48% de los casos fueron falsos positivos y, entre los terneros diagnosticados como sanos, el 11% de los casos fueron falsos negativos.

Validación. La mejor ecuación de predicción en la primera base de datos fue para el día -9. Esta ecuación tuvo un 50% de sensibilidad, 78% de especificidad, 73% de precisión, un 66% de falsos positivos y 13% de falsos negativos. Cuando se aplicó al mismo día en la base de datos de validación (30% de los terneros enfermos) resultó en un 55% de sensibilidad, un 80% de especificidad, y un 75% de precisión. Los falsos positivos y negativos fueron del 60% y 12%, respectivamente. La comparación de los valores del test de diagnóstico encontrados en ambas ecuaciones no muestra una gran diferencia.

Los resultados encontrados en nuestro estudio coinciden con los resultados observados en trabajos anteriores y podrían ser útiles para la predicción de enfermedades. Por ejemplo, Surtherland et al. (2018) observaron que terneros mamones con diarrea neonatal redujeron

el consumo (4 días), las visitas a los bebederos (2 días), y en el cambio de postura de pie a tumbado (5 días) antes de su diagnóstico clínico. Marchesini et al. (2018) también observaron que los terneros de engorde redujeron su actividad y su rumia 3 y 6 días antes de ser diagnosticados de una enfermedad respiratoria. Los resultados obtenidos permiten concluir que el comportamiento en la fase preclínica de las enfermedades es útil para predecir enfermedades en terneros y, por lo tanto, hacer un tratamiento preventivo temprano. Sin embargo, la aplicación de estas ecuaciones en condiciones de campo podría estar limitada por el alto porcentaje de falsos positivos encontrados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Catry, B., Dewulf, J., Opsomer, G., Vanrobaeys, M., Decostere, A., Haesebrouck, F., & de Kruif, A. 2007. Use of antibiotics and antimicrobial resistance in cattle 1520 as evaluated by a herd-level surveillance system. University of Ghent, Faculty of Veterinary 1521 Medicine.
- Marchesini, G., Cortese, M., Mottaran, D., Ricci, R., Serva, L., Contiero, B., Segato, S., & Andrighetto, I. 2018. Effects of axial and ceiling fans on environmental conditions, performance and rumination in beef cattle during the early fattening period. *Livest. Sci.* 214:225–230.
- Sutherland, M.A., Lowe, G.L., Huddart, F.J., Waas, J. Stewart, M. 2018. Measurement of dairy calf behavior prior to onset of clinical disease and in response to disbudding using automated calf feeders and accelerometers. *J. Dairy Sci.* 101:8208-8216
- Schoening, T. E., Wagner J., & Arvand M., 2004. Prevalence of erythromycin and clindamycin resistance among *Streptococcus agalactiae* isolates in Germany. *Clin. Microbiol. Infect.* 11:579-82.
- Torrence, M. 2001. Activities to address antibacterial resistance in the United States. *Prev. Vet. Med.* 51:37-49.
- Ternel, P., Jensen, M. B., Decker, E. L., & Skjoth, F. 2009. Technical note: Quantifying and characterizing behavior in dairy calves using the IceTag automatic recording device. *J. Dairy Sci.* 92:3397-3401.
- van der Fels-Klert, H., Horst H., & Dijkhuizen, A. 2000. Risk factor for bovine respiratory diseases in dairy youngstock in the Netherlands: the perception of expert. *Livest. Prod. Sci.* 66:35-46.

Agradecimientos: A las empresas ENGS y Lallemand; a los propietarios de la granja Ternabeef Javier, Oscar y Roger; y a Oliver Valero Coppin del Servei d'Estadística Aplicada de la Universidad Autònoma de Barcelona.

BEHAVIOR AS AN INDICATOR OF HEALTH DISORDERS IN BEEF CATTLE DURING THE FATTENING PERIOD

ABSTRACT: Morbidity and mortality in beef cattle are important events with relevant economic and welfare implications and antibiotics are often used as a preventive measure. The early diagnostic of diseases could be a good tool to reduce the use of antibiotics. The objective of this study was to use the behavior as a predictor of health disorders in beef cattle. Crossbreed (n=770) bulls (Age: 4±1.5 month) were fitted with accelerometers able to measure the number of visits and time at the feed bunk, steps count, lying bouts and lying time. Bulls were checked daily for their health status. A total of 77 bulls were diagnosed sick and received treatment, and were compared with healthy bulls. Data obtained was analyzed using SAS (v.9.4). The difference between sick and healthy bulls was evident 10 day before the onset of clinical symptoms. Sick bulls spent less time in the feed bunk; had fewer visits, step and lying bouts; and spent less time lying, compared with healthy bulls. Prediction equations resulted in relatively high false positives and negatives. Behavioral changes could be useful in the early prediction of diseases in beef cattle. However, the precision may be limited for field application.

Keywords: Accelerometers, behavior, calves, prediction.

MATADERO COMARCAL VS INDUSTRIAL: INFLUENCIA EN INDICADORES DE ESTRÉS EN TERNERAS DE RAZA PIRENAICA

Guarnido, P., Olleta, J.L., Resconi, V.C., Guerrero, A., Sañudo, C., María, G.A., Campo, M.M. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2, Universidad de Zaragoza-CITA, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. olleta@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, tanto los productores como los consumidores están teniendo cada vez más en cuenta el bienestar animal y de cómo éste puede influir en la calidad final del producto. El sistema de producción de carne de vacuno mayoritario en España se basa en el cebo intensivo del animal, al menos en la fase final. En comparación con este modelo industrial, muchas explotaciones están desarrollando sistemas alternativos de cercanía o “Km 0”, donde los animales son criados y sacrificados en un matadero cercano para su comercialización en la zona (Asaja, 2013). Estos sistemas implican un manejo diferente, ya que los animales suelen provenir de pequeñas granjas familiares y se sacrifican en mataderos de menor escala. Se han identificado diversos factores de estrés responsables del agotamiento del glucógeno y altos valores de pH en la carne, relacionados con el manejo de la cadena logística pre-sacrificio (Miranda-de la Lama et al., 2013; Hambrecht et al., 2005), con implicación directa sobre la calidad del producto final que llega a los consumidores (Eriksen et al., 2013). El objetivo del estudio fue analizar la influencia que puede tener el sacrificio de los animales en un matadero local cercano o en uno industrial lejano, sobre parámetros sanguíneos de respuesta de estrés y el pH de la carne.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 terneras de raza Pirenaica nacidas todas en la misma comarca (Sobrarbe, Huesca) y sacrificadas con menos de 12 meses de edad. El diseño experimental comparó dos sistemas de sacrificio diferentes: en un matadero comarcal ($n=8$) o en uno industrial homologado para la exportación ($n=8$). La Tabla 1 muestra las diferencias entre los grupos del estudio. En cada matadero se tomó una muestra de dos tubos de sangre de 8 mL por animal en el momento del desangrado: uno con EDTA que se utilizó para el hemograma; y el otro sin EDTA, que se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos, para analizar los metabolitos de estrés en suero. El pH de la carne se midió en el *Longissimus dorsi* a la altura de la L3, a las 24 h post sacrificio, utilizando un pHmetro CRISON 507 provisto de un electrodo de penetración. Se realizó la valoración de la conformación y engrasamiento de la canal siguiendo los estándares SEUROP de los profesionales certificados del matadero. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS 22.0 a través de una ANOVA, considerando el tipo de matadero como efecto fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos de edad, variables pre-sacrificio y características de la canal y el pH de la carne se presentan en la Tabla 1. En la Tabla 2 se recogen las variables de respuesta de estrés sanguíneas de ambos grupos. Los animales sacrificados en el matadero industrial recorrieron mayor distancia (km), tuvieron más tiempo total de transporte y espera ($P<0,001$) y un mayor tiempo entre el aturdimiento efectivo y el corte para el desangrado ($P=0,003$). Se observó un incremento significativo del pH de la carne ($P<0,001$) y de los niveles de glucosa ($P=0,003$) en las terneras sacrificadas en el matadero industrial, lo que sugiere que el manejo pre-sacrificio podría ser más estresante en este matadero. Sin embargo, no se pudieron detectar diferencias significativas para los niveles de cortisol ni para creatinquinasa entre ambos grupos. Por otro lado, la relación neutrófilo:linfocito fue mayor ($P<0,01$) en los animales del matadero industrial, debido a una mayor concentración de neutrófilos, lo que también sugiere un mayor estrés en los mismos (Buckham Sporer et al. 2007). Estudios previos indican que el transporte puede influir sobre los niveles de glucosa en sangre, el estado inmunitario y el pH de la carne (Brown et al., 1990; Buckham Sporer et al. 2007; Cafazzo et al., 2012; Stanger et al., 2005), pero otros factores pueden estar involucrados en los resultados del presente estudio, en el que se compararon ambos sistemas en su conjunto.

A modo de conclusión preliminar y en las condiciones de este estudio, los resultados

sugieren que los animales faenados en el matadero industrial más alejado estarían sometidos a un mayor nivel de estrés que aquellos sacrificados como “km 0”, lo cual puede repercutir negativamente en la calidad de la carne (Huertas et al., 2010). Estos resultados pueden ser útiles para promover el consumo cercano de carne de vacuno que puede presentar otras ventajas, como la fijación de la población del medio rural. Sin embargo, los valores de cortisol observados en ambos grupos fueron elevados, de modo que se debe seguir trabajando para determinar las causas y de esta manera poder disminuir el estrés que sufren los animales.

Tabla 1. Edad de las terneras Pirenaicas (N=16), variables pre-sacrificio, características de la canal y el pH de la carne, según hayan sido sacrificadas en matadero comarcal “km 0” o industrial convencional (media ± desviación estándar)

Variables / Matadero	Comarcal	Industrial	P valor
Edad (meses)	10,75 ± 1,28	11,75± 1,66	0,200
Distancia recorrida (km)	4,63 ± 1,92	220,00± 0,00	<0,001
Tiempo transporte (m)	11,5± 5,26	180± 0,00	0,002
Tiempo de espera en matadero (m)	8,50± 1,69	60,00± 0,00	<0,001
Tiempo aturdimiento - sacrificio (s)	36,88± 7,03	46,25± 2,31	0,003
Peso canal (kg)	238, 6 ± 22,4	225,6± 27,1	0,316
Conformación ^a	8,50± 0,92	8,38± 0,51	0,744
Engrasamiento ^b	5,50± 0,53	8,00± 0,00	<0,001
pH 24 horas	5,58± 0,55	5,71± 0,60	<0,001

^a Transformación de la escala SEUROP (P = mediocre a S = superior) del Reglamento (CE) 1182/2017 en una escala de 18 puntos; ^b Transformación de la escala de 1 (no engrasada) a 5 (muy engrasada) del Reglamento (CE) 1182/2017 a una escala de 15 puntos

Tabla 2. Variables sanguíneas al momento del sacrificio de terneras Pirenaicas en dos mataderos (media ± desviación estándar)

Variables / Matadero	Comarcal	Industrial	P
Hematocrito (%)	41,98±4,18	45,31±3,91	0,123
Glóbulos rojos (millones/mm ³)	10,24±0,91	10,35±1,11	0,834
Hemoglobina (g/dL)	14,11±1,43	14,93±1,63	0,302
VCM ^a (fL)	13,78±0,60	14,44±0,99	0,127
Leucocitos /mm ³	8107,70±1489,7	9718,75±2245,2	0,113
Neutrófilos /mm ³	1738,83±803,1	4143,71±929,2	<0,001
Eosinófilos /mm ³	130,26±68,51	129,17±73,42	0,976
Basófilos /mm ³	83,94±42,18	57,21±21,09	0,131
Linfocitos /mm ³	5632,05±1489,7	4911,80±1643,1	0,374
Monocitos /mm ³	518,22±116,5	476,77±213,1	0,637
Plaquetas miles/mm ³	190,37± 93,51	288,87± 130,8	0,105
Neutrófilos/ Linfocitos	0,33±0,21	0,96±0,47	0,004
Creatinquinasa UI/L	1139,13±1441,8	646,00± 141,13	0,352
Glucosa (mg/dL)	117,88±17,17	178,38±43,56	0,003
Lactato (mmol/L)	4,50±1,41	3,88±3,98	0,682
Cortisol (nmol/L)	178,88±21,74	155,11±40,98	0,169
NEFA ^b (mmol/L)	0,31±0,12	0,35±0,21	0,632

^a Volumen corpuscular medio; ^b Ácidos grasos no esterificados

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asaja. (2013). *EL PROYECTO “km 0, fet al costat de casa”*: UNA INICIATIVA DE APOYO AL MEDIO AMBIENTE Y LA EMPRESA. Barcelona. http://www.conama11.vsf.es/conama10/download/files/foro2013/Granada/1896709734_doc_RPruna.pdf
- Brown, S. N., Bevis, E. A., & Warriss, P. D. (1990). An estimate of the incidence of dark cutting beef in the United Kingdom. *Meat Science*, 27(3), 249–258.

- Buckham Sporer, K.R., Burton, J.L., Earley, B., Crowe, M.A. (2007). Transportation stress in young bulls alters expression of neutrophil genes important for the regulation of apoptosis, tissue remodeling, margination, and anti-bacterial function. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 118: 19–29.
- Cafazzo, S., Magnani, D., Calà, P., Razzuoli, E., Gerardi, G., Bernardini, D., Costa, L. N. (2012). Effect of short road journeys on behaviour and some blood variables related to welfare in young bulls. *Applied Animal Behaviour Science*, 139, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2012.03.009>
- Eriksen, M., Rødbotten, R., Grøndahl, A. M., Friestad, M., Andersen, I. L., & Mejdell, C. M. (2013). Mobile abattoir versus conventional slaughterhouse-Impact on stress parameters and meat quality characteristics in Norwegian lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 149, 21–29.
- Hambrecht, E., Eissen, J. J., Newman, D. J., Smits, C. H. M., Verstegen, M. W. A., & den Hartog, L. A. (2005). Preslaughter handling effects on pork quality and glycolytic potential in two muscles differing in fiber type composition. *Journal of Animal Science*, 83(4), 900–907.
- Huertas, S., Huertas, S., Gil, A., Piaggio, J., & van Eerdenburg, F. (2010). Transportation of beef cattle to slaughterhouses and how this relates to animal welfare and carcass bruising in an extensive production system Animal welfare and silvopastoral systems View project Economic Impact of Bovine Brucellosis in Cow-Calf Operatio. *Animal Welfare*, 19, 281–285.
- Miranda-De La Lama, G. C., Pascual-Alonso, M., Guerrero, A., Alberti, P., Alierta, S., Sans, P., María, G. A. (2013). Influence of social dominance on production, welfare and the quality of meat from beef bulls. *Meat Science*, 432–437.
- Stanger, K J, Ketheesan, N, Parker, A J, Coleman, C J; et al. (2005). The effect of transportation on the immune status of *Bos indicus* steers. *Journal of Animal Science*, 83(11): 112632-6.

Agradecimientos: El estudio fue financiado por el Programa de Desarrollo Rural 2014-2020 del Gobierno de Aragón y Fondos FEADER (GCP 2016-0010-00).

LOCAL VS INDUSTRIAL SLAUGHTERHOUSE: EFFECT ON STRESS INDICATORS FROM HEIFERS OF PIRENAICA BREED

ABSTRACT: The aim of the study was to investigate possible differences in stress response variables and meat ultimate pH between heifers slaughtered at a small-scale *versus* a large-scale industrial slaughterhouse. Sixteen Pirenaica yearling heifers born in the Pyrenean mountainous region of *Sobrarbe* (Huesca Province, North Spain), were slaughtered in a small regional abattoir ($n=8$) or in an industrial large abattoir ($n=8$). The two groups differed in km and time in transport, waiting time in the abattoir, stunning to slaughter time, facilities, animal handling, processing conditions, etc., and all could affect animal stress. Blood parameters showed high levels of glucose ($P=0.003$), neutrophils:lymphocytes ratio ($P=0.004$) and neutrophils ($P<0.001$) in the industrial abattoir compared to the local slaughter group. Ultimate pH was also higher ($P<0.001$) in the large-scale slaughterhouse, being 5.51 in the local *versus* 5.58 in the industrial slaughterhouse. Data suggest that the stress response is stronger in the animals slaughtered in the large-scale abattoir located at 3 hours compared with those slaughtered in the small local abattoir (“km 0”) nearby.

Keywords: Type of abattoir, animal welfare, meat quality, stress response

EFECTO DE LA BIOMASA FORESTAL COMO MATERIAL DE CAMA COMPOSTADA SOBRE EL COMPORTAMIENTO EN VACAS DE LECHE

Llonch, L., Castillejos, L., Mainau, E., Manteca, X., Ferret, A.

Servicio de Nutrición y Bienestar Animal (SNI&A), Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. lourdesllonch92@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de estabulación del vacuno lechero tienen un gran impacto sobre la salud y rendimiento de los animales. Recientemente, un nuevo sistema de estabulación libre, la cama compostada, se ha instaurado, y aunque la evidencia científica es limitada, parece que, con un manejo adecuado, puede ser una buena alternativa a los sistemas tradicionales, pudiendo incluso mejorar el bienestar y la salud de las vacas, y facilitar las tareas de manejo del estiércol de las explotaciones (Barberg et al., 2007).

La capacidad y la libertad de acostarse y descansar son importantes para el bienestar y la producción del vacuno lechero. El tiempo de descanso se ha utilizado como un indicador de bienestar, confort y productividad. Las vacas lecheras pasan entre 12 y 14 horas diarias tumbadas, por lo que las características del material de la cama son fundamentales. El material que más se ha utilizado en la cama compostada es el serrín, material orgánico y absorbente. La necesidad de añadirlo diariamente para mantener la cama y el bienestar de las vacas hace que el coste de esta adición sea elevado (entre 0,33 y 0,80 €/vaca/día), dependiendo del origen, calidad, transporte y disponibilidad del material. La composición y capacidad de hidratación de la biomasa forestal, subproducto basado en fibras vegetales resultante de la limpieza de los bosques, lo hace un material con gran potencial para su uso como cama en explotaciones de vacuno lechero. Además, podría mejorar la calidad del abono orgánico en el que finalmente se convierte, sin olvidar el efecto positivo medioambiental derivado de la reutilización y valorización de este subproducto forestal. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la biomasa forestal en sustitución del serrín como material de la cama compostada sobre el bienestar de la vaca lechera.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las granjas experimentales de la Universitat Autònoma de Barcelona entre Octubre del 2016 y Marzo del 2017. Ocho vacas Holstein secas no preñadas fueron alojadas individualmente en corrales de 12,5 m², cubiertos y con suelo de cemento. Previamente a la llegada de los animales, los corrales fueron adaptados para un sistema de alojamiento de camas compostadas (CC). Los corrales se separaban mediante vallas metálicas que permitían el contacto entre animales. La dieta fue TMR *ad libitum* administrada dos veces al día de 1,3 Mcal/kg MS y 16% de PB, con una ingestión esperada de 14 kg/animal/d. Los tratamientos fueron: 1) Cama Compostada de Serrín (CC-S), y 2) Cama Compostada de Biomasa Forestal (CC-BF). Los animales fueron asignados al azar a uno de los tratamientos en un diseño experimental cross-over con 4 animales por tratamiento, y 2 periodos (P1=otoño; P2=invierno) de 11 semanas, con un periodo de descanso de 4 semanas entre ellos. Durante el periodo de descanso, los animales descansaron sobre cama tradicional de serrín. Al inicio de los periodos, los corrales se llenaron con 30 cm de material de cama nuevo (serrín o biomasa forestal). El volteo de la CC se hacía dos veces diariamente a 30 cm de profundidad con un motocultor. Cuando la humedad de la CC del corral superaba el 60%, se añadía una media de 0,8 kg/m²/d de material de cama nuevo en cada corral previo al volteo. La CC de ambos tratamientos fue retirada por completo al final de los periodos. Los muestreos se llevaron a cabo la semana 11 de cada periodo. De la CC se muestreó diariamente la temperatura, con un termómetro con sonda, y semanalmente la humedad, a 103°C durante 24 h. Se registró el comportamiento de los animales mediante cámaras infrarrojas de videograbación durante 24 h de dos días consecutivos de las semanas de muestreo. Las imágenes fueron visualizadas por un único observador. Por cada día de grabación, se observaron 8 h divididas en 2 h en 4 momentos diferentes del día (mañana, mediodía, tarde y noche). Se realizó una observación continua (focal) y una observación en intervalos (scan) de 20 min. En cada intervalo, se registraron todos los comportamientos realizados durante 5 min. En las observaciones continuas, los parámetros evaluados fueron los tiempos necesarios para tumbarse y

levantarse (en segundos, s), y en las observaciones en intervalos, los parámetros evaluados se dividieron en postura y actividad (Tabla 1).

Tabla 1. Etograma de los comportamientos evaluados en las observaciones continuas (focal) y en intervalos (scan).

	Categoría	Parámetro	Definición
Observaciones continuas (focal)	Tiempo necesario para (s):	Tumbarse	Estando levantada, dobla la articulación del carpo y desciende la parte anterior, luego los cuartos posteriores y termina recolocando la parte anterior, pudiendo extender una de las patas anteriores
		Levantarse	Estando tumbada, levanta los cuartos posteriores del suelo, luego la parte anterior, terminando levantada con las cuatro patas sobre el suelo
Observaciones en intervalos (scan)	Postura (% tiempo)	Tumbada	Tumbada teniendo el cuerpo en contacto con el suelo
		Levantada	Levantada sobre las cuatro patas o andando
	Actividad (% tiempo)	Rumiar	Movimiento cíclico de masticación de la mandíbula
		Comer	Cabeza introducida en la apertura del comedero
		Beber	Cabeza introducida en la apertura del bebedero
		Allogrooming	Lamer a la/s vaca/s contiguas a su corral
Selfgrooming	Lamerse el propio cuerpo		
Ninguna	No está realizando ninguna de las anteriores		

Las diferencias en temperatura y humedad de la CC fueron analizadas utilizando el procedimiento MIXED del SAS y las diferencias en todos los comportamientos, con el procedimiento GLIMMIX de SAS. El modelo contenía los efectos fijos del tratamiento (T), periodo (P) y la interacción (T x P). La unidad experimental fue cada vaca en un determinado periodo y tratamiento, y el momento del día fue considerado como efecto aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La temperatura fue mayor en CC-S que CC-FB (32,2°C vs. 24,3°C, $P < 0,0001$), siendo el periodo significativo ($P_1 = 25,5^\circ\text{C}$ vs. $P_2 = 30,9^\circ\text{C}$, $P = 0,0003$). Hubo efecto interacción T x P ($P = 0,0003$) en la humedad siendo CC-FB del P_1 (69,6%) mayor que el resto de combinaciones (valor medio de 63,4%). Estos resultados sugieren que la biomasa forestal no es tan absorbente como el serrín como material de CC para controlar la temperatura y la humedad. El tiempo necesario para tumbarse y levantarse fue similar en ambos tratamientos, con un valor medio de 4,83 s y 2,79 s, respectivamente (Tabla 2), por lo que ninguno de los dos tratamientos fue menos confortable para los animales. En general, la CC ofrece una superficie de descanso blanda que permite a los animales tumbarse y levantarse sin aparente incomodidad (Endres y Barberg, 2007). El tiempo dedicado a descansar diariamente, que se recoge en la postura tumbada, también fue similar entre tratamientos, con un valor medio de 63,3% (Tabla 2), representando 15,2 h/d, tiempo superior a las 12-14 h/d mínimas recomendadas por muchos autores y, a las 13,1±1,8 h/d registradas previamente en la CC (Eckelkamp, 2014).

Tabla 2. Efecto de la CC sobre el comportamiento de descanso de las vacas.

	Tratamientos	Tratamientos		EEM ¹	P-valor		
		CC-BF	CC-S		T	P	T x P
Tiempo necesario para (s):	Tumbarse	5,14	4,52	1,090	0,133	0,667	0,993
	Levantarse	2,77	2,82	1,102	0,867	0,568	0,715
Postura (% tiempo)	Tumbada	64,5	64,1	4,63	0,945	0,369	0,312
	Levantada	35,5	35,9	4,63	0,945	0,369	0,312

¹Error Estándar de la Media

En la tabla 3, el comportamiento de alimentación (comer, beber, rumiar) no evidenció diferencias significativas entre tratamientos, aunque sí entre periodos. La actividad comer fue significativamente mayor en el P1 ($P=0,022$). Esta diferencia se explica por la temperatura ambiental media menor en la semana de muestreo del P1 ($9,1\pm 2,1^{\circ}\text{C}$), que en la del P2 ($13,2\pm 1,5^{\circ}\text{C}$), ya que el aumento de los procesos de digestión aumentan el calor basal de los animales. Las actividades beber y rumiar presentaron tendencias, mayor en el P2 ($P=0,07$) y mayor en el P1 ($P=0,095$), respectivamente. Todos los porcentajes se encuentran dentro de los intervalos normales en vacas de leche.

Tabla 3. Efecto de la CC sobre el comportamiento de las vacas.

	Actividades (%) tiempo)	Tratamientos		EEM ¹	P-valor		
		CC-BF	CC-S		T	P	T x P
	Comer	10,5	12,8	1,57	0,150	0,022	0,679
	Beber	1,28	1,47	0,570	0,738	0,070	0,902
	Rumiar	28,7	30,7	1,96	0,313	0,095	0,252
	Allogrooming	1,64	1,28	2,078	0,739	0,580	0,980
	Selfgrooming	0,91	0,75	1,316	0,481	0,377	0,323
	Ninguna	57,6	53,8	2,53	0,141	0,024	0,480

En conclusión, la utilización de la biomasa forestal como material alternativo para la CC en vacuno lechero permite el óptimo desarrollo del comportamiento de las vacas, de la misma manera que lo hace el serrín, material comúnmente utilizado para la CC. Las diferencias entre ambos materiales de cama dependerán de factores como la eficiencia de compostaje, la sanidad, la sostenibilidad, el precio y/o la disponibilidad del producto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barberg, A.E., Endres, M.I., Salfer, J.A., Reneau, J.K. 2007. Journal of Dairy Science. 90: 1575-1583.
- Eckelkamp, E.A., Gravatte, C.N., Coombs, C.O., Bewley, J.M. 2014. The Professional Animal Scientist. 30: 109-113.
- Endres, M.I., Barberg, A.E. 2007. Journal of Dairy Science. 90: 4192-4200.

Agradecimientos: El trabajo fue financiado por el proyecto AGL2015-68373-C2-1-R del Ministerio de Economía y Competitividad y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

EFFECT OF USING A COMPOST BEDDED PACK BASED ON FOREST BIOMASS ON DAIRY COWS' BEHAVIOR

ABSTRACT: Eight Holstein cows were used in a crossover design experiment to compare the effect of using a new bedding material, forest biomass, as compost bedded pack (CBP) on dairy cows' behavior. Treatments were: 1) CBP of sawdust (CBP-S as control), and 2) CBP of forest biomass (CBP-FB as alternative bedding material). The experiment was performed in two 11-w periods (autumn and winter), with a 4-w washout between them. Sampling was carried out in the 11th week of each period. Daily CBP temperature, weekly CBP humidity and 24-h on two consecutive days cows' behavior were recorded on sampling weeks. Differences were analyzed by using SAS. The CBP temperature was significantly higher in CBP-S, while the CBP humidity was significantly higher in autumn of CBP-FB. Time needed to lie down, time needed to stand up, time lying and time standing, and the activities of eating, drinking, ruminating, allogrooming and selfgrooming were not affected by treatment. Eating was greater and ruminating tended to be greater in autumn than in winter. In contrast, drinking tended to be greater in winter than in autumn. In conclusion, forest biomass could be as useful as sawdust to make compost-bedded pack on dairy cows' behavior.

Keywords: Bedding material, compost bedded pack, behavior, dairy cows.

EL AUMENTO PROGRESIVO DE HORAS DE LUZ AL DÍA DE FORMA ARTIFICIAL MODULA LA CONDUCTA Y MODIFICA EL PERFIL HORMONAL EN TERNEROS DE ENGORDE

Marti, S¹., Medinya, C²., Pérez, A.³, Verdú, M.⁴, Solé, A.¹, Quintana, B.¹, y Devant, M¹.

¹IRTA, Programa Producción de Rumiantes, Caldes de Montbui, Barcelona, España.

²SINUAL, Sallent, Barcelona, España. ³Piensos Procasa, Reus, Tarragona, España.

⁴BonArea Agrupa, Guissona, Lleida, España. sonia.marti@irta.cat

INTRODUCCIÓN

El efecto de las horas de luz diarias sobre varios procesos homeostáticos ha sido extensamente estudiado en diferentes especies, por ejemplo, largas horas de luz incrementa la producción de huevos (Tucker et al., 1982), en animales con estacionalidad reproductora como las ovejas permite controlar el inicio del estro (Gordon et al., 1997) y en vacas sin ser reproductoras estacionales se ha observado que retornan al estro más rápido cuando paren en verano (Hansen, 1983), y en terneras se alcanza la pubertad más temprano cuando los días son largos (Peters et al., 1978). A nivel productivo, en vacas lecheras se ha observado que la manipulación del fotoperiodo incrementa el consumo (Dahl and Petitclerc, 2003; Zinn et al. 1986) y la producción de leche (Dahl et al., 2000; Phillips and Schoefield, 1989; Peters et al., 1981). Rius et al. (2005) observaron una llegada temprana de la pubertad y deposición de magro en terneras cuando crecían en un fotoperiodo de días largos. Sin embargo, hay pocos estudios en terneros de cebo que analicen el efecto del fotoperiodo sobre parámetros productivos, sobre el comportamiento alimentario, agresivo y sexual y sobre su concentración sérica de hormonas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del incremento progresivo de horas de luz cuando el fotoperiodo es decreciente sobre los parámetros productivos y el comportamiento animal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 108 terneros Holstein (243 ± 7,3 días) fueron alojados en 6 corrales. En tres corrales se alojaron terneros con fotoperiodo natural (CT, 335 ± 3,8 kg) y en otros tres corrales los terneros se alojaron y sometieron a un fotoperiodo modificado (FM, 335 ± 4,7 kg). En los corrales con fotoperiodo modificado se instalaron focos (Protek, Secom, Murcia) en el techo de la nave para conseguir 300 lux a la altura de los ojos (480 lux horizontal, 300 lux vertical) y se incrementó 1 h de luz diaria cada 14 d hasta conseguir 16 h de luz al día al final del estudio. Los terneros fueron alimentados con concentrado utilizando dispensadores automáticos con registro de consumo individual (GEA SurgeWestfalia, Alemania), y paja, ambos *ad libitum*. El peso vivo (PV) de los terneros se registró cada 14 días hasta el día 84 de estudio. Los días 9, 23, 37, 50 y 64, se realizaron observaciones de los terneros por corral para evaluar el comportamiento agonístico y sexual. Finalmente, los días 0, 28, 55 y 84 se recogieron muestras de sangre vía vena yugular, para analizar la concentración sérica de testosterona y prolactina. Los terneros de ambos tratamientos se sacrificaron en diferentes días (93, 100, 103 días de estudio), y el peso de la canal, conformación y engrasamiento fueron registrados según la clasificación (S) EUROP (Regulación EU N° 1208/81 y 1026/91) y 1.2.3.4.5 (Regulación EU N° 1208/81).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El incremento progresivo de horas de luz cuando el fotoperiodo es decreciente no tuvo un efecto sobre parámetros productivos como el PV final (CT: 447 ± 2,9 kg; FM: 449 ± 3,6 kg), ganancia media diaria (GMD) (CT: 1,34 ± 0,037 kg/d; FM: 1,36 ± 0,046 kg/d), y peso canal (CT: 247 ± 1,7 kg; FM: 244 ± 2,1 kg) o rendimiento de canal (CT: 53,0 ± 0,21 kg; FM: 52,7 ± 0,26 kg). Sin embargo, la conformación tendió (P = 0,08) a ser peor en las canales FM (62,8%, 34,3% y 2,9% para clasificación P, O, R, respectivamente) comparado con las CT (38,9%, 55,6% y 5,6% para clasificación P, O, R, respectivamente). Así mismo el porcentaje de canales clasificadas con 1 de engrasamiento fue menor (P = 0,04) para las CT comparado con las FM (0% vs. 5,71%) y para canales clasificadas con 2 de engrasamiento fue mayor (P = 0,04) para las canales CT comparado con las FM (12,9% vs. 2,9%); no se observaron diferencias entre CT y FM en el porcentaje de canales clasificadas con

engrasamiento 3. Peters et al. (1978; 1981), sí observaron un incremento entre el 10 y el 17 % en la GMD en terneras sometidas a 16 h de luz comparado con terneras sometidas a fotoperíodo natural y terneras con 24 h de luz al día. En este estudio los terneros se encontraban en la fase de acabado (335 kg), mientras que en el estudio de Peters et al. (1981) las terneras se encontraban en la fase de crecimiento (130 kg). Algunos autores (Petitclerc et al. 1984; Zinn et al., 1986; Mossberg and Jönsson, 1996; Phillips et al. 1997) indicaron que los días largos incrementaban la deposición de proteína, y eso podría explicar porque si se observan diferencias en fase de crecimiento (Peters et al. 1981) y no se observaban en el presente estudio donde los terneros se encontraban en la fase de acabado. No hubo diferencias en el consumo de pienso entre tratamientos durante los 84 d de estudio (CT: $9,5 \pm 2,13$ kg; FM: $9,5 \pm 2,63$ kg). Sin embargo, el comportamiento alimentario se vio modificado para los terneros FM; el número de visitas al comedero aumentó ($P < 0,01$) mientras que el tamaño de comida ($P = 0,02$) y el tiempo entre comidas ($P = 0,02$) disminuyó durante los 84 d de estudio en los terneros FM comparado con los terneros CT. Al incrementar las horas de luz al día puede que permita a los terneros tener un mayor control en la regulación del consumo; Devant y Bach (2017) ya indicaron que una estrategia para el control del consumo total diario era la regulación del tamaño de comida que está inversamente relacionada con el número de comidas al día, como se puede observar en este estudio. Además, si el animal es capaz de mejorar su regulación en el consumo diario a través de la modificación del fotoperíodo, podría conllevar a una mejor salud ruminal con fermentaciones ruminales menos agresivas (Devant et al. 2016). Las observaciones de comportamiento animal muestran diferencias entre tratamientos (Tabla 1); se observó un mayor ($P < 0,05$) porcentaje de terneros que estaban tumbados y rumiando, y un menor ($P < 0,05$) número de montas y peleas en los corrales con terneros con fotoperíodo modificado comparado con los corrales con terneros CT. Finalmente, no se observaron diferencias en la concentración de testosterona entre tratamientos, si bien se observaron diferencias en la concentración de prolactina en los 84 d de estudio ($P < 0,05$; Figura 1).

El programa de luz alternativo propuesto puede ser una buena estrategia para mejorar el bienestar animal y posibles problemas de acidosis ruminal en las granjas donde otras estrategias de manejo (comederos, densidad animal, etc...) no puedan ser optimizadas.

Tabla 1. Porcentaje de terneros tumbados y rumiando, y frecuencia de comportamientos agresivos y sexuales durante 3 h/d de terneros con fotoperíodo natural (CT) y fotoperíodo modificado (FM).

Item	Tratamiento			P-valor	
	CT	FM	T	Tiempo	T x Tiempo
% terneros tumbados	24,6±4,24	41,5±4,24	0,01	< 0,01	0,66
% terneros rumiando	10,1±2,06	17,4±2,06	0,02	< 0,01	0,85
Lucha	10,2±1,03	5,6±1,03	0,02	0,04	0,44
Asalto	4,3±0,66	3,2±0,66	0,19	0,20	0,76
Desplazamientos	0,47±0,191	0,33±0,191	0,56	0,48	0,12
Persecuciones	1,1±0,17	0,5±0,17	0,28	0,01	0,22
Flehmen	5,6±0,57	7,3±0,57	0,15	< 0,01	0,41
Intentos de monta	7,7±0,97	2,3±0,97	< 0,01	< 0,001	0,16
Montas	3,2±0,31	0,7±0,31	< 0,01	< 0,001	< 0,001

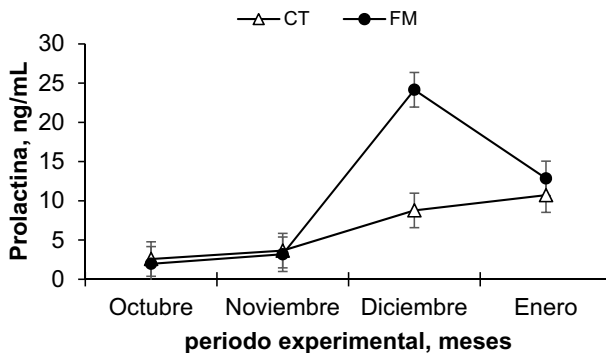


Figura 1. Concentración de prolactina durante los meses de estudio de terneros con fotoperiodo natural (CT) y fotoperiodo modificado (FM).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dahl, G.E., Buchanan, B.A. & Tucker, H.A. 2000. *J. Dairy Sci.* 83:885-893. • Dahl, G.E. & Petitclerc, D. 2003. *J. Anim. Sci.* 80(Suppl.1):9. • Devant, M., Penner, G.B., Marti, S., Quintana, B., Fábregas, F., Bach, A., & Aris, A. 2016. *J. Anim. Sci.* 94:3902-3918. • Devant, M., & Bach, A. 2017. Pages 3-30 in III Jornada Fedna-Anembe. Madrid 6 Novimbere 2017. • Gordon, I. 1997. Pages 146-148 in *Controlled Reproduction in Farm Animals*. Vol. 2 CAB Int. • Hansen, P.J., Kamwanja, L.A. & Hauser, E.R. 1983. *J. Anim. Sci.* 57:985-992. • Mossberg, I., & Jönsson, H. 1996. *Anim. Sci.* 62:233-240. • Peters, R.R., Chapin, L.T., Leining, K.B. & Tucker, H.A. 1978. *Science* 199:911-912. • Peters, R.R., Chapin, L.T., Emery, R.S. & Tucker H.A. 1981. *J. Dairy Sci.* 64:1671-1678. • Petitclerc, D., Chapin, L. T., & Tucker, H. A. 1984. *J. Anim. Sci.* 58:913-919. • Phillips, C.J.C., & Schofield, S.A. 1989. *Anim. Prod.* 48:293-303. • Phillips, C. J. C., Johnson, P. N. & Arab T. M. 1997. *Anim. Sci.* 65:173-181. • Rius, A.G., Connor, E.E., Capuco, A.V., Kendall, P.E., Auchtung-Montgomery, T.L. & Dahl, G.E. 2005. *J. Dairy Sci.* 88:4356-4365. • Tucker, H.A. & Ringer, R.K. 1982. *Science* 216:1381-1386. • Zinn, S.A., Chapin, L.T. & Allen Tucker, H. 1986. *J. Anim. Sci.* 62:1273-1278.

Agradecimientos: S.M. agradece la ayuda postdoctoral del programa Beatriu de Pinós (AGAUR, Generalitat de Catalunya). Éste estudio fue parcialmente financiado por el programa CERCA (Generalitat de Catalunya).

EFFECT OF PROGRESSIVE INCREASE THE HOURS OF DIALY LIGHT EXPOSURE MODULATES FEEDING AND ANIMAL BEHAVIOR AND MODIFY HORMONAL PROFILE

ABSTRACT: One hundred and ten Holstein male calves (335 ± 4.3 kg and 243 ± 0.96 d of age) were used to evaluate the effect of increasing hours of light/d on performance, feeding, sexual and agonistic behavior, and hormone profile. Pens were assigned to 1 of the 2 treatments according to natural photoperiod (CT) or modified photoperiod (MF), where artificial light (300 lux at eye height) was provided during winter months increasing 1 h of light every 15 d from October (11 h of light/d) to November (16 h of light/d), and remaining at 16 h of light/d until January. Concentrate intake was recorded daily, and BW and animal behavior fortnightly. Final BW, ADG and concentrate intake were not affected by photoperiod. However, number of visits at the feeder increased ($P < 0.001$), and meal size and intermeal duration decreased ($P = 0.02$) in MF compared with CT. Sexual and agonistic behaviors such as fighting, attempts to mount and mounts were greater for CT than in MF animals. MF changed their prolactin profile compare to CT. Increasing hours of light a day modifies eating behavior, and prolactin profile, and reduces sexual and agonistic behaviors.

Keywords: beef, photoperiod, performance, behavior.

RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE LA RELACIÓN ENTRE LA EFICIENCIA ALIMENTARIA, LOS PARÁMETROS DE ESTRÉS Y LOS RENDIMIENTOS EN MATADERO EN MACHOS CASTRADOS IBÉRICO X DUROC

De Mercado de la Peña¹, E., Gomez Izquierdo¹, E., Ciruelos¹, J.J., García Cortés², L.A., Rodríguez², M.C., Silió², L., Gomez-Raya², L., y Rauw², W.M.

¹Centro de Pruebas de Porcino del ITACYL, Ctra. Riaza-Toro, 40353 Hontalbilla, Segovia.

²Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Crta de La Coruña km 7.5, 28040 Madrid; ita-merpened@itacyl.es

INTRODUCCIÓN

La selección para mejorar la eficiencia alimentaria puede reducir la capacidad de los animales para responder a situaciones de estrés. Alternativamente, los animales con una respuesta baja al estrés pueden tener mayores tasas de crecimiento y una mejor eficiencia alimentaria (Rauw et al., 2017). De hecho, la selección para alta eficiencia alimentaria resulta en una respuesta menor al estrés producido por situaciones de miedo. Por ejemplo, las cerdas primerizas de una línea seleccionada para un bajo RFI (del inglés Residual Feed Intake) tienden a tener concentraciones de cortisol basales más bajas (Sadler et al., 2014) y son menos sensibles a un desafío de ACTH (hormona adrenocorticotropa) que las primerizas de una línea de alto RFI (Jenkins et al., 2013). El objetivo del presente estudio fue investigar la relación entre la eficiencia alimentaria, los valores en el suero sanguíneo de cortisol, lactato y glucosa y los rendimientos en matadero utilizando cerdos cruzados Duroc x Ibérico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 53 machos castrados híbridos Duroc x Ibérico, fueron alojados individualmente en las instalaciones del Centro de Pruebas de Porcino de ITACyL. Todos los procedimientos fueron aprobados por el comité de ética de dicha institución y el órgano competente de la Junta de Castilla y León. El peso de los animales y el consumo de pienso diario (CMD) se registró individualmente 22 veces durante un periodo experimental de 124 días. Los animales crecieron desde un peso inicial medio de 40,6 (\pm 0,479) hasta 158,1 (\pm 1,53) kg. La ganancia media de peso diaria (GMD) y la eficiencia de conversión del pienso (FCE, calculada como GMD / CMD) se estimaron para tres periodos consecutivos de 56 (crecimiento), 35 (cebo) y 33 (acabado) días, y para el periodo total.

Los animales se sacrificaron al final del ensayo determinándose el peso de la canal (PesoCanal), y los pesos de jamones, paletas y lomos. A partir de estos pesos, se calculó el rendimiento de la canal (RendimientoCanal) como $[\text{PesoCanal} / \text{Peso vivo}] \times 100\%$, y el rendimiento del jamón, paleta y lomo se calculó como $[\text{peso de cada pieza} / \text{Peso Canal}] \times 100\%$. Además, de cada individuo, se obtuvieron muestras de sangre mediante sangrado retroorbital cinco días antes del inicio del experimento y en el día 78 del experimento, así como en el desangrado del animal en el sacrificio. En las muestras de plasma sanguíneo obtenidas se analizaron los niveles de lactato, cortisol y glucosa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las medias de GMD y FCE para los periodos de crecimiento, cebo y acabado, y los pesos promedio de la canal, jamón, paleta y lomo, así como los rendimientos (en porcentaje) se muestran en la Tabla 1. Los niveles medios de lactato, cortisol y glucosa se muestran en la Figura 1. Debido a que, con un crecimiento más rápido, los requisitos de alimentación para funciones distintas al crecimiento no aumentan proporcionalmente, generalmente se observa una correlación positiva entre el crecimiento y el FCE (Crews, 2005). De hecho, se observó que los cerdos que crecieron más rápido fueron más eficientes en la alimentación ($r = 0,47$, $0,75$ y $0,71$ durante el periodo de crecimiento, cebo y acabado, respectivamente, $P < 0,001$). Como consecuencia, los animales más eficientes en alimentación tuvieron canales más pesadas ($r = 0,42$, $P < 0,01$), y tenían pesos de jamón ($r = 0,40$, $P < 0,01$), paleta ($r = 0,58$, $P < 0,0001$) y lomo ($r = 0,63$, $P < 0,0001$) más elevados. Además, las canales de los animales más eficientes en la alimentación también tuvieron mayores rendimientos de paleta ($r = 0,40$, $P < 0,01$) y de lomo ($r = 0,47$, $P < 0,001$), aunque no de jamón ($r = 0,00$).

Los cerdos con niveles más altos de glucosa tendieron a mostrar niveles más altos de lactato en el periodo de crecimiento ($r = 0,23$, $P = 0,09$) y tuvieron niveles más altos de

lactato en el período de cebo ($r = 0,53$, $P < 0,001$). En el sacrificio, los cerdos con niveles más altos de cortisol tenían niveles más altos de lactato ($r = 0,48$, $P < 0,001$) pero niveles más bajos de glucosa ($r = -0,35$, $P < 0,05$). El cortisol estimula los procesos de gluconeogénesis y glucogenólisis para aumentar la disponibilidad de energía a través de un aumento en los niveles de glucosa. En condiciones aeróbicas, la energía se produce a partir de la glucosa a través del ciclo de Krebs; sin embargo, en condiciones estresantes y de agotamiento de oxígeno, la glucosa se descompone de forma anaeróbica y produce lactato. Por lo tanto, se muestra que el estrés agudo aumenta los niveles de cortisol, glucosa y lactato. Sin embargo, en el momento del sacrificio esto puede provocar un agotamiento de las reservas glucolíticas (Neubert et al., 1996; D'Eath et al., 2010).

La concentración de glucosa plasmática en el periodo de crecimiento, pero no la de lactato ni de cortisol, está relacionada positivamente con la GMD en los tres períodos ($r = 0,46$, $P < 0,001$; $0,24$, $P = 0,09$; y $0,32$, $P < 0,05$), y como consecuencia, la glucosa también está relacionada positivamente con el peso de la canal ($r = 0,48$, $P < 0,001$), el peso del jamón ($r = 0,37$, $P < 0,01$), de la paleta ($r = 0,32$, $P < 0,05$) y del lomo ($r = 0,24$, $P = 0,09$). Los cerdos con un crecimiento más rápido tuvieron niveles más bajos de glucosa en el sacrificio ($r = -0,31$, $P < 0,05$), lo que indica un agotamiento más rápido de las reservas glicolíticas. Debido a su relación con la tasa de crecimiento, los cerdos que tuvieron una alimentación más eficiente, tuvieron niveles más altos de glucosa durante su crecimiento ($r = 0,31$, $P < 0,05$) y niveles más bajos de glucosa en el sacrificio ($r = -0,29$, $P < 0,05$). Aunque el cortisol y la glucosa se correlacionan negativamente en el momento del sacrificio, ambas mediciones mostraron una tendencia a tener una relación negativa con los pesos y rendimientos de paleta y lomo (Tabla 2). Además, los cerdos con niveles más altos de cortisol en el sacrificio tendían a ser menos eficientes en la alimentación ($r = -0,25$, $P = 0,08$) y tenían canales de menor peso ($r = -0,31$, $P < 0,05$).

En conclusión, los resultados del presente estudio indican que los cerdos de crecimiento más rápido y más eficientes en la alimentación tienen niveles más altos de glucosa en plasma durante su crecimiento, posiblemente debido a la variabilidad subyacente de la concentración de hormona del crecimiento (Gopinath y Etherton, 1989). En el sacrificio, un mayor nivel de cortisol plasmático se relaciona con canales más ligeras y un menor rendimiento de paleta y lomo, y tiende además a relacionarse con una menor eficiencia de la alimentación, lo que respalda la observación de que una respuesta reducida al estrés puede mejorar los niveles de producción.

Tabla 1. Promedio (\pm estándar error) de la ganancia de peso medio diario (GMD), y eficiencia de conversión del pienso (FCE) durante el período de crecimiento, cebo y acabado, y los pesos promedio de la canal (Pesocanal), jamón, paleta y lomo y sus respectivos rendimientos.

	Crecimiento	Cebo	Acabado
GMD (kg/d)	0,965 (\pm 0,0127)	1,01 (\pm 0,0196)	0,849 (\pm 0,0194)
FCE	0,343 (\pm 0,00305)	0,280 (\pm 0,00387)	0,231 (0,00312)
	Peso (kg)	%	
PesoCanal	125,5 (\pm 1,36)		
RendimientoCanal		79,6 (\pm 0,14)	
Jamón	15,9 (\pm 0,17)	12,6 (\pm 0,069)	
Paleta	10,3 (\pm 0,11)	8,18 (\pm 0,043)	
Lomo	2,78 (\pm 0,046)	2,22 (\pm 0,028)	

Tabla 2. Correlación fenotípica entre el peso y el rendimiento de la paleta y el lomo con los niveles plasmáticos de glucosa y cortisol en el momento del sacrificio.

	Paleta (kg)	Paleta %	Lomo (kg)	Lomo%
Glucosa	-0,26 †	-0,25 †	-0,24 †	-0,38 **
Cortisol	-0,23	-0,26 †	-0,41 **	-0,26 †

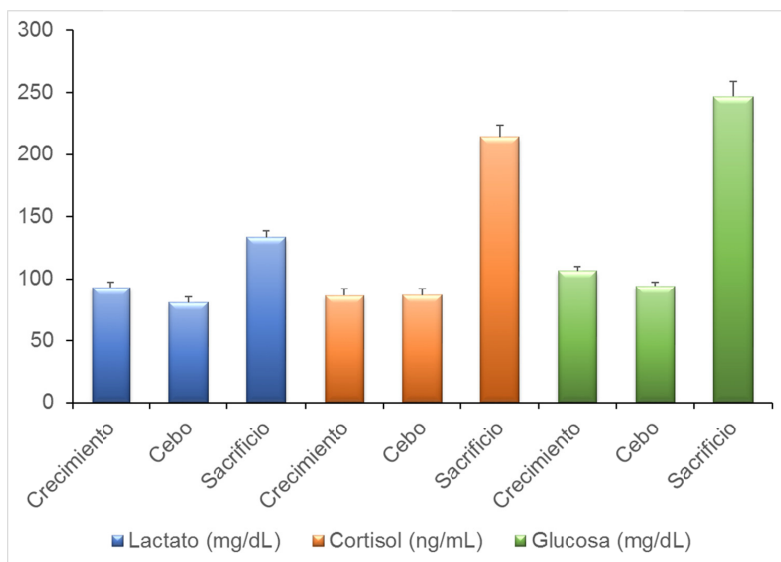


Figura 1. Promedio de los niveles plasmáticos de lactato, cortisol y glucosa (\pm estándar error) que se midieron durante el período de crecimiento, cebo, y al sacrificio.

REFERENCIAS

- Crews, D.H. Jr. 2005. Genet. Mol. Res. 4: 152-165.
- D'Eath, R.B., et al., 2010. Animal 4: 604-616.
- Gopinath, R., and Etherton, T.D., 1989. J. Anim. Sci. 67: 682-688.
- Jenkins, J. D., et al., 2013. Animal Industry Report: AS 659, ASL R2814. Ames, IA: Iowa State University.
- Neubert, E., Gürtler, H., Vallentin, G., 1996. Berl. Munch. Tier. Woch. 109: 409-413.
- Rauw, W.M., et al., 2017. Front. Genet. 8: Article 134.
- Sadler, L., et al., 2014. J. Anim. Sci. 89: 258-266.

Agradecimientos: Esta investigación ha sido financiada por el proyecto SusAn ERA-Net "Sostenibilidad de la producción porcina a través de la mejora de la eficiencia de la alimentación" (SusPig; www.suspig-era.net) y por la financiación del Gobierno español, a través del proyecto "Caracterización molecular de la eficiencia alimentaria y de los caracteres reproductivos en cerdo Ibérico" (AGL2016-75942-R; IBERFIRE).

PRELIMINARY RESULTS ON THE RELATIONSHIP BETWEEN FEED EFFICIENCY, STRESS PARAMETERS AND SLAUGHTER YIELDS IN DUROC X IBERIAN BARROWS

ABSTRACT: Animals with a reduced stress response may grow faster and have improved feed efficiency. The relationship between feed efficiency, stress parameters, and slaughter yields in crossbred Duroc x Iberian pigs was investigated. More feed efficiency pigs grew faster, and had heavier carcasses, and higher yields of ham, shoulder, and loin. Plasma glucose, but not lactate or cortisol measured during the growing period was positively related to body weight gain. As a consequence, plasma glucose during growth was also positively related with carcass weight and ham, shoulder and loin weights. Pigs with faster growth during the growing period had lower levels of glucose at slaughter. More feed efficient pigs during the growing period had higher levels of glucose during the growing period and lower levels of glucose at slaughter. Both cortisol and glucose levels showed a (tendency for a) negative relationship with shoulder and loin yields at slaughter. Pigs with higher levels of cortisol at slaughter tended to be less feed efficient and had lighter carcasses.

Keywords: pigs, feed efficiency, stress parameters, slaughter yield

CONTROL BIOLÓGICO DE PARÁSITOS EN CABALLOS MEDIANTE CONCENTRADO CON ESPORAS DE HONGOS

Viña¹, C., Vilá¹, M., Voinot¹, M., Cazapal-Monteiro¹, C., Pedreira², P., Sanchís³, J., Sánchez-Andrade¹, R., Arias¹, M.

¹ Grupo COPAR, Facultad de Veterinaria, Campus Universitario, 27002-Lugo. ² Fatro Ibérica, 08960 Sant Just Desvern, Barcelona (ESPAÑA); ³ Parasitología y Enfermedades parasitarias, Facultad de Veterinaria, Salto (Uruguay); E-mail del autor responsable: cristiana.cazapal@usc.es

INTRODUCCIÓN

Los parasitismos más prevalentes en caballos están provocados por helmintos gastrointestinales, principalmente nematodos estrogilidos, ascáridos y oxiúridos (Francisco et al., 2012). Las fases infectivas de los estrogilidos (larvas de tercer estadio) se encuentran en el medio, y los caballos se infectan cuando las ingieren junto con el forraje. Existen diferentes preparados comerciales eficaces frente a los estrogilidos de caballos, pero la presencia de larvas en el suelo facilita su reinfección, y así se requieren tratamientos frecuentes. En los últimos años se ha desarrollado investigación acerca de la utilidad de algunos hongos filamentosos saprofitos con actividad frente a huevos, ooquistes o larvas de helmintos, pero no se dispone de vías adecuadas para su distribución de forma apropiada para los ganaderos o cuidadores de animales. En esta investigación se plantea el empleo de pellets nutricionales con esporas de hongos parasiticidas, con objeto de desarrollar un programa de control integrado basado en la desparasitación y prevención.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se multiplicaron esporas de los hongos *M. circinelloides* (ovicida) y *D. flagrans* (larvicida) en el medio de cultivo líquido (COPFr), que se mantuvo 1,5-2 meses a temperatura ambiente hasta alcanzar una concentración $\geq 1 \cdot 10^8$ esporas / L (Arias et al., 2013). Se emplearon 2 grupos de 8 Caballos de Deporte Español mantenidos en pastoreo rotacional, que se trataron con ivermectina *pour on* (1 mg / Kg peso vivo). Dos veces por semana se administraron 2,5 kg de pellets / caballo, recibiendo los del grupo G-T pellets sin esporas, y los del G-E pellets que contenían 2×10^6 esporas de *M. circinelloides* + 2×10^6 esporas de *D. flagrans* / kg concentrado. Cada grupo se alimentó en cuatro praderas diferentes, que nunca se intercalaron. La rotación consistió en un periodo de 1,5 meses de aprovechamiento y 4,5 meses de recuperación (descanso), por lo que la rotación se completó en seis meses.

El efecto de esta estrategia de control integrado se midió mediante la estimación de los recuentos fecales de huevos de helmintos, empleando la técnica de flotación en solución salina ($\rho = 1,20 \text{ g/cm}^3$), y los resultados se expresaron como número de huevos por gramo de heces (HPG).

Debido a que la prueba de Kolmogorov-Smirnov señaló que la distribución de los valores de eliminación de estrogilidos no se adaptaban a una distribución normal (Estadístico= 0,088, $P = 0,001$), estos datos se analizaron con la prueba no paramétrica "U" de Mann-Whitney ($\alpha = 0,05$). Se consideró que las diferencias eran significativas si $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al inicio del estudio, todos los caballos eliminaban más de 300 HPG de estrogilidos, y por ello se desparasitaron con ivermectina *pour on*. A las dos semanas los recuentos de huevos disminuyeron en los dos grupos, obteniéndose unos valores de eficacia del 96% (G-T) y 99% (G-E), que coinciden con datos previamente obtenidos en caballos en la misma región (Francisco et al., 2012).

En el G-T, mantenido en pastoreo rotacional y alimentado con pellets sin esporas, se observó un incremento progresivo de los valores de HPG, con cifras alrededor de 300 a los 5 meses pt (Fig. 46), y por encima de 600 al final del estudio. Los valores de FECR oscilaron entre 58% y 0% en este intervalo, mientras que la mitad de los caballos (CPF= 50%) ya eliminaban huevos un mes después del tratamiento (cuatro semanas pt) (Tabla 11), resultando todos positivos a la flotación a los 3 meses pt (14 semanas pt).

Finalmente, en los caballos del G-E, que recibieron pellets con esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* dos veces / semana, los valores de HPG de estrogilidos aumentaron

gradualmente en los primeros seis meses post-tratamiento, con una media de 201 ± 133 , y entre el 7° y el 12° de 196-249 HPG (Fig. 1). Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los valores de HPG entre el G-T y el G-E ($U = -6,003$, $P = 0,001$).

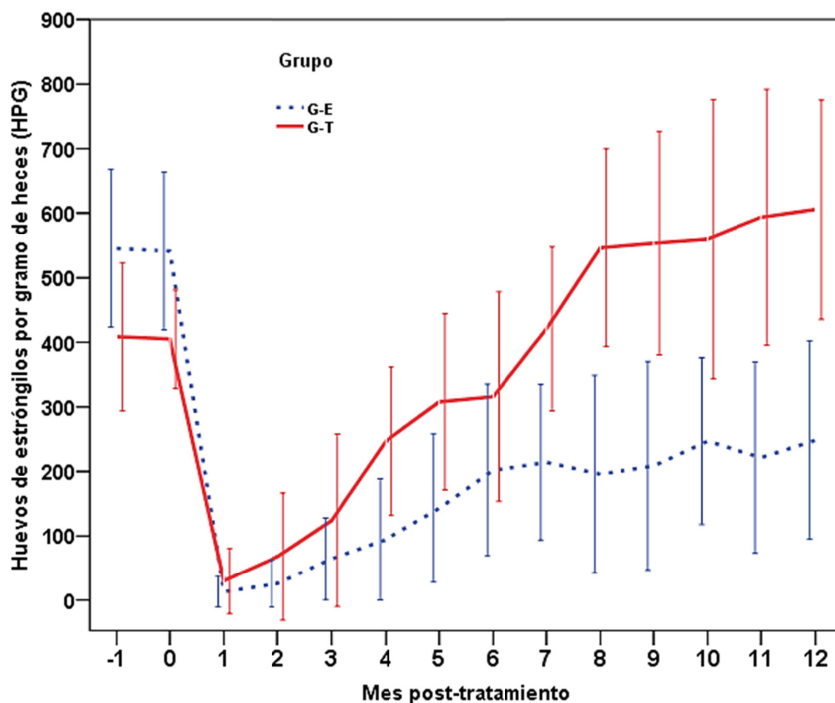


Figura 1. Cinética de eliminación de huevos de estrongídeos en caballos en pastoreo.

Aunque los huevos y larvas de estrongídeos pueden sobrevivir en las heces y en el suelo, incluso en periodos fríos (Kuzmina *et al.*, 2006), la presencia de larvas L3 se reduce con la duración del periodo de descanso del prado, estableciéndose que el riesgo de infección disminuiría de forma notable tras 3-6 meses (Kumar *et al.*, 2013). Sin embargo, el pastoreo rotacional retrasa la infección de los caballos, que se reinfectan y vuelven a eliminar huevos en las heces, contaminando así el prado. En el presente ensayo, los caballos del G-T alcanzaron valores de eliminación superiores a 300 HPG desde la semana 20 pt (5° mes pt), y por tanto precisarían de una nueva desparasitación. Del análisis de los datos en los primeros 6 meses pt, resultan unos valores medios de eliminación de huevos de estrongídeos de 214 ± 179 en el G-T y 155 ± 192 en el G-E, demostrándose diferencias estadísticamente significativas ($U = -2,104$, $P = 0,001$). Entre los meses 7 y 12 pt, los valores medios de HPG en el G-E fueron 2,4 veces inferiores a los del G-T ($U = -7,439$, $P = 0,001$). De estos resultados se deduce que el periodo de pastoreo debería ser inferior a un mes y medio para reducir la contaminación de los prados (Colvin *et al.*, 2008), que conllevaría aumentar el número de pastos en rotación.

No siempre es posible disponer de un número suficiente de pastos, ni de personal para manejar los animales y desplazarlos a praderas que pueden estar distantes entre sí, por lo que parece necesario reducir la viabilidad de los estadios de estrongídeos en el medio, y en especial en las heces.

Como se demuestra en el presente estudio, la incorporación de esporas de hongos parasiticidas a concentrado alimentario que reciben los animales ofrece una herramienta

muy útil para la prevención de ciertas helmintosis digestivas, que permite además la producción de alimentos en régimen ecológico, suponiendo un valor añadido a los mismos. En la actualidad, se ha registrado un producto que contiene esporas de *Duddingtonia flagrans* en EEUU, y se ha solicitado para Europa. Desde la perspectiva legal de registro en la Unión Europea, uno de los principales escollos radica en la clasificación de este tipo de productos, si son aditivos medicamentosos o biocidas. No resulta sencillo aclararlo, puesto que en realidad no actúan sobre los animales (medicamento), sino que éstos son utilizados como vehículos para la dispersión de antagonistas de parásitos eliminados al medio a través de las heces, donde va a tener lugar la actividad antiparasitaria (biocida). Los datos presentados en este estudio nos permiten concluir que la elaboración de concentrados alimentarios con esporas de hongos parasiticidas supone una notable contribución a las posibilidades de prevenir infecciones en los animales, haciendo posible disminuir la aparición de daños que merman su salud y productividad, así como limitar el empleo de productos farmacológicos a situaciones en que resulten imprescindibles. De este modo, se incentiva el desarrollo de medidas de control parasitario sostenibles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arias MS, Cazapal-Monteiro CF, Suárez J, Miguélez S, Francisco I, Arroyo FL, Suárez JL, Paz-Silva A, Sánchez-Andrade R, Mendoza de Gives P (2013) Mixed production of filamentous fungal spores for preventing soil-transmitted helminth zoonoses: a preliminary analysis. *Biomed Res Int* 567876. doi: 10.1155/2013/567876. • Colvin AF, Walkden-Brown SW, Knox MR, Scott JM (2008) Intensive rotational grazing assists control of gastrointestinal nematodosis of sheep in a cool temperate environment with summer-dominant rainfall. *Vet Parasitol* 153: 108-120. • Francisco R, Paz-Silva A, Francisco I, Cortiñas FJ, Miguélez S, Suárez J, Sánchez-Andrade R (2012) Preliminary analysis of the results of selective therapy against strongyles in pasturing horses. *J Eq Vet Sci* 32: 274-280. • Kumar N, Rao TKS, Varghese A, Rathor VS (2013) Internal parasite management in grazing livestock. *J Parasit Dis* 37: 151-157. • Kuzmina TA, Kuzmin YI, Kharchenko VA (2006) Field study on the survival, migration and overwintering of infective larvae of horse strongyles on pasture in central Ukraine. *Vet Parasitol* 141: 264-272.

Agradecimientos: La actividad aquí reflejada ha sido subvencionada, en parte, mediante los Proyectos de Investigación "INCORPORACIÓN DE HONGOS PARASITICIDAS AUTÓCTONOS A PIENSOS COMERCIALES PARA PREVENIR LA INFECCIÓN DE ANIMALES DE RENTA" (AGL2012-34355; Ministerio de Economía y Competitividad; FEDER), y "FORMULACIÓN DE ESPORAS DE HONGOS PARASITICIDAS EN GELATINAS COMESTIBLES PARA PREVENIR LAS HELMINTOZOONOSIS TRANSMITIDAS POR EL SUELO" (CTM2015-65954-R; Ministerio de Economía y Competitividad; FEDER).

BIOLOGICAL CONTROL OF PARASITES IN HORSES THROUGH CONCENTRATE WITH FUNGAL SPORES

ABSTRACT: The usefulness of a concentrate-based formulation with spores of fungal parasiticides (*Mucor circinelloides* + *Duddingtonia flagrans*) was studied to develop an integrated control strategy in horses with strongylosis. Nutritional pellets manufactured with fungal spores were used, and their effect was evaluated by coprological analyzes of the faeces collected directly from the rectum of the animals. Two groups of horses were established, after they were treated with topical ivermectin. The G-T received nutritional pellets two days / week, and the G-E pellets with spores. Fecal counts of eggs in the G-E remained below 300, while in the G-T increased to 600. It is concluded that this formulation offers a sustainable option for the integrated control of strongyles in grazing horses.

Keywords: parasite integrated control, horses, fungi, pellets

INOCUIDAD DE LA INGESTA DE ESPORAS DE HONGOS EN CABALLOS

Vilá¹, M., Voinot¹, M., Viña¹, C., Torres¹, M.I., Cazapal-Monteiro¹, C., Romasanta¹, A., Sanchís², J., Sánchez-Andrade¹, R., Arias¹, M.

¹ Grupo COPAR, Facultad de Veterinaria, Campus Universitario, 27002-Lugo. ² Parasitología y Enfermedades parasitarias, Facultad de Veterinaria, Salto (Uruguay); E-mail del autor responsable: mariasol.arias@usc.es

INTRODUCCIÓN

Los caballos en pastoreo tienen un riesgo importante de infecciones parasitarias, principalmente por cestodos y nematodos (Relf *et al.*, 2013); también existe la posibilidad de que ingieran metacercarias de *Fasciola hepatica* (Sanchís *et al.*, 2015). Los huevos de nematodos *Parascaris* spp. contienen larvas L2 que provocan la infección por vía oral de equinos, sobre todo los potros menores de 15 meses, aunque también se han detectado caballos adultos con parascariosis (Burk, 2013). La infección por estroñgílicos tiene lugar si los caballos ingieren larvas de 3^{er} estadio (L3) con el pasto, donde éstas pueden sobrevivir al menos durante tres meses bajo condiciones apropiadas, sobre todo humedad elevada y temperatura cálida (Corning, 2009).

Para prevenir la infección por parásitos, se ha indicado la administración de ciertos hongos filamentosos saprofitos, con resultados esperanzadores. En el presente estudio se analizó el efecto de la ingesta de esporas de los hongos *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans* en pellets nutricionales sobre los valores sanguíneos de caballos en pastoreo continuo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se distribuyeron 21 yeguas Pura Raza Galega (PRG) (2-8 años) de forma aleatoria en tres grupos de siete animales cada uno. Se trata de unos caballos autóctonos en su hábitat originario se alimentan de pastos naturales en montes y áreas boscosas, en un régimen denominado *silvopastoreo*; debido a las dificultades que presenta su manejo, una de las formas de desparasitación más adecuadas es la administración tópica de lactonas macrocíclicas (Francisco *et al.*, 2009). La composición de los tres grupos fue la siguiente:

G-P: yeguas desparasitadas con 1 mg de ivermectina *pour on* / Kg pv. (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 pv. (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 para guarecerse. Los caballos 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.

Se tomaron muestras de sangre de la vena yugular en tubos con anticoagulante EDTA, que posteriormente se analizaron con un contador celular automatizado Abacus Junior Vet (Barcelona, España) para obtener los valores de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito, así como los recuentos de leucocitos y los porcentajes de linfocitos, granulocitos y monocitos.

Para asegurar que los pellets con esporas no provocaban alteraciones en las yeguas del G-P, se comprobó que tenían apetito normal, que no estornudaban o presentaban constipación, diarrea o deshidratación. Se prestó atención a la función respiratoria observando posibles signos como tos, descarga nasal, temperatura o respiración anormales, disnea de esfuerzo después de realizar ejercicio. También se exploró la funcionalidad reproductora, en base a que las yeguas presentasen ciclos estrales durante todo el estudio. Finalmente, el estudio se completó con el examen de la piel.

Los datos obtenidos se analizaron con análisis de varianza, considerándose que las diferencias eran significativas si $P < 0,05$.

Todos los procedimientos se desarrollaron de acuerdo a las regulaciones nacionales e internacionales sobre protección de animales empleados para fines científicos (Directiva 2010/63/EU; Ley 6/2013 y RD53/2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores más bajos de eritrocitos y hematocrito se observaron en el G-C y G-T (alimentados con pellets sin esporas), en tanto que en el G-P se obtuvieron valores significativamente superiores ($F= 60,740$, $P= 0,001$ y $F= 43,600$, $P= 0,001$, respectivamente). Aunque los valores de hemoglobina fueron normales en todos los grupos, las cifras más elevadas se registraron en el G-P ($F= 48,265$, $P= 0,001$).

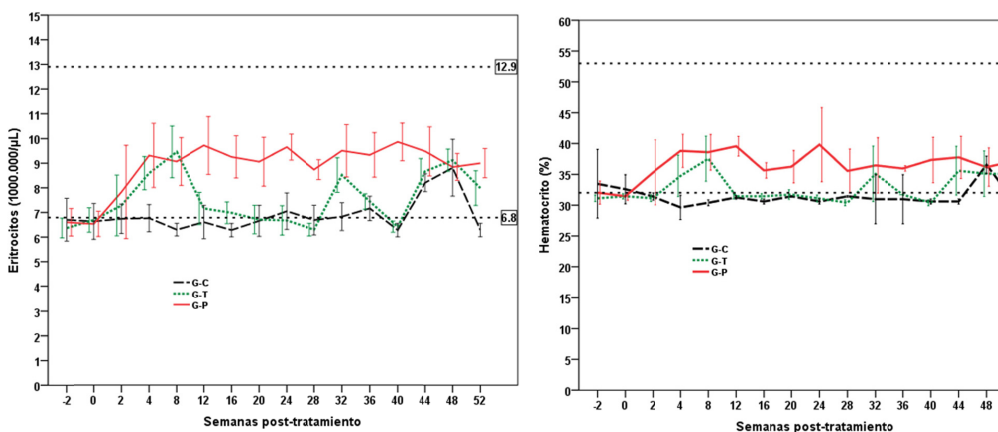


Figura 1. Variaciones de los valores de eritrocitos y hematocrito en caballos PRG en pastoreo continuo. (Las líneas discontinuas señalan los valores de referencia).

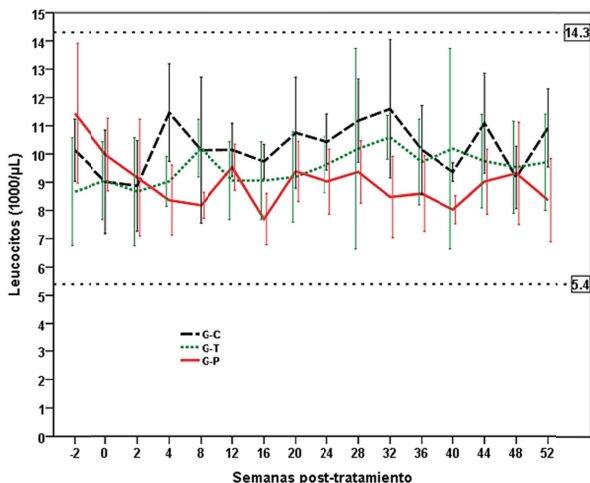


Figura 2. Variaciones de los valores de linfocitos en caballos PRG en pastoreo continuo. (Las líneas discontinuas señalan los valores de referencia).

Respecto a la serie blanca, se detectaron valores dentro de los parámetros fisiológicos para los tres grupos, y únicamente se observaron diferencias significativas para los leucocitos

(Fig. 2), con los recuentos más altos en los equinos del G-C y del G-T ($F= 11,938$, $P= 0,001$).

Estos resultados coinciden en parte con ensayos previos en los que se demostró que la aplicación tópica de ivermectina a PRGs en silvopastoreo restauraba los valores normales de eritrocitos, hematocrito y leucocitos durante las primeras 12 semanas post-tratamiento; sin embargo, a partir de este momento se volvieron a observar niveles bajos para los parámetros de la serie roja, y los de la serie blanca se elevaron (Francisco *et al.*, 2009). Para interpretar de forma correcta los resultados de la serie roja, es importante tener en cuenta que no se apreciaron signos que condujesen a considerar niveles de deshidratación diferentes según el grupo de equinos. Tampoco se produjeron diferencias en la extracción de sangre en relación con situaciones de estrés diferentes a cada lote. 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, que nunca mostraron olor o consistencia anormales, o crecimiento de hongos en superficie. Se concluye que la alimentación de caballos con pellets portadores de esporas de hongos parasitocidas no supone ningún trastorno para su salud, de modo que esta formulación abre una vía muy importante para el control biológico en animales en pastoreo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Burk SV (2013) Detection of antibodies against *Parascaris equorum* excretory-secretory antigens. *Theses and Dissertations – Animal and Food Sciences*. Paper 21. http://uknowledge.uky.edu/animalsci_stds/21 • Corning S (2009) Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasit Vectors* 2: S1. • Francisco I, Arias M, Cortiñas FJ, Francisco R, Mochales E, Sánchez JA, Uriarte J, Suárez JL, Morrondo P, Sánchez-Andrade R, Díez-Baños P, Paz-Silva A (2009) Silvopastoralism and autochthonous equine livestock: analysis of the infection by endoparasites. *Vet Parasitol* 164: 357-362. • Relf VE, Morgan ER, Hodgkinson JE, Matthews JB (2013) Helminth egg excretion with regard to age, gender and management practices on UK Thoroughbred studs. *Parasitology* 140: 641-652. • Sanchís J, Suárez J, Hillyer GV, Hernández JA, Solari MA, Cazapal-Monteiro C, Duque de Araújo AM, Madeira de Carvalho LM, Paz-Silva A, Sánchez-Andrade R, Arias MS (2015) Determination of exposure to *Fasciola hepatica* in horses from Uruguay using a recombinant-based ELISA. *Vet Med-Czech* 60: 1-6.

Agradecimientos: La actividad aquí reflejada ha sido subvencionada, en parte, mediante el Proyecto de Investigación "INCORPORACIÓN DE HONGOS PARASITOCIDAS AUTÓCTONOS A PIENSOS COMERCIALES PARA PREVENIR LA INFECCIÓN DE ANIMALES DE RENTA" (AGL2012-34355; Ministerio de Economía y Competitividad; FEDER).

SAFETY OF THE INGESTION OF FUNGAL SPORES IN HORSES

ABSTRACT: The safety of providing spores of a blend of parasiticide fungi (*Mucor circinelloides* + *Duddingtonia flagrans*) was assessed in horses under a continuous grazing regime. Three groups of mares were considered, G-C involved individuals receiving nutritional pellets and remaining without anthelmintic treatment as controls; G-T mares provided pellets and dewormed at the beginning of the assay, and G-P mares given nutritional pellets manufactured with the fungal spores and anthelmintic treatment also. Blood samples were individually taken and analyzed by means of a hematic coulter-counter. Normal values for the erythrocytes, hemoglobin and hematocrit in horses taking pellets with spores were recorded, and lower than normal in the other groups. It was 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: fungal spores, horses, safety, pellets, blood

CONTROL BIOLÓGICO DE HELMINTOS EN BOVINOS MEDIANTE HONGOS PARASITICIDAS

Voinot¹, M., Viña¹, C., Vilá¹, M., Torres¹, M.I., Palomero¹, A.M., Cazapal-Monteiro¹, C., Bonilla², A., Sanchís³, J., Paz-Silva¹, A., Arias¹, M.

¹ Grupo COPAR, Facultad de Veterinaria, Campus Universitario, 27002-Lugo. ² Laboratorios CARVAL, Bogotá (Colombia). ³ Parasitología y Enfermedades parasitarias, Facultad de Veterinaria, Salto (Uruguay); E-mail del autor responsable: mariasol.arias@usc.es

INTRODUCCIÓN

Los sistemas pastoriles proporcionan grandes ventajas en la cría de animales, puesto que además de la posibilidad de alimentarse, pueden interactuar con otros individuos u otras especies. Bajo estas condiciones, también pueden resultar infectados por diferentes especies de helmintos, que desarrollan parte de su ciclo biológico en el suelo. De este modo, durante el pastoreo pueden ingerir diferentes estadios parasitarios que les llegan a provocar importantes alteraciones. Con objeto de prevenir la infección en ganado bovino en pastoreo, se ha considerado la utilidad de la ingestión de esporas de los hongos *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans* en pellets nutricionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

En una industria de Rábade (Lugo) (NANTA) se elaboraron pellets nutricionales con una mezcla de hongos parasitocidas (3×10^5 esporas de *Mucor circinelloides* + 3×10^5 esporas *Duddingtonia flagrans*/kg), que se adicionaron durante la fase de mezcla, previa a la peletización. Este producto se proporcionó a un grupo de 6 terneras frisonas (G-E) (12-14 meses); otro grupo idéntico recibió concentrado sin esporas (G-T). Las terneras se mantuvieron en pastoreo rotacional, contando con acceso libre a agua. Cada día recibieron 2,5 kg de concentrado. Cada grupo se alimentó de prados diferentes, sin producirse el intercambio.

Debido a que al inicio del estudio se demostró que los bovinos estaban infectados por trematodos y nematodos gastrointestinales, recibieron un tratamiento compuesto por closantel y albendazol. El recuento de huevos de helmintos por gramo de heces (HPG) se realizó con las técnicas de flotación en solución salina y sedimentación. Los recuentos de HPG se representaron como valores medios + DE. La existencia de diferencias estadísticamente significativas se evaluó con la prueba no paramétrica "U" de Mann-Whitney ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de heces a los 14 días post-tratamiento mostró en el G-E una eficacia completa del closantel frente a *C. daubneyi* (100%), y muy elevada (96%) del albendazol frente a los nematodos gastrointestinales (NGI), mientras que en el G-T los valores fueron del 98% y 95%, respectivamente. Estos resultados coinciden con los de investigaciones previas (Rolfe & Boray, 1993; Demeler et al., 2009; Arias et al., 2013).

En el G-E (Fig. 1), después del tratamiento antihelmíntico, no se volvieron a observar huevos de trematodos (*C. daubneyi*) en las heces de las terneras; los recuentos de huevos de nematodos gastrointestinales se mantuvieron en valores inferiores a 100 huevos por gramo de heces (HPG).

Como se puede apreciar en la Figura 2, en el G-T, los recuentos de HPG de trematodos aumentaron a partir del 4º mes post-tratamiento, alcanzándose los valores más elevados en torno al mes 10 post-tratamiento. La cinética de eliminación fecal de huevos de NGI mostró un incremento paulatino a partir del 2º mes post-tratamiento, detectándose valores más o menos constantes (alrededor de 250 HPG) hasta el final del estudio.

Se demostraron diferencias significativas entre ambos grupos para los valores de eliminación de huevos de *C. daubneyi* ($Z = -13,880$, $P = 0,001$) y de NGI ($Z = -5,974$, $P = 0,001$).

En condiciones extensivas o semi-extensivas, los bovinos tienen un elevado riesgo de infección por diferentes parásitos, entre los que destacan los helmintos. Con frecuencia, se diagnostican al mismo tiempo infecciones provocadas por diferentes especies, como sucedió en el presente estudio, lo que requiere administrar varios tratamientos a los animales, para suprimir la presencia de parásitos. Sin embargo, debido a la presencia de

estadios parasitarios en el suelo, al poco tiempo los animales en pastoreo se vuelven a infectar (Ballweber, 2006).

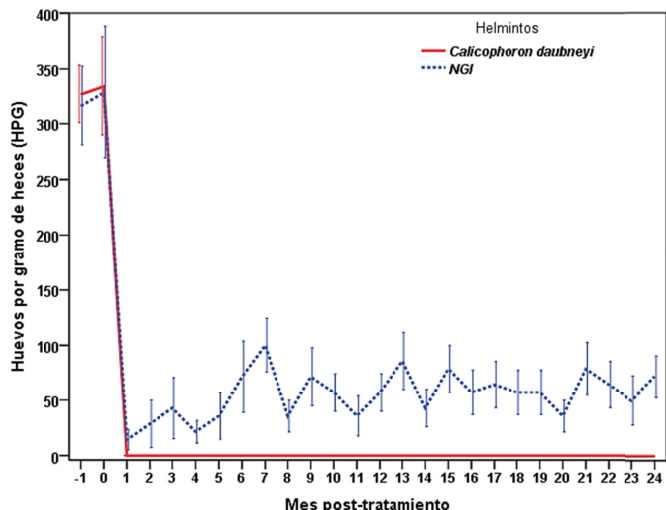


Figura 1. Recuentos de huevos de helmintos en las heces de terneras en pastoreo que recibieron pellets nutricionales con esporas de hongos parasiticidas (G-E).

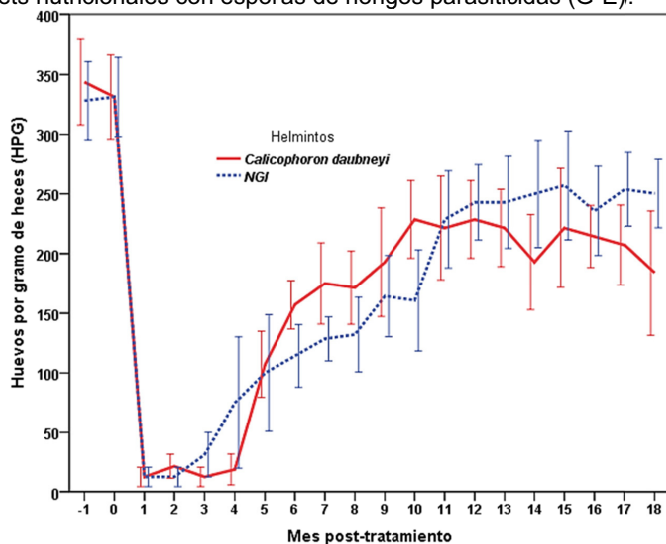


Figura 2. Recuentos de huevos de helmintos en las heces de terneras en pastoreo que recibieron pellets nutricionales sin esporas de hongos parasiticidas (G-T).

Se ha insistido en los últimos años en la necesidad de disponer de herramientas que hagan posible la prevención de infecciones parasitarias, para reducir la frecuencia de desparasitación, y aplicarla solo a aquellos casos en los que resulte estrictamente necesaria. Este abordaje supondría una gran ventaja, basada en la limitación de la aplicación de tratamientos farmacológicos y consecuente efecto beneficioso sobre el medio, ahorro económico, así como la extensión de la vida útil de fármacos antiparasitarios en términos de disminución de la posibilidad de aparición de cepas de parásitos resistentes a los antiparasitarios (Arroyo et al., 2017). En el estudio llevado a cabo, el empleo de una

mezcla de esporas de hongos parasiticidas obedeció precisamente a la necesidad de disponer de un rango amplio de actividad, que haga posible el control de helmintos trematodos y nematodos gastrointestinales. La presencia de *M. circinelloides* en las heces destruye más del 50% de los huevos de trematodos (Arroyo et al., 2017), en tanto que el hongo *D. flagrans* atrapa más del 60% de las larvas de nematodos gastrointestinales (Healey et al., 2018). Esta parece ser la explicación a la observación de que en el G-E no se volvieron a detectar huevos de trematodos después de la administración de antihelmínticos, y los de GIN se mantuvieron en valores reducidos. Por el contrario, las terneras del G-T, se reinfectaron rápidamente, y a los cinco meses post-tratamiento se alcanzaron recuentos que indicaban la necesidad de una nueva desparasitación.

Los procedimientos para conseguir el control biológico de parásitos en animales han de ser prácticos y cómodos para asegurar su aplicación. De los datos obtenidos en el presente ensayo se concluye que la formulación de esporas de hongos parasiticidas en pellets nutricionales ofrece una opción muy útil para su distribución entre animales en pastoreo, sin añadir tareas adicionales al trabajo que los cuidadores tienen que realizar en granjas. Además, la administración de esporas de hongos con actividad complementaria (ovicida + larvicida) supone una contribución significativa a la prevención de reinfección en bovinos en pastoreo. En la actualidad, se ha registrado un producto en EEUU que contiene esporas de *D. flagrans* solamente, y no se dispone de formulaciones con mezclas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arias MS et al. The efficacy of four anthelmintics against *Calicophoron daubneyi* in naturally infected dairy cattle. *Vet Parasitol.* 2013 197:126-9. • Arroyo et al. Effect of the filamentous fungus *Mucor circinelloides* on the development of eggs of the rumen fluke *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae). *J Parasitol.* 2017 103:199-206. • Ballweber LR. Diagnostic methods for parasitic infections in livestock. *Vet Clin Food Anim Pract.* 2006 22:695-705. • Demeler et al. Monitoring the efficacy of ivermectin and albendazole against gastro intestinal nematodes of cattle in Northern Europe. *Vet Parasitol.* 2009, 160:109-15. • Healey et al. Field evaluation of *Duddingtonia flagrans* IAH 1297 for the reduction of worm burden in grazing animals: Pasture larval studies in horses, cattle and goats. *Vet Parasitol.* 2018 258:124-32. • Rolfe PF & Boray JC. Comparative efficacy of moxidectin, an ivermectin/clorsulon combination and closantel against immature paramphistomes in cattle. *Aust Vet J.* 1993 70:265-6.

Agradecimientos: La actividad aquí reflejada ha sido subvencionada, en parte, mediante el Proyecto de Investigación "Incorporación de hongos parasiticidas autóctonos a piensos comerciales para prevenir la infección de animales de renta" (AGL2012-34355; MINECO; FEDER).

PARASITICIDE FUNGI FOR THE BIOLOGICAL CONTROL OF BOVINE HELMINTHS

ABSTRACT: The effect of the intake of pellets containing spores of parasiticide fungi on the excretion of eggs of helminths was analyzed. Six Friesian heifers (12-14 mo) naturally infected by *Calicophoron daubneyi* and gastrointestinal nematodes (GIN) were dewormed with closantel + albendazole, and then provided daily commercial pellets manufactured with a blend of spores of parasiticide fungi (3×10^5 spores *Mucor circinelloides* and 3×10^5 spores *Duddingtonia flagrans* / Kg pellet). Other group of heifers was treated also and provided pellets without spores. Deworming was successful in both groups of heifers. In the G-E, eggs of the trematode *C. daubneyi* were not observed after the deworming till the end of the study, whereas the values of GIN egg-output reduced after the administration of anthelmintics, and counts below 100 were achieved until the end of the study. In the G-T, eggs of *C. daubneyi* and GINs increased significantly from the 4th and the 2nd month after treatment, respectively, and counts around 200 were achieved. It is concluded that industrial manufacturing of feedstuff with spores provides a very useful tool to minimize the risk of infection by the helminths trematodes and strongyles in grazing cattle. This is a very practical strategy without increasing the tasks in farms.

.Keywords: fungal spores, helminths, heifer, prevention, nutritional pellets

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO Y LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN COMO ESTRATEGIAS PARA AUMENTAR LA RESILIENCIA EN POLLOS DE ENGORDE
Escribano¹, D., Estellés², F., Calvet², S., Marín³, C., Montoro², L., Vega³, S., Pérez-Gracia³, T. y Villagra⁴, A.

¹Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad de Murcia. Ed. 16. Hospital Clínico Veterinario. Campus de Espinardo s/n. 30100 Espinardo (Murcia). ²Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, ³Instituto de Ciencias Biomédicas, Departamento de Producción Animal, Sanidad Animal y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, 46115, Alfara del Patriarca, Valencia, ⁴Centro de Tecnología Animal CITA-IVIA. Polígono La Esperanza, 100. 12400, Segorbe, Castellón.
villagra_ara@gva.es

INTRODUCCIÓN

A día de hoy el uso de antibióticos está limitado a la prevención, control y tratamiento de determinadas enfermedades. Sin embargo, la producción animal continúa siendo el principal usuario de estos productos en la Unión Europea (ESVAC, 2017), por lo que cada vez es más necesario la búsqueda de alternativas a su administración.

Durante los últimos años, se han realizado muchos esfuerzos para tratar de reducir el uso de antibióticos y la mayoría de las posibles soluciones planteadas pasan por alternativas nutricionales (Trevisi *et al.*, 2014) o la ganadería de precisión (Matthews *et al.*, 2016). Sin embargo, también se puede abordar el problema buscando una mejora en la salud y una mayor resistencia a las enfermedades por parte de los animales (Dawkins, 2017).

Así, una producción sin antibióticos centrada en el animal, requiere que los animales estén en condiciones de bienestar óptimas para afrontar los retos que les puedan surgir sin recurrir a agentes externos (Thaxton *et al.*, 2016). Este tipo de estrategias basadas en técnicas de manejo ya han demostrado su potencial (Dohmen *et al.*, 2017). Así, en el presente trabajo se pretende valorar el estado de bienestar y la capacidad de afrontar los retos en pollos de engorde de dos estirpes diferentes y sometidos a dos ambientes iniciales diferentes obtenidos con distintos programas de limpieza y desinfección.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo ha sido realizado en las instalaciones de pollos de engorde del CITA-IVIA (Segorbe, Castellón) y se utilizaron un total de 576 animales. Éstos fueron distribuidos en dos salas idénticas: en una de ellas, se realizó una limpieza y desinfección completa (S1) en la que se obtuvo un recuento de enterobacterias de 155 ufc/ml y de aerobios totales de 82 ufc/ml y en la otra, únicamente limpieza (S2), con 360 ufc/ml de enterobacterias y 252 ufc/ml de aerobios totales al inicio. Cada una de las salas contaba con un total de 24 corrales, con 12 animales cada uno (densidad final de 35 kg/m²). En la mitad de corrales se colocaron animales de la estirpe Cobb 500 (velocidad de crecimiento normal) y en la otra mitad, animales de la estirpe Hubbard (velocidad de crecimiento lenta).

La mortalidad fue registrada a diario y semanalmente se registró el peso de todos los animales (por corral) y el consumo de pienso. El día 0, se sacrificaron 30 pollos de cada estirpe para tomar muestras de sangre, timo, bazo, bolsa de Fabricio e hígado. En los días 21 y 42 de los animales de rápido crecimiento, y 21 y 63 de los animales de crecimiento lento, se sacrificaron 30 animales por grupo experimental para obtener una muestra de sangre y el peso de los mismos órganos que en el primer muestreo. Posteriormente, se obtuvo el ratio entre el peso de cada uno de los órganos y el peso del animal. Se tomaron muestras de sangre con heparina para determinar tasa de hematocrito, HGB y RBC y ratio entre neutrófilos y heterófilos, y sin anticoagulante donde se obtenía el suero previa centrifugación para medir la concentración de lactato, glucosa, IgG, IgM, albúmina, ovotransferrina (OVT) y proteína C reactiva (CRP).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los pesos y los consumos de los animales no se obtuvieron diferencias significativas entre las salas 1 y 2, y ambas estirpes presentaron crecimientos normales a lo largo del ciclo

productivo. Por otro lado, el peso relativo de los órganos linfoides disminuye en animales sometidos a estrés (Shukla *et al.*, 2018). Sin embargo, en el presente estudio no se obtuvieron resultados significativos para ninguno de los ratios órgano/peso, a excepción del timo a los 21 días, tal y como se muestra en la Tabla 1. No obstante, como se puede observar, estas diferencias en los pesos del timo desaparecieron al final del periodo experimental.

Tabla 1. Ratio entre el peso del timo y el peso corporal de los animales en todas las condiciones experimentales a 21 días de vida y al final del ciclo experimental (media±desviación estándar)

	Sala 1 Lento	Sala 1 Rápido	Sala 2 Lento	Sala 2 Rápido	P-valor
21 días	0,0035 ^a ±0,0008	0,8008 ^b ±0,0003	0,5531 ^b ±0,0005	0,8459 ^b ±0,0004	0,0056
Final	0,0028±0,0009	0,0032±0,0005	0,0024±0,0006	0,0021±0,0004	0,9845

Los resultados obtenidos para los parámetros de medida del estrés presentaron diferencias, fundamentalmente entre las dos estirpes, tal y como aparece en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de los parámetros de estrés a 21 días y al final del ciclo productivo en cada uno de los tratamientos experimentales

	Sala 1 Lento	Sala 1 Rápido	Sala 2 Lento	Sala 2 Rápido	P-valor
Glucosa 21 días (mg/dl)	264,54	276,72	264,96	264,48	0,756
Glucosa final (mg/dl)	146,68 ^a	265,62 ^b	158,64 ^a	268,89 ^b	0,05
Lactato 21 días (mmol/l)	19,45	17,63	16,81	17,33	0,312
Lactato final (mmol/l)	21,06	16,10	19,80	14,64	0,226
Proteína C reactiva 21 días (ng/ml)	1217,34 ^a	477,55 ^b	1524,43 ^{ac}	1703,61 ^c	0,05
Proteína C reactiva final (ng/ml)	4442,07 ^a	464,88 ^b	5374,13 ^a	1326,75 ^c	0,001
Ovotransferrina 21 días (ng/ml)	2817,93 ^a	3166,38 ^b	3963,01 ^b	2396,89 ^a	0,001
Ovotransferrina final (ng/ml)	6285,97 ^a	1662,04 ^b	7753,15 ^a	4392,96 ^c	0,001
Albúmina 21 días (g/dl)	1,356	1,011	1,214	1,039	0,235
Albúmina final (g/dl)	1,349	1,080	1,415	1,34	0,142
IgG 21 días (µg/ml)	1439,47 ^a	1320,15 ^a	1307,21 ^a	873,82 ^b	0,001
IgG final (µg/ml)	4591,86 ^a	3266,73 ^b	3754,79 ^b	2442,37 ^c	0,013
IgM 21 días (µg/ml)	143,39 ^a	152,23 ^a	144,55 ^a	194,65 ^b	0,032
IgM final (µg/ml)	235,61 ^a	152,04 ^b	251,69 ^a	101,91 ^b	0,05

En esta tabla se puede observar tanto valores más tradicionales de estrés como la glucosa (Puvaldolpirod y Thaxton, 2000a; Puvaldolpirod y Thaxton, 2000b), como medidas más estables y novedosas como algunas proteínas de fase aguda. Estas proteínas son

marcadores de inflamación (Rath *et al.*, 2009) o estrés no inflamatorio (Tomas Marques *et al.*, 2015) que aumentan en situaciones estresantes (CRP y OVT, de acuerdo con O'Reilly y Eckershall, 2014) o disminuyen como la albúmina (Ferit Gursu *et al.*, 2004). En el presente estudio, estas proteínas apuntan a posibles diferencias entre estirpes. Así, en el caso de la glucosa, se observa cierta adaptación de los pollos de crecimiento lento a la situación estresante, al bajar la concentración de glucosa al final de ciclo, aunque la concentración de glucosa también está relacionada con mayores niveles de ansiedad (Armario *et al.*, 1996). En lo referente a las proteínas de fase aguda, pese a que la albúmina permanece invariable, se puede observar de nuevo una clara diferencia entre estirpes, presentando los pollos de crecimiento lento valores mucho más altos de OVT y de CRP, en los dos momentos de muestreo. Además, parece haber una tendencia a presentar resultados más elevados de estas proteínas en la sala que sólo había sido sometida a limpieza. La albúmina, entre las proteínas de fase aguda estudiadas, parece ser la menos sensible a situaciones de estrés (Sheikh *et al.*, 2017), lo que podría explicar el hecho de que permanezca invariable. Finalmente, los pollos de crecimiento lento presentan valores más altos de IgG, tanto a 21 días como al final del ciclo. En cambio, esta tendencia parece cambiar en el caso de la IgM. Esto podría estar indicando que el estado general de los animales sería peor en el caso de los pollos de lento crecimiento siendo problemas más crónicos que agudos. En resumen, parece que los resultados obtenidos en este trabajo apuntan a una mayor sensibilidad al estrés de los pollos de crecimiento lento, en condiciones intensivas de cría a 63 días. En lo referente al efecto de la limpieza y desinfección, los resultados no son concluyentes, pero no parece ser un factor crucial sobre la capacidad del animal de hacer frente a los posibles factores estresantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Armario, A. 1996. *Psychoneuroend.* 21: 17-24. • Dawkins M.S. 2017. *Anim. Prod. Sci.* 57: 201-208. • Dohmen W. 2017. *PlosOne* 12(3): e0174094. • Ferit Gursu, M. 2004. *Nut. Res.* 24: 157-164. • Matthews, S.G. 2016. *Vet. J.* 217: 43-51. • O'Reilly, E.L. y Eckershall, P.D. 2014. *Worlds Poult. Sci. J.* 70:27-44. • Puvaldolpirod, S. y Thaxton, J.P. 2000a. *Poult. Sci.* 79: 363-369. • Puvaldolpirod, S. y Thaxton, J.P. 2000b. *Poult. Sci.* 79: 377-382. • Rath, N.C. 2009. *Poult. Sci.* 88: 2069-2074. • Sheikh, A.A. 2017. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6(10): 531-539. • Shukla, P.K. 2018. *Ind. J. Agric. Bus.* 4: 29-33. • Thaxton Y.V. 2016. *Poult. Sci.* 95(9): 2198-2207. • Tomás Marques, A. 2015. *Res. Vet. Med.* 104: 92-95. • Trevisi, E. 2012. *Res. Vet. Sci.* 96(2): 229-233

Agradecimientos: este trabajo ha sido financiado por el Programa de Proyectos de Investigación Fundamental Orientada del INIA. Proyecto RTA 2017-00013.

USE OF HANDLING TECHNIQUES TO REDUCE ANTIMICROBIALS USE. EFFECT OF GROWTH VELOCITY AND CLEANING AND DISINFECTION

ABSTRACT: The aim of this work was the assessment of handling techniques such as growth velocity and cleaning and disinfection programs as tools for the reduction of antimicrobials in poultry production. 288 Cobb500 and 288 Hubbard chickens were used in the experiment, distributed in 48 pens located in 2 different experimental rooms. Several stress parameters, as well as liver, thymus, bursa de Fabrizio and spleen weights were measured. Results showed that Hubbard chickens (slow growth strain) seems to be more sensible to stressful conditions, whereas cleaning and disinfection have a confusing effect on the capacity of the animals to cope with the environment.

Keywords: chicken, stress, immune system, growth velocity

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN LA DIETA PREPARTO SOBRE LA CALIDAD DEL CALOSTRO DE OVEJA LATXA Y LA TRANSMISIÓN DE INMUNIDAD PASIVA AL CORDERO

Atxaerandio¹, R., Averós¹, X., Granado¹, I., Arranz¹, J., Beltrán de Heredia¹, I., González³, L., Elguezabal², N., Ruiz¹, R.

¹Dpto. de Producción Animal, Neiker-Tecnalia, 01080 Vitoria-Gasteiz (Álava-Araba); ²Dpto de Sanidad Animal, Neiker-Tecnalia, 48160 Derio (Bizkaia); ³Centro de Investigaciones Agrarias Mabegondo, 15318 (A Coruña)
ratxaerandio@neiker.eus

INTRODUCCIÓN

El calostro es básico en la inmunización del cordero, teniendo una relación directa con la supervivencia y salud durante la primera etapa de su vida (Hernández-Castellano et al., 2015), e influye sobre el futuro del cordero, tanto a nivel sanitario y de exigencia de tratamientos veterinarios/uso de medicamentos, como productivo (Hubert y Moisa, 2016). El calostro es la primera fuente nutritiva en rumiantes y promueve la transferencia de inmunoglobulinas (Ig) y otras células inmunes, principalmente leucocitos, desde la madre. Esta transferencia, denominada pasiva (TIP), proporciona al cordero protección frente a patógenos y otros desafíos ambientales (hipotermia) en las primeras semanas de vida. La eficacia de la TIP depende básicamente de la calidad y/o volumen de calostro materno ingerido, y de la absorción intestinal por parte del neonato. La calidad y cantidad de calostro producido están determinadas por múltiples factores como la alimentación de las ovejas. En este sentido, la suplementación de la dieta preparto con determinados componentes grasos parece mejorar la TIP al aumentar la absorción de Ig (García et al., 2014). Por su parte, el ácido linoleico conjugado (CLA) favorece una mayor producción de calostro y modula positivamente el sistema inmune del neonato (Castro et al., 2011). El objetivo de este estudio fue evaluar una estrategia nutricional basada en la suplementación con ácidos grasos poli-insaturados (AGPI) ricos en omega-3 (ω -3) y el uso de forrajes ricos en taninos, que contribuyan a mitigar la biohidrogenación ruminal (Vasta et al., 2009), sobre la calidad del calostro y la TIP al cordero en ovino de raza Latxa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Trabajo evaluado por el OEBA-CE Neiker (2017-007). Durante las 5 últimas semanas de gestación se ofrecieron 2 dietas, cubriendo las necesidades de final de gestación, a 48 ovejas multiparas (24 ovejas/dieta, 2 réplicas/dieta) de raza Latxa: control (CO; 450 g MS de pienso control + 1 Kg MF de silo de maíz/día y oveja + heno de festuca (*Festuca pratensis*) *ad libitum*), y dieta suplementada con AGPI- ω -3 (L; 450 g MS de pienso AGPI- ω -3 + 1 kg MF de silo de maíz/día y oveja + heno de esparceta (*Onobrychis viciifolia*) *ad libitum*). Los grupos se equilibraron según número de parto, valor genético, condición corporal y producción lechera de la campaña previa. Los 2 piensos fueron isoenergéticos e isograsos. Para el pienso control se usó aceite de palma hidrogenada, y para el AGPI- ω -3 se usó harina de lino rica en ω -3 (Valorex®, Francia) y torta de semilla de colza prensada en frío como fuentes de grasa. Durante la paridera se controlaron 20 partos. Tras el parto las ovejas se ordeñaron manualmente, y de cada calostro se midió su volumen, densidad (densitómetro), grados Brix (refractometría óptico-digital; Hanna Instruments, Italia), pH, composición química (métodos normalizados: % de proteína por volumetría (método Kjeldahl); % de grasa por gravimetría (método Röse-Gottlieb), extracto seco (método Norma ISO 6731 (IDF 21)), cenizas por gravimetría (método OM 1694) y % de lactosa por cálculo (Instituto Lactológico Lekunberri, Navarra). La extracción y derivatización de los ácidos grasos del calostro se realizó por metodología normalizada (ISO 1885:2002/IDF 184:2002). La separación y cuantificación de sus ésteres metílicos se llevó a cabo por cromatografía de gases, según Kramer et al. (2002). El recuento de células somáticas (RCS) se realizó con un equipo portátil de recuento celular (DeLaval, Madrid), siguiendo la metodología de Gonzalo et al. (2006). La concentración de IgG del calostro se determinó por inmunodifusión radial (IDR) en placa (IDBiotech SARL, Issoire, Francia). El encalostramiento de los 20 corderos (1 cordero/parto) incluidos en el estudio se realizó a biberón (volumen correspondiente al 10% del PV, dentro de las 18 h postparto), alimentándose con lactoemplazante hasta su destete. La concentración sérica de IgG de los corderos se determinó a las 24 h, 48 h, 7 d, y

21 d de vida, mediante IDR en placa. La eficacia aparente de la absorción (EAA) de IgG se determinó según Alves et al. (2015).

Los datos fueron analizados con modelos lineales mixtos generalizados. La composición, variables físico-químicas, RCS, y la concentración de ácidos grasos del calostro se analizaron con la condición corporal preparto, número de parto, producción lechera de la última lactación (litros), duración de la gestación (d), tipo de parto (simple/múltiple), y dieta (CO/L) como efectos fijos; y el recinto preparto como efecto aleatorio. La concentración sérica de IgG y la EAA de los corderos se analizaron con medidas repetidas, añadiendo a las variables anteriores el PV al nacimiento (kg) como covariable; el sexo (macho/hembra), la edad, e interacciones dobles entre estas 2 últimas variables y la dieta como efectos fijos; y los recintos pre y postnatal como efectos aleatorios. Los análisis se realizaron con el proc GLIMMIX (SAS 9.4, Cary, NC, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las variables de composición del calostro, la dieta preparto tendió a afectar al contenido de grasa, siendo ligeramente inferior en la dieta L (Tabla 1).

Tabla 1: Efecto de las dietas preparto sobre la composición nutricional, variables físico-químicas y RCS del calostro. (*): Error estándar de la media.

	CO (Control – festuca)		L (Lino – esparceta)		P
	Media	EEM*	Media	EEM*	
Volumen (ml)	1410	191	1501	232	0,814
Densidad (g/l)	1041	1,86	1042	2,19	0,323
pH	6,47	0,10	6,40	0,08	0,527
Grasa (%)	11,99	1,24	11,82	0,97	0,085
Proteína (%)	14,44	0,97	12,22	0,88	0,148
Lactosa (%)	3,12	0,21	3,33	0,24	0,416
Cenizas (%)	0,96	0,04	1,00	0,03	0,628
Extracto Seco (%)	32,26	1,91	27,43	1,74	0,115
RCS (x 10 ³ cél/ml)	410,7	153,8	486,7	204,1	0,548

La dieta L modificó el perfil de la grasa del calostro respecto la CO. Los cambios más significativos se detectaron en la composición de AGPI, en el total de AGPI-n3 y en el total de isómeros trans (t) de ácidos grasos mono-insaturados (AGMI; Tabla 2). La dieta L incrementó la concentración de ácido vacénico (11t-C:18:1 (n7)) en un 103,9%, de α -linolénico (C18:3(n3)) en un 101,3%, de ácido linoleico conjugado (CLA) en un 54,7%, y de los AGPI- ω -3 en un 56,9%. La dieta preparto sólo afectó a la concentración de ácidos grasos saturados (AGS) en el caso de los ácidos láurico (C12:0) y pentadecílico (C15:0).

Tabla 2: Efecto de las dietas preparto en la composición de ácidos grasos de la grasa del calostro. (*): Error estándar de la media.

Ácido graso (mg/g grasa)	CO	L	EEM*	P	Ácido graso (mg/g grasa)	CO	L	EEM*	P
AGI	446,8	489,3	17,5	0,190	C12:0	12,9	16,0	0,9	0,050
AGMI	285,0	277,4	13,2	0,235	C15:0	3,2	4,9	0,5	0,035
AGMI-t	27,1	42,4	2,9	0,041	11t-C:18:1 (n7)	12,5	25,4	2,0	0,007
AGMI-c	265,8	222,3	17,0	0,014	C18:3 (n3)	4,9	9,8	0,7	0,010
AGPI	39,5	52,0	2,5	0,008	9c11t-CLA	8,6	13,2	0,9	0,008
AGPI- ω -3	10,3	16,1	0,6	0,004					

La calidad inmunológica del calostro, asociada a la concentración de IgG, no varió según la dieta preparto (Tabla 3). Según la escala de calidades del calostro (Suraya y Yaakub, 2011), la calidad del calostro de ovino latxo es media (concentración de IgG entre 22 y 50 g/l). La EAA de IgG hasta las 48 h no se vio afectada por ninguno de los efectos testados.

Tabla 3: Efecto de las dietas parto sobre la calidad inmunológica y la EAA de IgG (media \pm error estándar).

	CO (Control – festuca)	L (Lino – esparceta)	P
Grados Brix (%)	22,99 \pm 0,76	22,57 \pm 0,79	0,711
IgG (mg/ml)	39,88 \pm 2,57	40,54 \pm 3,70	0,516
EAA (%)	15,7 \pm 3,28	17,3 \pm 3,38	0,772

Sin embargo, la evolución de la concentración sérica de IgG en corderos hasta los 21 d de vida tendió a interactuar con la dieta materna parto ($P=0,055$), tendiendo en corderos L a ser más elevada a los 21 d que en los CO.

En conclusión, es posible modificar la composición de la grasa del calostro con la dieta parto, aumentando la cantidad de ácidos grasos esenciales que pueden ser transferidos al cordero. La suplementación de la dieta parto con ácidos grasos poli-insaturados ricos en omega-3 no influye en la calidad inmunológica del calostro de ovino latxo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, A.C., Alves, N.G, Ascari, I-J., Junqueira, F.B., Coutinho, S., Lima, R.R., Pérez, J, R, O., De Paula, S.O., Furusho-Garcia, I.F., Abreu, L.R. 2015. Am. Dairy. Sci. Assoc. 98: 3706-3716.
- Castro N., Capote J., Bruckmaier, R.M., Argüello, A. 2011. J. Appl. Anim. Res. 39: 85-93.
- Garcia, M., Greco L. F., Favoreto M. G., Marsola R. S., Martins L. T., Bisinotto R. S., Shin H, Lock A. L., Block E., Thatcher W. W., Santos J. E. P., Staples C. R. 2014. J. Dairy Sci. 97:5045-5064.
- Gonzalo, C., Linage, B., Carriedo, J.A., de la Fuente, F., San Primitivo, F. 2006. Am. Dairy Sci. Assoc. 89: 4613-4619.
- Hernández-Castellano L.E., Suárez-Trujillo, A., Martell-Jaizme, D., Cugno, G., Argüello A., Castro, N. 2015. Animal 10: 1672-1679.
- Hubert L.E. & Moisa, S.J. 2016, J Dairy Sci. 99:3199-3126.
- Kramer J.K.G., Blackadar, C. B., and Zhou, J.2002. Lipids 37(8): 823–835.
- Suraya y Yaakub, 2011. J Animal Sci. 14: 25-29.
- Vasta, V.,Makkar, H.P.S., Mele, M., Priolo, A. 2009. British J. Nut. 102: 82-92.

Agradecimientos: Al Departamento de Desarrollo Económico e Infraestructuras del Gobierno Vasco (iniciativa de uso racional de antibióticos en ganadería). A Nerea Mandaluniz, Juan Carlos Ochoa de Zuazola, M^a Ángeles Cuesta y Ekaitz Ibarrodo.

EFFECT OF PREPARTUM DIET SUPPLEMENTATION WITH POLIUNSATURATED FATTY ACIDS ON COLOSTRUM QUALITY OF LATXA EWES AND PASSIVE TRANSFER OF IMMUNITY TO LAMBS

ABSTRACT: to assess the effect of prepartum PUFA-omega-3 supplementation on colostrum, its composition, quality, and passive transfer immunity to lambs were determined. Colostrum was collected right after birth from 20 Latxa ewes from a batch of 48 ewes split into 2 groups with different diets during 5 weeks pre-lambing (CO: 500 g control feed/ 1kg corn silage/ *Festuca pratensis ad lib* per ewe and day; L: 500 g of feed rich in PUFA-omega-3/ 1kg corn silage/ *Onobrychis viciifolia ad lib* per ewe and day), and physico-chemical and fatty acid composition, and IgG concentration were analysed. The 20 lambs were fed with the corresponding colostrum (10% BW) up to 18 h postpartum, and serum IgG concentration and apparent efficiency of absorption (AEA) monitored until 21 d of age. Colostrum fat content tended to be lower in L diets ($P=0.085$), but concentration of biologically relevant fatty acids was higher in L diets ($P<0.05$). Colostrum IgG concentration and AEA until 48 h were not affected by prepartum diet, but lamb serum IgG concentration of L lambs tended to be higher at 21 d of age with respect to CO lambs ($P=0.055$). Therefore, it is possible to modify fatty acid colostrum composition of Latxa sheep with prepartum diets, although this does not appear to affect colostrum immune quality as measured by IgG concentration.

Keywords: colostrum, immunology, PUFA, passive transfer.

LA DIETA PREPARTO AFECTA AL COMPORTAMIENTO Y LA RESPUESTA INFLAMATORIA DE LOS CORDEROS TRAS UN PERIODO DE MANEJO AVERSIVO POSTDESTETE

Averós¹, X., Beltrán de Heredia¹, I., Granado¹, I., Arranz¹, J., García-Rodríguez¹, A., Ruiz¹, R., Elguezábal², N., Atxaerandio¹, R.

¹Departamento de Producción Animal, Neiker-Tecnalia. Arkaute (Álava-Araba).

²Departamento de Sanidad Animal, Neiker-Tecnalia. Derio (Bizkaia);

xaveros@neiker.eus

INTRODUCCIÓN

La suplementación con ácidos grasos funcionales, como los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) ricos en omega-3 (ω -3), beneficia el estatus inmunitario de la oveja gestante debido a sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes e inmunomoduladores (Caroprese et al., 2015). Dichos beneficios pueden potenciarse mediante estrategias nutricionales, a través del uso de forrajes ricos en taninos, que contribuyen a mitigar la biohidrogenación ruminal (Vasta et al., 2009), y se transfieren al cordero a través de modificaciones del perfil de ácidos grasos y composición del calostro (Wathes et al., 2007). Dadas las interacciones ecosistema intestinal, funcionalidad del sistema inmune y respuesta al estrés, es probable que la suplementación de la oveja gestante con PUFA ω -3 y combinada con una fuente de taninos también beneficie la salud y bienestar de la descendencia, y que dichos efectos se mantengan en el tiempo (Cryan y Dinan, 2012). En este sentido, las estrategias de nutrición son una medida de mejora continua del bienestar, promoviendo la resiliencia y la capacidad adaptativa de los animales frente a los retos a los que se enfrentan (infecciones y enfermedades). En el contexto del uso racional de medicamentos, se precisa profundizar en el diseño de alternativas de manejo que promuevan una mayor resiliencia de los corderos a los retos impuestos por los sistemas de producción. El objetivo de este estudio fue determinar los efectos de la suplementación durante el último tercio de gestación con PUFA- ω -3, combinada con un forraje rico en taninos, sobre el comportamiento y la respuesta inflamatoria de corderos sometidos a un periodo de manejo aversivo postdestete (modelo de estrés teórico).

MATERIAL Y MÉTODOS

Trabajo evaluado por el OEBA-CE Neiker (2017-007). Se aplicaron 2 dietas a 48 ovejas Latxa multíparas (24 ovejas/dieta, 2 réplicas/dieta) durante las últimas 5 semanas de gestación: control (CO; 450 g MS de pienso control + 1 kg MF de silo de maíz/día y oveja y heno de festuca (*Festuca pratensis ad libitum*), y suplementada con lino (L; 450 g MS de pienso rico en PUFA- ω -3 (Valorlex®, Francia) + 1 kg MF de silo de maíz/día y oveja y heno de esparceta (*Onobrychis viciifolia ad libitum*). Se monitorizaron 20 partos para seleccionar 20 corderos (10 de cada sexo), que se pesaron, identificaron, encalostraron a biberón (10% de su PV) durante las primeras 18 h de vida, y alojaron en 2 recintos experimentales (número de corderos/tratamiento equilibrado por recinto). Tras el encalostrado los corderos se alimentaron con leche artificial y pesaron semanalmente. A los 35 días del último parto monitorizado (PV=17,0 \pm 0,4 kg), los corderos se destetaron y pasaron a alimentación sólida. Tras 5 días de adaptación los corderos se pesaron y se sometieron a un periodo de manejo aversivo (PMA) de 12 d, consistente en 2 inmovilizaciones diarias de 30 min (Destrez et al., 2013). Los corderos se pesaron a los 6 y 12 d del inicio del PMA y se extrajo una muestra de sangre con EDTA al inicio y final del mismo. Finalizado el PMA, el comportamiento de los corderos se estudió mediante test de aislamiento social y de motivación social (Averós et al., 2015), y después se les sometió a un reto inflamatorio (RI) mediante inoculación intradérmica en la zona escapular de 1 ml de fitohemaglutinina (PHA; Sigma-Aldrich, Madrid) 1mg/ml; Marini et al., 2015). Se midieron el grosor (pie de rey) y temperatura (medidor láser) cutáneos pre-RI, y las mediciones se repitieron a las 24, 48 y 72 h post-RI. De cada cordero se obtuvo una muestra de sangre con EDTA después de los tests de comportamiento, y a las 24, 48, y 72 h post-RI con PHA. Dichas muestras se centrifugaron (2000 g, 10 min), y el plasma se conservó a -80°C hasta su análisis. De todas las muestras de plasma se determinó la concentración de cortisol, y de las muestras 24, 48 y 72 h post-RI también se determinó la concentración de interleucina (IL)-2. Ambas concentraciones se determinaron mediante kits ELISA comerciales (Cusabio, TX, USA).

Los datos se analizaron con modelos lineales mixtos generalizados. El PV de los corderos durante el PMA se analizó con medidas repetidas, con el PV al nacimiento como covariable; duración de la gestación (d), tipo de parto (simple/múltiple), sexo (macho/hembra), dieta (CO/L), día, e interacciones dobles entre sexo, tratamiento y día como efectos fijos; y recinto como efecto aleatorio. El cortisol plasmático durante el PMA se analizó con medidas repetidas, con sexo, tratamiento, día, e interacciones dobles como efectos fijos, y recinto como efecto aleatorio. El comportamiento durante los test se analizó con sexo, tratamiento e interacción como efectos fijos, y fecha de test, grupo de test, y recinto como efectos aleatorios. El cortisol plasmático al final de los test se analizó con la concentración pre-test como covariable, sexo, tratamiento, e interacción como efectos fijos, y recinto como efecto aleatorio. El grosor y temperatura cutánea, cortisol e IL-2 plasmáticos durante RI se analizaron con medidas repetidas. Los valores pre-RI se usaron como covariable; sexo, tratamiento, tiempo, e interacciones dobles como efectos fijos; y recinto como efecto aleatorio. Los análisis se realizaron con el PROC GLIMMIX (SAS 9.4, Cary, NC, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El PV al final del PMA se vio afectado por dieta×sexo, con corderos CO no mostrando un efecto del sexo, y L mostrando un PV superior en machos respecto de hembras (20,0±1,0 y 17,7±0,9 kg respectivamente; P=0,026). Aunque los corderos L partían de valores inferiores, se observó una tendencia, en éstos, hacia valores de cortisol más elevados al final del PMA respecto de los valores iniciales (178,9±25,2 y 124,0±17,2 ng/ml respectivamente; P=0,080) que no se observó en corderos CO (160,4±19,7 y 159,9±19,6 ng/ml respectivamente). Durante el test de aislamiento social, los corderos L tendieron a mostrarse inactivos con menos frecuencia que los CO (44,2±8,7 % y 53,4±8,8 % respectivamente; P=0,058), y a vocalizar más (75,7±6,4 y 68,6±6,0 vocalizaciones para L y CO respectivamente; P = 0,096). Los machos intentaron escapar más frecuentemente que las hembras (19,4±7,7 % y 7,5±3,6 % respectivamente; P=0,002), las trayectorias de sus desplazamientos fueron menos tortuosas (dispersión angular de 0,37±0,03 y 0,29±0,02 para machos y hembras respectivamente; P=0,034), y tendieron a vocalizar más (76,1±6,5 y 68,2±5,8 vocalizaciones para machos y hembras respectivamente; P=0,064). Durante el test de motivación social, los corderos L interaccionaron con sus compañeros más frecuentemente que los CO (39,9±10,0 % y 24,3±7,8 % respectivamente; P=0,002), y tendieron a mantenerse de pie inactivos menos frecuentemente que los CO (41,8±8,7 % y 51,1±9,0 % respectivamente; P=0,058). Las trayectorias de los movimientos tendieron a ser menos tortuosas en corderos L respecto de los CO (dispersión angular 0,32±0,03 y 0,24± 0,02 respectivamente; P=0,051). Los machos tendieron a vocalizar menos que las hembras (11,3±2,3 y 14,5±2,8 vocalizaciones; P=0,079). La latencia de llegada a los otros corderos tendió a verse afectado por dieta×sexo (Tabla 1), de manera que, dentro de L, los machos tendieron a tardar menos tiempo que las hembras. Dicha interacción afectó al porcentaje de tiempo pasado en la región contigua a sus compañeros, con las dietas L acentuando el tiempo pasado por las hembras respecto de los machos. Las excreciones totales también se vieron afectadas por dicha interacción, siendo el número de excreciones totales en corderos L inferior al de corderos CO sólo en hembras. Los valores de cortisol de los corderos inmediatamente después de los test no se vieron afectados por la dieta (P=0,801) ni por el sexo (P=0,999).

Tabla 1. Variables para las que la interacción dieta×sexo fue significativa (P<0,05) o mostró tendencia (P<0,10) durante el test de motivación social.

	CO (Control – festuca)		L (Lino – esparceta)		P
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	
Latencia llegada corderos (s)	2,4±0,5	2,2±0,4	1,5±0,3	4,2±1,2	0,090
Tiempo cerca corderos (%)	85,3±10,2 ^c	92,1±5,9 ^b	89,6±7,6 ^{bc}	98,4±1,3 ^a	<0,001
Excreciones totales (n)	0,03±0,27 ^{ab}	0,77±0,27 ^a	0,25±0,28 ^{ab}	0,00±0,27 ^b	0,022

Dentro de una fila, los valores medios con distinto superíndice indican diferencias significativas (p<0,05).

Durante RI, el grosor y la temperatura cutáneas variaron significativamente (P<0,001 y P=0,038, respectivamente), con los valores disminuyendo significativamente a las 72 h post-RI respecto a las 24 y 48 h (0,97±0,04, 0,89±0,03 y 0,75±0,02 cm a las 24, 48 y 72 h,

respectivamente de grosor cutáneo; $32,6 \pm 0,3$, $32,4 \pm 0,3$ y $32,0 \pm 0,3$ °C a las 24, 48 y 72 h respectivamente, de temperatura cutánea). La dieta no afectó a los valores del grosor de piel y de temperatura cutánea ($P=0,523$ y $P=0,823$, respectivamente). Los valores de cortisol durante RI fueron superiores en corderos CO respecto de L ($P=0,034$; Tabla 2), y variaron de manera significativa durante RI, siendo máximos a las 24 h ($98,6 \pm 11,4$ ng/ml), y disminuyendo de manera gradual a las 48 y 72 h ($72,8 \pm 10,5$ y $65,8 \pm 10,5$ ng/ml respectivamente; $P=0,034$). Los valores de IL-2 durante RI fueron significativamente superiores en corderos L respecto a CO (Tabla 2), con la diferencia entre dietas tendiendo a ser más marcada en machos que en hembras ($51,1 \pm 0,1$ y $51,7 \pm 0,5$ pg/ml para machos y hembras CO, y $55,8 \pm 2,1$ y $52,4 \pm 0,6$ pg/ml para machos y hembras L; $P=0,051$).

Tabla 2. Concentraciones plasmáticas medias de cortisol e IL-2 durante el reto inflamatorio (RI) según la dieta preparto.

	CO (Control – festuca)	L (Lino – esparceta)	P
Cortisol (ng/ml)	$83,2 \pm 10,1$	$74,9 \pm 8,0$	0,034
IL-2 (pg/ml)	$51,4 \pm 0,2$	$53,8 \pm 0,9$	0,003

En conclusión, la dieta preparto afectó al comportamiento y la respuesta inmune de los corderos sometidos a un manejo aversivo tras el destete, observándose que dichas respuestas fueron moduladas por el sexo de los corderos. Los datos son prometedores aunque sería necesaria una caracterización más detallada de la respuesta inmune para poder concluir sobre el efecto beneficioso de la modulación de la respuesta inmune debida a la dieta rica en PUFA – $\omega 3$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Averós, X., Marchewka, J., Beltrán de Heredia, I., Zanella, A.J., Ruiz, R., Estevez, I. 2015. Appl. Anim. Behav. Sci. 163: 98-109.
- Caroprese, M., Giannenas, I., Fthenakis, G.C., 2015. Vet. Microbiol. 181: 8-14.
- Cryan, J.F., Dinan, T.G. 2012. Nature Rev. Neurosci. 13: 701-712.
- Destrez, A., Deiss, V., Leterrier, C., Boivin, X., Boissy, A. 2013. Animal 7: 476-484.
- Marini, D., Pippia, J., Colditz, I.G., Hinch, G., Petherick, J.C., Lee, C. 2015. Aust. Vet. J. 93: 265-270.
- Vasta, V., Makkar, H.P.S., Mele, M., Priolo, A. 2009. British J. Nut. 102: 82-92.
- Wathes, D.C., Abayasekara, D.R.E., Aitken, R.J. 2007. Biol. Reprod. 77: 190–201.

Agradecimientos: Departamento de Desarrollo Económico e Infraestructuras del Gobierno Vasco (iniciativa de uso racional de antibióticos en ganadería). A Nerea Mandaluniz, Juan Carlos Ochoa de Zuazola, M^a Ángeles Cuesta y Ekaitz Ibarrondo.

PREPARTUM DIET AFFECTS THE BEHAVIOUR AND INFLAMMATORY RESPONSE OF LAMBS SUBJECTED TO AN AVERSIVE HANDLING PROCEDURE POST-WEANING

ABSTRACT: to determine the effects of pre-natal PUFA-omega-3 supplementation on behaviour and inflammatory response of lambs subjected to aversive handling (AHP) after weaning, 20 lambs, born from 48 Latxa ewes subjected to 2 treatments during 5 weeks pre-lambing (CO: 500 g control feed/ewe and day; L: 500 g of feed rich in PUFA-omega-3/ewe and day), were fed with corresponding colostrum (10% BW) and separated from mothers. Lambs were weaned at $17,0 \pm 0,4$ kg, and subjected to AHP (immobilization during 30-min, twice per day) during 12 days. Lambs were then subjected to 2 behavioural tests and to a PHA, inflammatory challenge (IC). BW after AHP was affected by treatment*sex, L males being heavier than L females ($P=0,026$). During social motivation tests, latency to get to other lambs tended to be shorter in L males regarding L females ($P=0,090$). Treatment*sex affected the time spent close to other lambs with L females spending particularly longer than CO females ($P<0,001$). CO females excreted more than L females ($P=0,022$). During IC, cortisol was higher in CO lambs ($P=0,034$), while IL-2 was higher in L lambs ($P=0,030$). Prepartum supplementation affected the behaviour and inflammatory response of lambs subjected to aversive handling after weaning, although sex modulated this effect.

Keywords: lamb, resilience, welfare, immune system.

EVALUACIÓN DE LA COJERA EN DIEZ EXPLOTACIONES DE VACAS LECHERAS DE LA REGION NORTE DE PORTUGAL

Cerqueira, J.O.L.^{1,2}, Pereira, D.R.G.¹, Pereira, A.R.³, Blanco-Penedo, I.⁴, Cantalapiedra J.⁵, Fernandez, E.M.R.⁶; Araújo, J.P.^{1,7}

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

² Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal.

³SEGALAB, Lugar de Cassapos, 4490-258 Argivai - Póvoa de Varzim, Portugal

⁴Departamento de Ciências Clínicas - Universidad de Ciencias Agrarias, Suecia

⁵Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España.

⁶Escuela Politécnica Superior de Ingeniería. Univ. Santiago de Compostela, España.

⁷Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo, Portugal.

INTRODUCCIÓN

Se entiende por cojera una modificación de la marcha, debiendo esta ser considerada como una enfermedad, pero también como un indicador de desorden estructural o funcional que afecta a una o más extremidades o incluso a la columna vertebral y que se hace evidente cuando el animal se levanta, se tumba o mueve (EFSA, 2009). La mayoría de las cojeras tienen su origen en lesiones del casco, siendo la pezuña lateral de los miembros posteriores la más afectada (Magnusson y Nilsson, 2009). La gravedad de las cojeras en las explotaciones puede evaluarse a través de varios criterios tales como la prevalencia, incidencia, duración y la severidad de la misma (Whay *et al.*, 2003). Actualmente constituye uno de los problemas de salud, económicos y de bienestar con más impacto en las explotaciones lecheras, causando una reducción en la producción, confort del animal y eficiencia reproductiva, originando igualmente pérdidas económicas (Thomsen *et al.*, 2008). Las cojeras son la tercera causa de pérdidas económicas de una explotación y la principal causa de problemas en lo que se refiere al bienestar animal (Kossaibati y Esslemont, 1997). La detección precoz mediante la evaluación de la locomoción, es crucial para reducir las pérdidas de producción, minimizar los costos de tratamiento y posibilitar la recuperación de los animales afectados, pero también para mejorar el bienestar del rebaño, permitiendo así identificar las cojeras en los animales en su fase inicial. Este estudio tiene como objetivo evaluar la incidencia de cojera en las explotaciones lecheras en el norte de Portugal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en 10 granjas en la región lechera del norte de Portugal, entre enero y mayo de 2018, a través de tres visitas a cada granja con un intervalo de dos meses entre cada visita. Se evaluaron 1410 animales, con distribución homogénea para el número de lactaciones, siguiendo la metodología de Sprecher *et al.* (1997), que emplea índices de cojera, clasificando la marcha con una escala de 1 a 5 puntos. Las clasificaciones 4 y 5 son típicamente identificadas como clínicamente claudicantes, debido a la marcha alterada de los animales. El índice 3 corresponde a un estadio intermedio, sin embargo, el animal presenta una postura y marcha anormales. Las puntuaciones 1 y 2 incluyen animales con movimiento normal (1), o ligeramente lateralizado (2). El tratamiento estadístico de los datos se realizó utilizando Excel 2010 (Microsoft) y SPSS para Windows versión 22 (SPSS. Inc.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayoría de las explotaciones se caracterizan por un índice de cojera ≤ 2 , es decir, los animales tienen una locomoción normal o en algunos casos irregulares. En la explotación 2, cerca del 68,4% de los animales se encuentran con problemas de locomoción, registrando índices de cojera leves y graves. También la explotación 8 evidenció altos niveles de cojera, con el 46,2% de los animales con problemas de locomoción (Figura 1). Las diferencias entre explotaciones se deben a las características del piso, de los cubículos, de la frecuencia de corte de las pezuñas y del manejo de las vacas. En cuanto a los resultados obtenidos en la distribución de los animales por categoría de cojera en función del orden de lactancia, estos se caracterizan por una primera lactación con 20,5% de los animales presentando cojeras, frente a un 43% de cojeras en animales en cuarta o más lactaciones (Figura 2). En la relación estudiada entre la puntuación de cojera y lesiones en el corvejón en cada vaca

observada para la cojera, la tendencia reveló una puntuación de lesión en el corvejón de 2, observándose diferencias significativas ($P < 0,05$) entre la puntuación 1 ((1,26), la puntuación 2 (1,69), y para las puntuaciones 3 y 4 (2,34 y 2,52 respectivamente). En la puntuación 3 y 4, no se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$). Es decir, las vacas cojas evidenciaron mayor grado de lesiones en el corvejón con respecto a los animales sanos (Tabla 1). En relación al índice de cojera, Booth *et al.* (2004) señalan que la tasa de incidencia anual de cojera varía entre el 4 y 56% en las vacas adultas, en función de la explotación, del lugar y del año del estudio. Así, las consecuencias negativas esperadas de las cojeras se reflejan en la reducción de la producción de leche, la fertilidad, la condición corporal, las visitas al sistema voluntario de ordeño, la longevidad y el aumento de la tasa de rechazo. Otros factores asociados a las cojeras responsables del descenso del bienestar y de la producción animal, son la permanencia prolongada de los animales acostados en los cubículos, la disminución del tiempo de locomoción, los cambios del comportamiento alimentario y, a veces, la forma incorrecta de la postura de decúbito del animal (EFSA, 2009). A semejanza de lo mencionado por Manske *et al.* (2002) y por Olechnowicz *et al.* (2010) también en este estudio se observó que el grado de cojera aumenta con el incremento de las lactaciones y por lo tanto con el transcurso de la edad, duplicando la puntuación en los animales con cuatro o más lactaciones respecto a los de primera lactancia. La cojera estuvo significativamente asociada con el grado de lesiones en el corvejón ($P < 0,05$), significando que las vacas claudicantes simultáneamente revelaron lesiones en el corvejón. Esta es una situación preocupante, en la medida en que, además de perjudicar el confort y el bienestar a los animales, es un factor de riesgo para la aparición de lesiones podales, porque las lesiones en el corvejón son una condición dolorosa para el animal que conduce a que éste permanezca más tiempo de pie. La evaluación del corvejón es también muy importante, porque nos permite averiguar de forma indirecta, si la cama de los animales tiene material de cobertura suficiente, fundamental para evitar lesiones abrasivas (Barker *et al.*, 2007).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barker, Z.E., Amory, J.R., Wright, J.L., Blowey, R.W. e Green, L.E., 2007. Journal of Dairy Science, 90, 3270–3277 pp.
- Booth, C.J., Warnick, L.D., Grohn, Y.T., Maizon, D.O., Guard, C.L. e Janssen, D., 2004. J. Dairy Sci. 87: 4115-4122
- EFSA (European Food Safety Authority), 2009. EFSA Journal 1143: 1-38
- Kossaibati, M., Esslemont, R., 1997. The Veterinary Journal, 154(1), 41-51
- Magnusson, M., Nilsson, C., 2009. Journal of Dairy Science, 92, 2625-2633
- Manske, T., Hultgren, J. e Bergsten, T., 2002. Preventive Veterinary Medicine, 54: 113-129
- Olechnowicz, J., Jaśkowski, J.M., Antosik, P., Bukowska, D. e Urbaniak, K., 2010. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 54: 93-99
- Sprecher, D.J., Hostetter, D.E. e Kaneene, J.B., 1997. Theriogenology, 47: 1179-1187
- Thomsen, P.T., Munksgaard, L. e Togersen, F.A., 2008. J. Dairy Sci. 91: 119-126
- Whay, H.R., Main, D.C.J., Green, L.E., Webster, A.J.F., 2003. Veterinary Record, 153, 197-202.

Agradecimientos: A los productores de leche que participaron en este estudio.

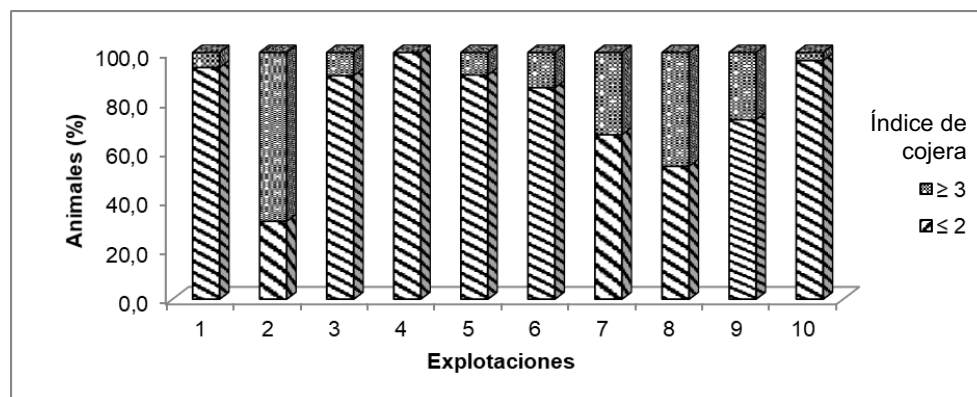


Figura 1. Evaluación del índice de cojera en las 10 explotaciones

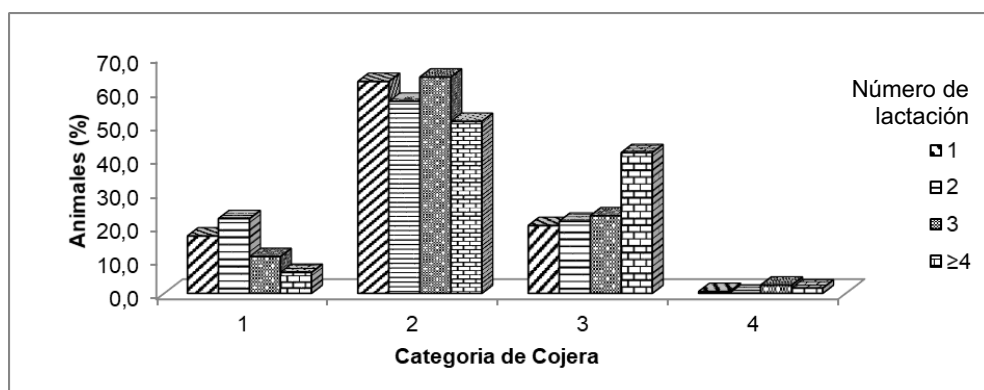


Figura 2. Vacas por categoría de cojera en función de la lactación

Tabla 1. Relación entre la puntuación de cojera y las lesiones en el corvejón

Puntuación	N	Media	DT	CV (%)
1	38	1,26 ^a	0,50	39,92
2	255	1,69 ^b	0,73	43,37
3	156	2,34 ^c	0,92	39,57
4	21	2,52 ^c	0,92	36,83
Sig.		***		
Total	470	1,91	0,87	45,55

Sig.: Nivel de significación; *** P<0,05; NS - no significativo
 En los componentes analizados valores de letra distinta (a≠b≠c) son significativamente diferentes (P<0,05).

LAMENESS EVALUATION IN TEN DAIRY FARMS IN THE NORTHERN REGION OF PORTUGAL

ABSTRACT:

Lameness is an extremely important indicator because it has revealed a health, economic and welfare problem for dairy farms and is currently considered one of the main causes of dairy cow refusal. Lameness is synonymous with a painful condition, particularly at the hind limbs, which affects the freedom of movement and animal behavior. Lameness assessment was performed in a total of 1410 animals from 10 dairy farms that were visited three times from January to May in 2018. The lameness scoring system focuses on the body position and gait of the animal, assigning the respective classification according to the observed locomotion. In this study, the degree of lameness increased with lactation, and a significant (P<0.05) and positive relation between the lameness scores and hock lesions was observed.

Keywords: Dairy cows, Lameness, Hock lesions, Lactation

EVALUACIÓN DE LOS COSTES ECONÓMICOS DE LA CETOSIS SUBCLÍNICA Y SUS ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN EN EL GANADO LECHERO.

Marquès, C., Kbada, A., Castillejos, L. y Calsamiglia, S.

¹Servei de Nutrició i Benestar Animal, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona
sergio.calsamiglia@uab.cat

INTRODUCCIÓN

El período de transición es una etapa crucial del ciclo productivo de las vacas lecheras. Durante este tiempo, una respuesta adaptativa deficiente puede generar un aumento de ácidos grasos no esterificados y β -hydroxybutyrato circulantes en la sangre, provocando trastornos metabólicos y problemas de salud como la cetosis subclínica (CSC), entre otras complicaciones (Walsh et al., 2007). En vacas de alta producción, la incidencia de cetosis subclínica varía entre el 26 y el 60% (Dohoo y Martin, 1984; Seifi et al., 2011). La cetosis es una alteración del funcionamiento del metabolismo energético combinado con una deficiencia de glucosa y un aumento significativo de los cuerpos cetónicos en sangre (Rérat, 2009). Esta se puede clasificar en clínica, cuando transcurre con síntomas; y subclínica, cuando no presenta signos aparentes. La cetosis subclínica provoca pérdidas de la producción de leche, problemas reproductivos, y un mayor riesgo de padecer otras enfermedades como metritis, desplazamiento de abomaso y mamitis (Dohoo y Martin, 1984; Duffield et al., 2009). Todo esto conlleva pérdidas económicas considerables para los productores. Existen estrategias de prevención para reducir el efecto de la cetosis y limitar las pérdidas económicas causadas por esta. Las más utilizadas son la administración de propilenglicol y monensina (Duffield, 2000). Sin embargo, la selección de la estrategia más adecuada tiene que considerar aspectos técnicos y las consecuencias económicas, que con frecuencia son difíciles de valorar. Los modelos de simulación matemática son herramientas útiles en el análisis de las consecuencias técnicas y económicas de decisiones de manejo y gestión en ganaderías (Calsamiglia, et al., 2018).

El objetivo de este estudio fue evaluar las consecuencias técnicas de la cetosis subclínica, su impacto económico en las granjas lecheras, y la rentabilidad de las estrategias de prevención utilizadas en la práctica a través de un modelo matemático de simulación.

MATERIAL Y MÉTODOS

A partir de la literatura actual se valoró que la CSC tiene un rango de incidencia del 26 al 60%, una pérdida de producción de leche del 3 al 11%, una disminución de la fertilidad del 22 al 50%, y un riesgo de padecer desplazamiento de abomaso, cetosis clínica, metritis y de riesgo de sacrificio de 6, 3,6, 2,75 y 3,7 veces más, respectivamente.

La simulación se realizó en una granja tipo de 300 vacas lecheras con una producción de 12.000 L/año en un modelo estocástico dinámico de simulación de granjas lecheras (www.dairyfarm.es; Calsamiglia, et al., 2018). Todas las simulaciones se hicieron para un periodo de 5 años. La tasa de detección de celo se fijó en el 50% y la fertilidad en el 35%, lo que representa el promedio de España. El precio de la leche fue de 0,36 € / L y el precio del alimento fue de 0,20 € / kg MS. El coste de la enfermedad se estimó en base en datos actuales bajo diferentes escenarios. Debido a la variabilidad el impacto de la CSC en la producción de las vacas lecheras se fijaron varios valores de referencia para poderlo simular. Las simulaciones se hicieron con una incidencia del 20, 40 y 60%. La fertilidad se redujo en un 25% y un 50% durante 120 días, y las pérdidas de producción de leche se redujeron un 5% y un 10% durante los 60 días post-parto. La incidencia de CSC fue 60% más baja en vacas primíparas en comparación con las múltiparas. Además, la CSC aumentó el riesgo de sufrir desplazamiento abomaso, cetosis clínica y metritis en 6, 3,6 y 2,75 veces, respectivamente.

Por otro lado, se evaluó la rentabilidad de las estrategias de prevención de la CSC utilizadas en la práctica empleando los datos extraídos de la primera parte. Se usaron 2 estrategias diferentes, el propilenglicol (PG) y la monensina (MON). En el tratamiento de PG se redujo la incidencia de la CSC un 47% (McArt et al. 2014) al administrar una dosis de 300 g durante 5

días postparto a todas las vacas con un coste total de 12 €. En el tratamiento MON se redujo la incidencia de la CSC un 60% al administrar un bolo de MON con un coste de 30 € por tratamiento.

Con el fin de estimar los efectos y la rentabilidad de PG y MON en la prevención de CSC, se realizaron 4 simulaciones: la primera de control, sin incidencia de CSC; la segunda con CSC pero sin tratamiento, con una incidencia del 40%, un 10% de pérdida de producción de leche y un 50% de disminución de la reproducción; la tercera con CSC y el efecto preventivo del PG; y la cuarta con CSC y el efecto preventivo de la MON.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El coste promedio de la CSC se estimó en 339€ por caso, con una pequeña diferencia entre las incidencias analizadas, siendo 346, 338 y 334 € el promedio por caso para las incidencias de 20, 40 y 60%, respectivamente (Tabla 1). Este rango de costes es algo mayor al encontrado McArt et al. (2015) utilizando un modelo económico determinista con un promedio de 289 € por caso, debido a que sólo valoró los costes atribuibles a las pérdidas de producción durante los primeros 30 días de lactación y en este estudio se valoran los primeros 60 días de lactación.

El resultado económico, además, demuestra que la mayor parte del coste económico depende de las pérdidas de producción de la leche, siendo el impacto económico del efecto sobre la reproducción mucho menor.

Tabla 1. Coste de cetosis subclínica con diferentes escenarios de incidencias (0, 25, 40 o 60%), pérdidas de producción de leche (5% o 10% durante 60 días) y pérdidas de fertilidad (25% o 50% durante 120 días).

Simulación	I20		I20		I40		I40		I60		I60		
	I ¹ 0	P ² 25	P5	P10	P10	P5	P5	P10	P10	P5	P5	P10	P10
Variables	F ³ 25	F50	F25	F50	F25	F50	F25	F50	F25	F50	F25	F50	F50
Pérdidas de leche (x1000L)	-	12	12	25	25	23	22	47	46	31	31	65	63
Días abiertos (d)	-	+2	+9	+4	+8	+8	+17	+8	+16	+13	+22	+12	+22
Pérdidas ajustadas por vaca y año (€)	-	84	85	89	95	131	145	169	171	183	195	233	231
Coste por caso/año (€)		323	354	342	365	291	322	367	372	277	315	370	373

¹Tasa de incidencia de cetosis subclínica (I)

²Pérdida de producción de leche (P)

³Pérdida de fertilidad (F)

Tabla 2. Resultado de la simulación de las dos estrategias de prevención (PG o MON) para la CSC para evaluar la rentabilidad de estos tratamientos.

Variables	Simulación ¹			
	Control	CSC	CSC + PG	CSC + MON
Perdidas de Leche con cetosis (x1000L)	15	61	41	33
Días abiertos	-	16	9	7
Pérdidas ajustadas a vaca y año (€)	-	171	108	138
Beneficio económico vaca y año (€)	-	-	63	33
%€ tratamiento disminuye	-	-	37	19

¹Control: sin efecto de CSC, CSC: con efecto de CSC y sin tratamiento, CSC + PG: con tratamiento con propilenglicol (PG), CSC + MON: con tratamiento con monensina (MON).

El análisis de coste-beneficio en la prevención de la CSC se han incluido los costes asociados con la mano de obra para tratar vacas, el medicamento (PG o MON) y la disminución de la incidencia de la enfermedad de las vacas tratadas en comparación con las

vacas no tratadas. La MON fue más efectiva y redujo más las pérdidas de leche y los días abiertos que el PG. Sin embargo, la evaluación económica (Tabla 2) demuestra que en los diferentes escenarios, el PG (63€) es más rentable que la MON (33€), debido principalmente al alto coste del tratamiento con MON (30€), aunque ambas estrategias fueron rentables. McArt et al. (2014) demostraron que cuando la incidencia de CSC en el rebaño es superior al 25%, casi cualquier protocolo de diagnóstico y tratamiento era rentable para la granja, y si la incidencia era superior al 50%, era más rentable tratar todas las vacas sin necesidad de hacer un diagnóstico.

En conclusión, la CSC tiene efectos importantes en el rendimiento técnico y económico en vacas lecheras. En las condiciones de simulación con una incidencia del 40%, el PG (63€) y la MON (33€) son estrategias preventivas rentables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Calsamiglia, S. et al, 2018. A stochastic dynamic model of a dairy farm to evaluate the technical and economic performance under different scenarios. *J. Dairy Sci.* 101:7517-7530.
- Dohoo, I. R., 1984. Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. *Can. J. Comp. Med.* 48:1–5.
- Duffield, T. 2000. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16:231–253.
- Duffield, 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. Dairy Sci.* 92:571–580.
- Mc Art, J.A et al, 2014. An economic analysis of hyperketonemia testing and propylene glycol treatment strategies in early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98:170-179.
- Mc Art, J.A et al, 2015. Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: A deterministic estimate of component and total cost per case. *J. Dairy Sci.* 98:2043-2054.
- Rérat, M. 2009. L'acétonémie chez la vache laitière. Fiche technique destinée à la pratique. *ALP.* 31
- Seifi, H. A., 2011. Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *Vet. J.* 188:216-220.
- Walsh, R. B., 2007. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:2788-2796.

EVALUATION OF THE ECONOMIC COSTS OF KETOSIS AND THEIR PREVENTION STRATEGIES IN DAIRY CATTLE

ABSTRACT: Transition diseases result in considerable economic losses for dairy producers. The purpose of this study was to evaluate the technical consequences of subclinical ketosis, their economic impact on dairy farm and the profitability of prevention strategies used in practice. Data from current literature was used to model the incidence (20-40-60%), and the impact on milk production (loss of 5-10%), fertility (decrease of 25-50%), and increased risk of displaced abomasum, clinical ketosis, metritis and the culling risk of 6, 3.6, 2 and 3.7 times, respectively. The impact subclinical ketosis was evaluated using a dairy farm stochastic model (www.dairyfarm.es). The cost per case was 339€ with small difference between incidences, varying from 277€ to 373€. Two prevention strategies were simulated: 1) propylene glycol (PG) with total cost 12€ and 47% reduction of incidence; and 2) monensin (MON) with total cost 30€ and 60% reduction of incidence. With 40% incidence subclinical ketosis, PG (63€) was a more profitable strategy compared with MON (33€).

Keywords: dairy cow, subclinical ketosis, cost

EFICACIA DE *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* SUBSP. *INFANTIS* CECT 7210 Y *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* HN001, OLIGOGALACTOSA Y SU COMBINACIÓN FRENTE A *ESCHERICHIA COLI* ENTEROTOXIGÉNICA (ETEC) F4+ EN UN MODELO DE LECHÓN RECIÉN DESTETADO

Rodríguez-Sorrento¹, A. ¹, Castillejos, L. ¹, Lopez-Colom, P. ¹, Cifuentes-Orjuela, G. ², Rodríguez-Palmero, M. ², Moreno-Muñoz, J.A. ², y Martín-Orúe, S.M. ¹

¹Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain.

*agustina.rodriguez@uab.cat

²Laboratorios Ordesa S. L., Parc Científic de Barcelona, C/Baldiri Reixac 15-21, 08028 Barcelona, Spain.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas en la producción porcina es la aparición de diarreas al destete derivadas del estrés que sufren los animales durante ese periodo (Lallès et al., 2007). Estas diarreas van asociadas comúnmente a la proliferación de *Escherichia coli* enterotoxigénica (Fairbrother et al., 2005). Para su prevención y tratamiento, debido al actual aumento de resistencias bacterianas a los antibióticos, se está intentando reemplazar su uso terapéutico por la administración de otros compuestos entre los que se encuentran los probióticos y prebióticos.

Bifidobacterium longum subsp. *infantis* CECT 7210 es una cepa probiótica con una alta resistencia a las condiciones gastrointestinales y una gran capacidad de adhesión al mucus intestinal, que ha demostrado prevenir la infección por Rotavirus en ratas (Moreno et al., 2011) y reducir la colonización intestinal de ETEC y *Salmonella* en lechones (Barba-Vidal et al., 2017). *Lactobacillus rhamnosus* HN001 ha demostrado modular y potenciar el sistema inmunitario (Good et al., 2014; Sheih et al., 2001). Por otro lado, la administración de galacto-oligosacáridos (GOS) se ha asociado a un incremento del crecimiento de bifidobacterias en humanos (Depeint et al., 2008) y a la inhibición de la adhesión de *Escherichia coli* en cultivos celulares (Shoaf et al., 2006), en adición también a una actividad inmunomoduladora (Vulevic et al., 2015). Teniendo todos estos factores en cuenta, la administración conjunta de las mencionadas cepas probióticas con GOS podría resultar de interés.

El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la eficacia de *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT7210 (Laboratorios Ordesa S.L.) y *Lactobacillus rhamnosus* HN001, un prebiótico basado en GOS, o su combinación simbiótica frente a *Escherichia coli* enterotoxigénica F4+ utilizando un modelo experimental de lechón destetado.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la Universidad Autónoma de Barcelona previa aprobación del Comité de Ética (Nº permiso CEAH2933). Se utilizaron 96 lechones machos de 21 días (5,0±0,51 kg), distribuidos en 32 corrales asignados a 5 tratamientos: control no inoculado (CTR+), control inoculado (CTR-), combinación probiótica (PRO), prebiótico (PRE) y simbiótico (SYN), siendo inoculados estos últimos cuatro grupos. Los animales recibieron la combinación probiótica (10⁹ UFC/animal*día de cada cepa) y el prebiótico (GOS, 5%) en la dieta. Tras una semana de adaptación, los lechones se inocularon oralmente con ETEC F4+ (K88ab, K88ac, LT, STb, EAST1) en una única dosis de 1.2x10¹⁰ UFC, mientras que a los no infectados se les administró caldo estéril (BHI). 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, raspado de mucosa ileal y tejido ileal fijado en formol. Se realizaron recuentos de enterobacterias y coliformes en heces y raspados ileales. En suero se determinaron diferentes biomarcadores de inflamación

(TNF- α (citoquina pro-inflamatoria) y PigMAP (principal proteina de fase aguda en el cerdo) y a nivel ileal diversos parámetros histomorfológicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron diferencias significativas en el consumo de pienso y ganancia de peso diarios entre los distintos tratamientos. Durante el período PI únicamente los animales de los grupos CTR- y SYN mostraron una reducción relevante en ambos parámetros, en comparación a CTR+ (Ganancia media diaria (GMD): 236^a, 201^{ab}, 152^{ab}, 92^b y 118^b g/d, P=0,002; Consumo medio diario (CMD): 308^a, 267^{ab}, 227^{abc}, 165^c y 218^c g/d, P=0,001 para CTR+, PRO, PRE, SYN y CTR- respectivamente). No se observaron diferencias significativas en la consistencia fecal entre los tratamientos desafiados. En relación a los recuentos de enterobacterias y coliformes en heces, se encontraron reducciones a día 8 PI con PRO y SYN, pero no con PRE, en comparación con CTR- (Fig. 1). En raspados ileales, todos los lechones desafiados mostraron valores significativamente más altos que los del CTR+, excepto los del grupo PRO con incrementos no significativos (Fig. 1).

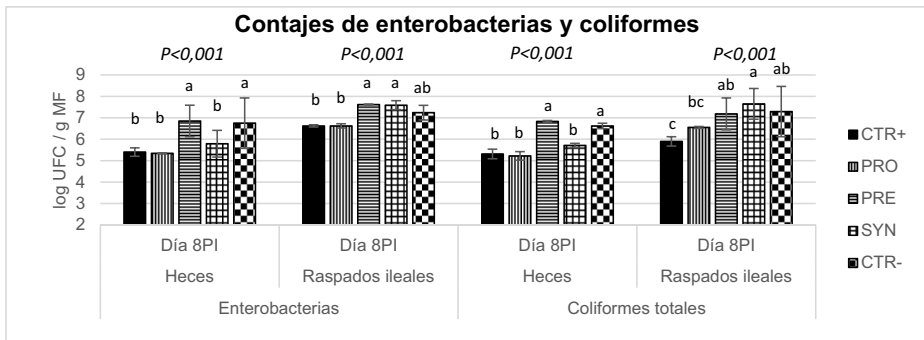


Figura 1. Contajes de enterobacterias y coliformes en heces y raspados ileales (UFC/ g MF). CTR+: Animales no inoculados recibiendo placebo; CTR-: Animales inoculados recibiendo placebo; PRO: Animales inoculados recibiendo probióticos; PRE: Animales inoculados recibiendo prebiótico; SYN: Animales inoculados recibiendo probióticos+prebiótico.

En relación a los cambios histomorfológicos a nivel ileal, a día 4 PI se observó un claro acortamiento de las vellosidades intestinales en los grupos desafiados sin diferencias entre dietas. Sin embargo, a día 8 PI, los animales tratados con PRO mostraron una mejor recuperación de la longitud de las mismas (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos en la histomorfológica ileal 4 y 8 días post-inoculación.

	Tratamiento							P-valor
	Día	CTR +	PRO	PRE	SYN	CTR -	RSD	
Longitud vellosidades (µm)	4	311,7 ^a	241,4 ^b	246,7 ^b	245,2 ^b	220,9 ^b	34,76	<0,001*
	8	336,7 ^a	291,7 ^{ab}	272,1 ^b	269,0 ^b	266,4 ^b	28,59	<0,001*
Profundidad criptas (µm)	4	272,4 ^{ab}	271,9 ^{ab}	282,4 ^a	251,6 ^{ab}	241,8 ^b	22,10	0,020*
	8	271,3	274,0	271,3	250,5	278,3	36,17	0,710

CTR+: Animales no inoculados recibiendo placebo; CTR-: Animales inoculados recibiendo placebo; PRO: Animales inoculados recibiendo probióticos; PRE: Animales inoculados recibiendo prebiótico; SYN: Animales inoculados recibiendo probióticos+prebiótico.

Por último, la combinación simbiótica SYN mostró los valores más altos de TNF- α a día 4 PI (86^{ab}, 98^{ab}, 75^b, 118^a, 77^b mg/ml, P=0,013 para CTR+, PRO, PRE, SYN y CTR- respectivamente) y de PigMAP a día 8 PI (0,51^b, 0,57^b, 0,56^b, 2,43^a, 0,62^b mg/ml, P=0,003 para CTR+, PRO, PRE, SYN y CTR- respectivamente).

En conclusión, estos resultados sugieren que los animales que recibieron en la dieta la combinación probiótica tuvieron una mejor respuesta después del desafío oral con *E. coli* ETEC F4+. Esta mejora podría deberse tanto a una disminución en la colonización intestinal por el patógeno como a una mejor recuperación del daño ocasionado por el mismo, considerando que exclusivamente este tratamiento fue capaz de mantener los números de enterobacterias y coliformes similar al grupo no infectado y de promover una normalización de las vellosidades intestinales. No obstante, la combinación del probiótico con oligo-galactosa (SYN) no mostró estos beneficios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barba-Vidal, E. et al. 2017. *Front Microbiol* 8: 533
- Depeint, F. et al. 2008. *Am. J. Clin. Nutr* 87: 785–791
- Fairbrother, J.M. et al 2005. *Anim Health Res Rev* 6(1):17-39.
- Good, M. et al. 2014. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1;306(11):G1021-32
- Llalès, J.P. et al. 2007. *Livest Sci* 108:82–93
- Moreno, J.A. et al. 2011. *Appl Environ Microbiol.* 77(24):8775-83
- Sheih, Y.H. et al 2001. *J Am Coll Nutr* 20(2 Suppl):149-56
- Shoaf, K. et al. 2006. *Infect Immun* 74(12):6920-8
- Vulevic, J. et al. 2015. *Br. J. Nutr* 114: 586–595

Agradecimientos: El presente trabajo forma parte del proyecto SMARTFOODS Ref. IDI-20141216 (Programa CIEN) concedido por CDTI.

EFFICACY OF *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* SUBSP. *INFANTIS* CECT 7210 AND *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* HN001, OLIGOGALACTOSE AND THEIR COMBINATION AGAINST ENTEROTOXIGENIC *ESCHERICHIA COLI* (ETEC) F4+ IN AN EARLY WEANED PIGLET MODEL

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the efficacy of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT7210 (Laboratorios Ordesa S.L.) and *Lactobacillus rhamnosus* HN001, oligogalactose and their synbiotic combination against a ETEC F4+ challenge in weanlings. A total of 96 3-week-old piglets (5.0 \pm 0.51 kg) were distributed into 32 pens and 5 experimental groups: non-inoculated control (CTR+) and inoculated control (CTR-), probiotic combination (PRO), prebiotic (PRE) and symbiotic (SYN), all last four, orally challenged. Animals received the probiotic (10⁹ CFU/day each strain) and the prebiotic (5%) in the feed. After one week, animals were orally challenged with the pathogen (1.2x10¹⁰ CFU) 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 (for TNF- α & Pig-MAP) and ileal tissues (histomorphology) were taken. Animals receiving PRO performed better and showed lower increments of enterobacteria and coliforms in ileal scrapings after the challenge (P<0.001). Villi height also showed a better recovery with this treatment at day 8PI (P<0.001). The synbiotic combination (SYN) did not show these benefits suggesting that beneficial effects of PRO were lost when combined with oligo-galactose.

Keywords: probiotic, prebiotic, synbiotic, *coli*

ESTUDIO DE LA APTITUD DE *GEOBACILLUS STEAROTHERMOPHILUS* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS Y OTRAS SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS *IN VIVO*

Serrano¹, M. J., Mitjana¹, O., Bonastre¹, C., Laborda¹, A., Abilleira², E., Falceto¹, M. V., Condón¹, S., Pagán¹, R.

1. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (Universidad de Zaragoza – CITA).

2. Laboratorio de Salud Pública del Gobierno Vasco (LSPGV)

mjserran@unizar.es

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, una de las principales preocupaciones en materia de sanidad es el incremento de resistencias a antibióticos detectado en los últimos años (O'Neill, 2014). Al tratarse de un proceso de selección natural, resulta difícil de erradicar, pero un control adecuado del uso de antibióticos favorecería una reducción efectiva del proceso. Este control sería especialmente efectivo en el sector veterinario al tratarse de uno de los principales usuarios de estas sustancias (ECDC, 2017). En esta línea, son numerosos los métodos biológicos desarrollados para la detección de residuos antibióticos en carne, como el test Explorer 2.0, comercializado por la empresa Zeulab S.A. Estos métodos evitan el paso de residuos antibióticos a la cadena alimentaria, pero no evitan pérdidas económicas ligadas a multas y decomiso de canales. La solución pasa por adaptar estos test para su realización *in vivo*, que es el objetivo de este estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Inicialmente, se elaboró un banco de muestras a partir de cerdos (n=50) no tratados y tratados vía intramuscular con oxitetraciclina (ALAMYCIN L.A 300), sulfametoxipiridazina (SULFAMETOX[®]) y amoxicilina (AMOXOIL RETARD[®]). Los animales fueron sacrificados en distintos días del periodo de supresión, siendo el plan experimental aprobado por la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza. El banco de muestras se elaboró a partir de dos réplicas independientes. Las muestras obtenidas fueron preparadas para su análisis con el test Explorer 2.0, basado en la inhibición del crecimiento de *Geobacillus stearothermophilus* en presencia de sustancias antimicrobianas. El crecimiento se monitoriza a través de los cambios de pH asociados a la metabolización de los nutrientes, que dependen a su vez del ritmo de crecimiento y se evidencian por un cambio en la coloración del medio de crecimiento debido a la presencia de púrpura de bromocresol, el cual vira de amarillo a púrpura entre pH 5.2 y 6.8. El test se lee en un incubador que registra los cambios de color, de forma que comparando las curvas correspondientes a animales no tratados y tratados se puede valorar el efecto inhibitorio de la muestra. Paralelamente, estas muestras se enviaron al LSPGV para ser cuantificadas por cromatografía líquida (UPLC-MSMS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis cromatográfico de muestras de músculo obtenidas de distintas partes de animales tratados con oxitetraciclina, sulfametoxipiridazina y amoxicilina muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de las sustancias antimicrobianas detectadas en lomo, paleta o jamón (Figura 1).

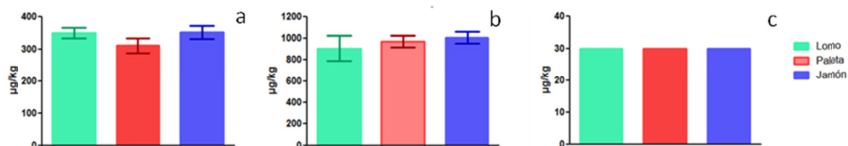


Figura 1. Concentración de sulfametoxipiridazina (2º día supresión) (a); oxitetraciclina (4º día supresión) (b); amoxicilina (3º día supresión) (c) en los tres grupos musculares analizados.

La monitorización del pH que realiza el test Explorer 2.0 permitió evidenciar diferencias en la velocidad de acidificación asociadas al crecimiento de *G. stearothermophilus*, no sólo en

músculo sino también en sangre y orina de cerdo, tanto en el caso de animales no tratados (Figura 2a) como en el de animales tratados (Figura 2b), lo que refleja la aptitud del microorganismo para ser utilizado en la detección de sustancias antimicrobianas en diferentes matrices (Nagel et al., 2012; Berruga et al., 2016).

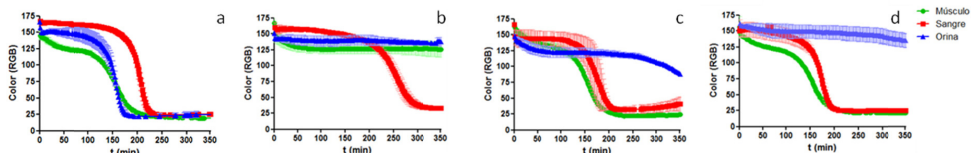


Figura 2. Curvas de acidificación obtenidas tras la aplicación del test Explorer 2.0 en las tres matrices biológicas estudiadas (músculo, sangre, orina) correspondientes a la media y desviación estándar de dos cerdos blancos no tratados (Fig. 2a) y cerdos tratados con sulfametoxipiridazina (Fig. 2b), oxitetraciclina (Fig. 2c) y amoxicilina (Fig. 2d).

Las Figuras 2b, 2c y 2d muestran cómo, para cada medicamento, los cambios de pH asociados al crecimiento de *G. stearothermophilus* en presencia de las diferentes matrices biológicas testadas pusieron de manifiesto una distribución heterogénea entre matrices, presumiblemente ligada a la farmacocinética propia derivada de la metabolización y eliminación del medicamento (Chiesa et al., 2017). Por ejemplo, mientras que en caso de la sulfametoxipiridazina (Figura 2b), las muestras de orina y músculo no permitieron el crecimiento de *G. stearothermophilus* y las de sangre sí, en el caso de los otros dos antibióticos únicamente la orina lo impidió.

La Tabla 1 muestra el primer resultado negativo detectado por el test biológico para cada sustancia antimicrobiana en cada matriz biológica, siendo similar en músculo y sangre, lo que indica que la sangre podría ser una matriz adecuada para desarrollar ensayos *in vivo*. Por su parte, en el caso de la orina, la inhibición en el crecimiento del microorganismo podría estar ligada al pH y complejidad de la matriz.

Tabla 1. Tiempo (días) tras la administración del medicamento necesario para obtener el primer resultado negativo en función de las sustancias antimicrobiana y de la matriz testada.

	Músculo (test)		Sangre (test)		Orina (test)	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Oxitetraciclina	13	13	13	13	20*	20*
Sulfametoxipiridazina	5	4	5	5	5*	5*
Amoxicilina	4	4	4	4	4*	4*

* No se ha obtenido un resultado negativo en las condiciones experimentales testadas, siendo ese valor correspondiente al día en que se ha obtenido el último positivo.

Si se comparan los resultados obtenidos en sangre por el test biológico y cromatografía (Figura 3), se observa cómo la sensibilidad a oxitetraciclina y sulfametoxipiridazina fue similar. Sin embargo, el microorganismo mostró una sensibilidad mayor que la técnica cromatográfica a la hora de detectar la presencia de amoxicilina en sangre, por lo que se requieren nuevos estudios que permitan adaptar el funcionamiento del test para adecuar la detección de este antibiótico a los LMRs establecidos por la legislación.

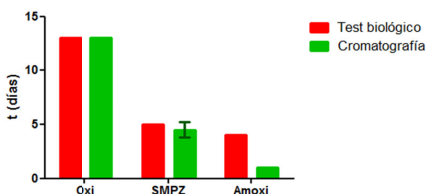


Figura 3. Tiempo (días) necesario para obtener la primera muestra negativa en sangre por el test Explorer 2.0 y cromatografía, tomando como referencia los LMRs (Reg. 37/2010/CE).

Los datos correspondientes a la cuantificación cromatográfica en sangre permitieron calcular el ritmo de eliminación del antibiótico, que siguió una cinética exponencial en todos los casos (Figura 4) (Gehring et al., 2004; Hernández et al., 2005). Sin embargo, el ritmo de eliminación fue diferente para cada antibiótico, siendo la amoxicilina el antibiótico con un mayor ritmo de eliminación, seguido por sulfametoxipiridazina y oxitetraciclina. A pesar de estas diferencias, si se comparan los resultados del test biológico en músculo con el periodo de supresión establecido por las casas comerciales para cada medicamento (Figura 5), se observa cómo una adecuada administración respetando los tiempos de espera sería sinónimo de un uso seguro del antibiótico o sustancia antimicrobiana.

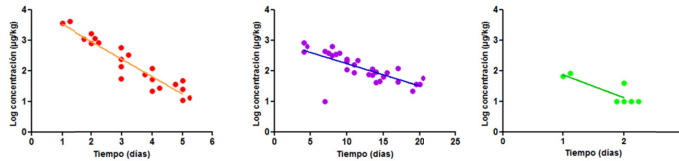


Figura 4. Eliminación de sulfametoxipiridazina (a), oxitetraciclina (b), amoxicilina (c) de la sangre de animales tratados, cuantificado por UPLC-MSMS.

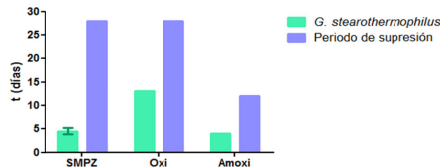


Figura 5. Tiempo (días) necesario para obtener la primera muestra negativa en músculo utilizando el test Explorer 2.0, en comparación con los tiempos de supresión establecidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Berruga, M. I. 2016. Small Rum. Res. 142: 38-43.
- Chiesa, L. M. 2017. Food Chem. 235: 111-118.
- ECDC. 2017. ESAC-Net surveillance data.
- Gehring, R. 2004. J. Food Prot. 67: 555-560.
- Hernandez, E. 2005. Vet. J. 170: 237-242.
- Nagel, O. G. 2012. Small Rum. Res. 102: 26-31.
- O'Neill, J. 2014. Rev. Antimicrob. Resist. 20: 1-16.

Agradecimientos: El proyecto ha sido cofinanciado al 65% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del Programa Interreg V-A España-Francia-Andorra (POCTEFA 2014-2020).

TITLE: STUDY OF THE APTITUDE OF *GEOBACILLUS STEAROTHERMOPHILUS* TO DETECT THE PRESENCE OF ANTIBIOTIC AND ANTIMICROBIAL RESIDUES *IN VIVO*.

ABSTRACT: The current increase on antimicrobial resistance is linked to a misuse of antibiotics and antimicrobial substances. As it is a natural selection process, it can't be completely eradicated, but the implementation of control systems at animal production levels would prevent the entering of antibiotics in the food chain. Biological based control methods are widely spread. These are *post mortem* tests, so their adaptation to live animals would substantially avoid economic losses. This study, carried out on 50 piglets untreated and treated with oxytetracycline, sulfamethoxyipridazine and amoxicillin, showed that besides muscle, the test works with urine and blood. The antibiotic concentration was comparable between muscle groups (loin, sirloin and ham), but not between biological matrixes, identifying small inter-individual variability. Among the matrixes studied, blood showed a similar antibiotic sensitivity to muscle when the test based on *G. stearothermophilus* growth was used. The chromatographic quantification of the antibiotic concentration revealed a different removal rhythm that always followed an exponential kinetic. When comparing the biological test results and the withdrawal periods given for each antibiotic, it was noticed that an appropriate administration is a synonym of a safe use of the antimicrobial substance.

Keywords: antibiotics, meat, biological test, *in vivo*.

EVALUACIÓN DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES OVINAS COMO MODELOS CELULARES IN VITRO DE SCRAPIE

Hernaiz^{1,2}, A., Domínguez-Estallo¹, L., Gómez-Redrado¹, S., López-Pérez^{1,2}, O., García², M., Garza², MC., Vázquez¹, F., Zaragoza¹, P., Badiola², JJ., Bolea², R., Filali¹, H., Martín-Burriel^{1,2}, I.

¹LAGENBIO, IA2, IIS, Universidad de Zaragoza, Zaragoza; ²CIEETE, IA2, IIS, Universidad de Zaragoza, Zaragoza; ahernaiz@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Las células madre mesenquimales (MSCs) son células madre pluripotentes adultas caracterizadas por su capacidad de autorenovación y de diferenciación en células de origen mesodérmico (osteoblastos, adipocitos, condrocitos y miocitos). Estas células también son capaces de diferenciarse *in vitro* en células de origen neurogénico (Zeng et al., 2011; Alizadeh et al., 2019). Por otro lado, las MSCs expresan la proteína príon celular (PrP^C) y las MSCs murinas procedentes de médula ósea (BM-MSCs) son capaces de infectarse con una cepa de Gerstmann-Sträussler-Schneiker previamente adaptada en ratón *ex vivo* y mantener la infectividad en pasajes sucesivos (Akimov et al., 2009). Nuestro grupo de investigación ha descrito la presencia de PrP^C en MSCs ovinas derivadas de médula ósea (oBM-MSCs) tanto a nivel de transcripción como de proteína (Mediano et al., 2015). En ese mismo estudio, las oBM-MSCs derivadas de ovejas con scrapie mostraron un potencial de proliferación disminuido en comparación con las células obtenidas de ovejas sanas. Todos estos hallazgos, hacen de las MSCs unas buenas candidatas para el desarrollo de modelos *in vitro* de enfermedades priónicas. En este trabajo, presentamos el aislamiento de oBM-MSCs procedentes de ovejas con diferentes genotipos para el gen *PRNP* (ARQ/ARQ, ARQ/VRQ y VRQ/VRQ) y la evaluación de: su habilidad para diferenciarse en células madre neurales (NSCs), su capacidad para replicar el príon y su respuesta a la infección *in vitro* con priones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las oBM-MSCs fueron extraídas de tres ovejas de raza *Rasa Aragonesa* de un año de edad portadoras de diferentes genotipos para el gen *PRNP*: ARQ/ARQ, ARQ/VRQ y VRQ/VRQ. El inóculo positivo consistía en un homogeneizado de cerebro (10% en PBS) de tres ovejas de raza *Rasa Aragonesa* de entre 2,5 y 3 años de edad y con los mismos genotipos para *PRNP*. El inóculo negativo procedía de dos ovejas de raza *Rasa Aragonesa* de entre 9 y 10 meses de edad y con genotipos ARQ/ARQ y VRQ/VRQ. El aislamiento de las MSCs se llevó a cabo mediante protocolos de centrifugación en gradientes Lymphoprep, aislamiento de células mononucleares y purificación de células adherentes. Una vez aisladas, dichas células se cultivaron utilizando "DMEM low glucose" (Sigma) con 10% de suero fetal bovino como medio de crecimiento. Para la diferenciación a NSCs, se procedió a cambiar el medio DMEM por el medio de diferenciación "PSC neural induction medium" (ThermoFisher). Se realizaron cambios de medio cada dos días durante un total de 9 días. Se analizó la expresión de cinco genes relacionados con la replicación del príon (Marbiah et al., 2014), tanto en las MSCs como en las NSCs. Para ello, se realizó la extracción de RNA utilizando el kit "Cells to cDNA" (applied biosystems). Posteriormente, para valorar la expresión de los genes se llevó a cabo q-PCR con el sistema StepOne usando "SYBRGreen master mix". Finalmente, ambos tipos celulares fueron infectados con inóculos de extracto cerebral (positivo y negativo) al 1%. Se evaluó la presencia de PrP^{Sc}, una vez eliminado el inóculo y lavado con PBS los cultivos, a las 48 horas (T1), 4 días (T2) y 9 días (T3) de estar en contacto con el inóculo mediante el kit de ELISA "BSE-Scrapie IDEXX". También, se estudió la toxicidad y la proliferación de los cultivos a los 9 días (T3) por medio de un ensayo MTT. Este estudio ha sido aprobado por la Comisión Ética de la Universidad de Zaragoza (PI44/18).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tres cultivos de oBM-MSCs se diferenciaron hacia NSCs. La diferenciación fue comprobada por la reducción de la expresión del gen de pluripotencia *OCT4* y un ligero cambio morfológico de las células (resultados no mostrados). Se observó una disminución de la expresión de los genes relacionados con la replicación del prión en los cultivos de NSCs (condiciones neurogénicas) en comparación con los cultivos de MSCs (condiciones de crecimiento) (Figura 1). La disminución de la expresión de estos genes facilita la replicación del prión (Marbiah et al., 2014) por lo que nuestros resultados sugieren que las MSCs cultivadas en condiciones neurogénicas podrían ser más susceptibles a la infección y multiplicación del prión.

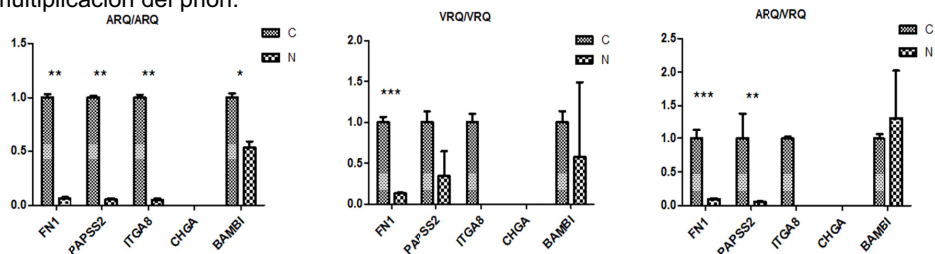


Figura 1. Análisis de la expresión de genes relacionados con la replicación del prión mediante qPCR en MSCs (C) y NSCs (N) en los cultivos. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Tras la inoculación de los cultivos de MSCs y NSCs con el inóculo de scrapie, se observó una disminución de la señal de PrP^{Sc} durante los primeros días y un aumento significativo de la misma tras la retirada del inóculo a partir de los 5 días en el cultivo ARQ/ARQ, tanto en condiciones neurogénicas como de crecimiento. El cultivo VRQ/VRQ mostró, en condiciones de crecimiento, una elevada intensidad de señal de PrP^{Sc} inmediatamente después de la retirada del inóculo. Sin embargo, esta señal fue disminuyendo a lo largo del tiempo de cultivo. Estos resultados sugieren una elevada capacidad para captar el prión por parte de las células y una posible toxicidad del prión en los cultivos infectados. Por último, el cultivo ARQ/VRQ presentó una señal intermedia de PrP^{Sc} tras la retirada del inóculo. Esta señal se mantuvo más o menos constante a lo largo del tiempo en las células en condiciones de crecimiento mientras que en las células en condiciones neurogénicas se vio un incremento progresivo de la misma. Por tanto, las MSCs son capaces de multiplicar el prión durante los primeros días de cultivo, pero esta capacidad podría estar condicionada por su genotipo.

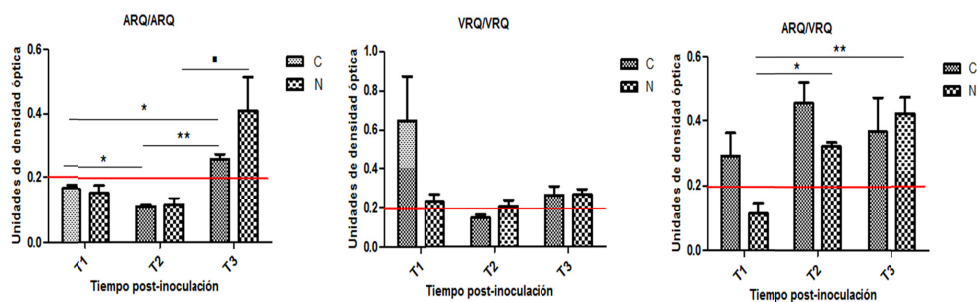


Figura 2. Determinación de PrP^{Sc} mediante ELISA a las 48 horas (T1), 4 días (T2) y 9 días (T3) post-inoculación en MSCs (C) y NSCs (N). La línea roja representa el umbral del kit ELISA. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Finalmente, analizamos la proliferación de las MSCs en condiciones estándar de crecimiento y tras la inoculación con extracto cerebral de ovino control y de ovino con scrapie (Figura 3). En condiciones estándar de crecimiento, los cultivos de MSCs (ARQ/ARQ, VRQ/VRQ y ARQ/VRQ) mostraron diferencias en las tasas de proliferación. La variabilidad entre

donantes ya ha sido descrita en diferentes especies incluida la ovina (Rhodes et al., 2004; Lyahyai et al., 2012). Por otro lado, la inoculación de las células con extracto cerebral modificó las tasas de proliferación en todos los cultivos. En los cultivos inoculados con extracto cerebral de ovino control se observó una disminución de la viabilidad celular, a diferencia de los inoculados con extracto cerebral de ovino con scrapie en los que se produjo un aumento de la tasa de proliferación. Se ha comprobado que las células mesenquimales humanas (hMSCs) son capaces de migrar hacia las lesiones neuropatológicas en ratones infectados con la proteína prión (Song et al., 2009) y, además, han sido identificados *in vitro* factores quimiotácticos involucrados en la migración de hMSCs hacia lesiones cerebrales causadas por priones (Song et al., 2011). Nuestros resultados muestran que los extractos cerebrales de ovino con scrapie también inducen una mayor proliferación de las MSCs *in vitro*.

En conclusión, aunque aún sean necesarios más estudios, nuestros resultados exponen el potencial que presentan las MSCs para el desarrollo *in vitro* de modelos celulares de enfermedades priónicas.

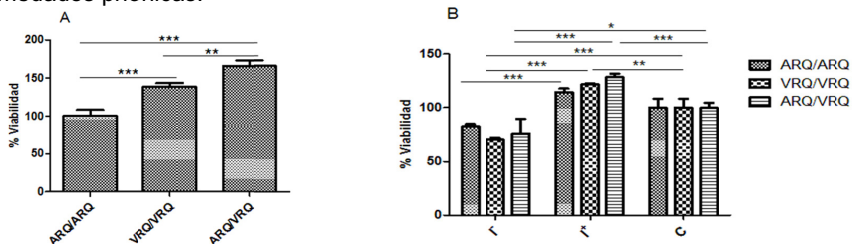


Figura 3. Proliferación de MSCs tras 9 días de cultivo en condiciones estándar de crecimiento (A). Proliferación en presencia de inóculo negativo (I^-) e inóculo positivo (I^+) en relación con su cultivo en condiciones estándar de crecimiento (C: 100% viabilidad) (B). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Zeng G et al. 2011. *Mol Cell Biochem.* 357(1-2):331-41.
- Alizadeh R et al. 2019. *J Chem Neuroanat.* 96:126-133.
- Akimov S et al. 2009. *Folia Neuropathol.* 47(2): p. 205-14.
- Mediano DR et al. 2015. *J Gen Virol.* 96(12):3715-26.
- Marbiah MM et al. 2014. *EMBO J.* 33(14):1527-47.
- Rhodes NP et al. 2004. *J Mater Sci Mater Med.* 15(4):397-402.
- Lyahyai J et al. 2012. *BMC Vet Res.* 8:169.
- Song CH et al. 2009. *J Virol.* 83(11):5918-27.
- Song CH et al. 2011. *J Virol.* 85(21):11069-78.

EVALUATION OF OVINE MESENCHYMAL STEM CELLS AS IN VITRO MODELS OF SCRAPIE

ABSTRACT: Mesenchymal stem cells (MSCs) are adult pluripotent stem cells characterized by their ability to both, self-renewal and differentiation into mesodermal tissues. In addition, these cells can transdifferentiate *in vitro* into cells with neurogenic origin and undifferentiated MSCs express the cellular prion protein (PrP^{C}). Our group described the presence of PrP^{C} on bone marrow derived ovine MSCs (oBM-MSCs) at both transcript and protein levels. In this work, we analyzed the potential of oBM-MSCs to develop *in vitro* models of scrapie. First, we isolated MSCs from bone marrow of sheep carrying different genotypes for *PRNP* gene (ARQ/ARQ, ARQ/VRQ and VRQ/VRQ) and differentiated them into neural stem cells (NSCs). The expression of genes involved in prion replication was downregulated in NSCs. We inoculated both MSCs and NSCs with scrapie inoculum (scrapie brains from sheep with similar genotypes) and detected an increment of PrP^{Sc} signal using ELISA test. However, PrP^{Sc} multiplication seemed to be genotype-dependent. Finally, prion infection induced MSC replication. Our results confirm the potential of ovine MSC to study prion diseases *in vitro*.

Keywords: mesenchymal stem cells; scrapie; ovine; prions.

ESTUDIO DE LA INFECTIVIDAD DE TEJIDOS Y FLUIDOS DE CAPRINOS RESISTENTES, INOCULADOS INTRACEREBRALMENTE CON ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA DE ORIGEN CAPRINO Y BOVINO

Sola, D¹, Raksa HC¹, Pitarch JL¹, Langeveld J², Bossers A², Marín B¹, Barillet F³, Bouvier F³, Monleón E¹, Bolea R¹, Andreoletti O⁴, Badiola JJ¹, Acín C¹

¹Centro de Investigación en Encefalopatías y Enfermedades Transmisibles Emergentes, Facultad de Veterinaria, C/ Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza, España.

²Central Veterinary Institute of Wageningen UR; Netherlands.

³INRA-UR 631 SAGA Castanet-Tolosan, France and UE 332, Bourges, France. 4INRA, UMR 1225 IHAP; ENV Toulouse, France.

INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiformes transmisibles afectan tanto a la especie humana como a los animales, y se caracterizan por un largo periodo de incubación y lesiones neurodegenerativas que conducen a la muerte del individuo. En total, se han descrito dieciséis enfermedades diferentes incluidas en el grupo de las Encefalopatías espongiformes transmisibles (EET): nueve que afectan a los seres humanos y siete a los animales, todos ellos mamíferos. En el caso de las enfermedades animales, las EET más importantes son el scrapie en ovinos y caprinos, la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) en el ganado bovino y la enfermedad crónica caquectizante (ECC) en ciervos.

La detección de los primeros casos de la EEB en el Reino Unido (Wells *et al.*, 1987) y posteriormente en el resto de la UE, así como la asociación de esta enfermedad con la vECJ (Bruce *et al.*, 1997; Hill *et al.*, 1997) ha dado lugar a que, durante los últimos años, se hayan adoptado numerosas medidas legislativas dirigidas a erradicar la EEB y evitar su transmisión a otras especies animales y al hombre. En el caso del scrapie, no hay evidencias de que suponga un riesgo para la salud humana (Detwiler y Baylis, 2003). Sin embargo, se ha demostrado que la especie caprina también puede verse afectada por la EEB de forma natural (Eloit *et al.*, 2005), y también la transmisión experimental por vía oral del agente de la EEB al ovino y caprino (Foster *et al.*, 1993) lo que pone de manifiesto nuestro principal objetivo, la importancia y la necesidad de nuevos estudios para determinar y valorar el riesgo para la salud pública que suponen los productos de origen caprino afectados de EEB.

La distribución en el sistema nervioso central (SNC) y en el sistema linforreticular (SLR) del agente de la EEB en la oveja (Foster *et al.*, 1996), junto con la dificultad de distinguir clínica o anatomopatológicamente entre el scrapie y la EEB en esta especie (EFSA, 2000), constituye un riesgo adicional de la introducción del agente causal de la EEB en la cadena alimentaria. En cuanto a la distribución periférica del agente de la EEB en el ganado caprino, no está todavía estudiada, sin embargo sí se ha conseguido encontrar infectividad en el músculo psoas mayor tras bioensayo en ratones (Aguilar-Calvo *et al.*, 2015).

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se han utilizado ratones de la línea transgénica humana Tg340, que expresan 4 veces la PrP^C humana y son metionina para el codón 129. Se han inoculado 6 animales por jaula y una jaula por inóculo.

Para los inóculos se utilizaron muestras de tejidos de cabras infectadas con EEB bovina y con EEB caprina. Además, cada cabra portaba un genotipo en el codón 222: un animal homocigoto Glutamina/Glutamina (Q222Q), un heterocigoto Glutamina/Lisina (Q222K) y un homocigoto Lisina/Lisina (K222K) inoculados con EEB caprina de segundo pase en cabra; y un animal homocigoto Glutamina/Glutamina y un Lisina/Lisina inoculados con EEB bovina. Los tejidos elegidos inicialmente fueron óbex, músculo semitendinoso y músculo tríceps braquial, para posteriormente continuar con hígado y fluidos tales como sangre entera, células blancas, suero de leche y células de la leche.

Para la elaboración de los inóculos se utilizaron muestras de los distintos tejidos almacenadas a -80°C. De cada muestra se utilizaron 0,5 mg de tejido que se

homogeneizaron en 5 ml de suero fisiológico. El homogenizado se filtró mediante una gasa estéril y se añadieron 2,5 µl de antibiótico. Los inóculos se sembraron en placas de Petri agar sangre y se incubaron a 37 °C durante 48 horas, para comprobar su esterilidad.

Los animales se anestesiaron con isoflurano y se inocularon intracerebralmente con 20 µl de homogenizado y después se administró a cada ratón una dosis de analgésico (0,3 mg por kg de buprenorfina diluida en suero fisiológico). Si los signos clínicos no son evidentes, los ratones son sacrificados en torno a los 800 días post-inoculación.

Para valorar la infectividad de los tejidos inoculados en ratones se procedió a la realización de técnicas inmunohistoquímicas y de glicosilación.

Este estudio se realizó de acuerdo con la política de Protección Animal española comprendida en el Real Decreto 53/2013, que cumple con la directiva europea 2010/63/UE sobre la protección de los animales utilizados para fines científicos y experimentales. El protocolo experimental se ha aprobado por la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza, permiso PI16/16.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron la presencia de síntomas como delgadez, ataxia o lordosis en los ratones inoculados con encéfalo de cabra en torno a los 750 días post-inoculación. Padilla *et al.*, (2011) al inocular líneas de ratones humanas, entre ellas la línea tg340, con diferentes cepas de EEB (bovina, ovina, caprina), observaron clínica en los ratones inoculados con encéfalo de cabra afectada de EEB en torno a los 700 días post-inoculación. Hay que tener en cuenta que nuestros ratones fueron inoculados con muestras de músculo que contenían bajas cantidades del prión e incluso muestras que se consideraron negativas mediante las técnicas convencionales de diagnóstico. La detección de PrP^{Sc} en las muestras recogidas de los ratones inoculados supondría un resultado de gran impacto a nivel internacional ya que implicaría un control más exhaustivo en la cadena alimentaria de los productos de origen caprino como la leche, la carne y sus subproductos. Mediante la técnica de inmunohistoquímica se observó la presencia de acúmulos de PrP^{Sc} con diferentes patrones y mediante la técnica de Western Blot se valoraron el perfil de glicosilación de las muestras obtenidas observándose patrones de glicosilación compatibles con la EEB.

España tiene la segunda población de caprino más importante de la Unión Europea, y es la tercera más grande en producción de leche, de ahí que sea de gran interés el control y erradicación de enfermedades como las EETs cuya repercusión económica (sacrificios selectivos o completos, indemnizaciones) resulta considerable en los presupuestos destinados a la sanidad animal. Los planes de vigilancia y erradicación del scrapie ovino se basan en la estrategia de sacrificio selectivo o completo de los rebaños afectados y la selección genética de los animales resistentes; sin embargo, en la especie caprina no existe este sistema de selección genética que sería fundamental en la aplicación de planes de prevención y erradicación. Con los resultados obtenidos se pretende contribuir a la generación de conocimiento, promoviendo su difusión y explotación por el conjunto de la sociedad. El impacto científico potencial que se pretende se basa en:

- a) Impacto estratégico: definición del riesgo de la exposición del hombre a productos caprinos contaminados con EEB (leche y carne y sus subproductos).
- b) Multidisciplinaridad. Mediante estudios de bioensayo, genética, biología molecular, bioquímica y patología.
- c) Impacto social y económico. En función de los resultados obtenidos la consecuencia inmediata a nivel nacional e internacional es una redefinición de los materiales específicos de riesgo en los mataderos de pequeños rumiantes. Los resultados obtenidos serían perfectamente transferibles a la empresa, que podría, generar kits de diagnóstico rápido para detectar la enfermedad en los nuevos materiales específicos de riesgo, y también kits rápidos de genotipado para detectar a los animales resistentes serían utilizados como futuros reproductores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Calvo, P., Fast, C., Tauscher, K., Espinosa, J. C., Groschup, M. H., Nadeem, M., Goldmann, w., Langeveld, J., Bossers, A., Androletti, O., & Torres, J. M. (2015). Effect of

Q211 and K222 PRNP polymorphic variants in the susceptibility of goats to oral infection with goat bovine spongiform encephalopathy. *J. Infect. Dis.*, 212(4), 664-672.

- Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, McCardle L, Chree A, Hope J, Birkett C, Cousens S, Fraser H, Bostock CJ. Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent, *Nat.* (1997) 389(6650):498-501.
- Detwiler LA, Baylis M. The epidemiology of scrapie, *Rev Sci Tech.* (2003) 22(1):121-43.
- EFSA, Opinion of the SSC oral exposure of humans to the BSE agent: infective dose and species barrier. Adopted by the scientific steering committee at its meeting of 13-14 April 2000.
- Eloit M, Adjou K, Couplier M, Fontaine JJ, Hamel R, Lilin T, Messiaen S, Andreoletti O, Baron T, Bencsik A, Biacabe AG, Beringue V, Laude H, Le Dur A, Vilotte JL, Comoy E, Deslys JP, Grassi J, Simon S, Lantier F, Sarradin P. BSE agent signatures in a goat, *Vet. Rec.* (2005) 156:523-524.
- Foster JD, Hope J, Fraser H. Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats, *Vet Rec.* (1993) 133(14): 339-341.
- Foster JD, Wilson M, Hunter N. Immunolocalisation of the prion protein (PrP) in the brains of sheep with scrapie, *Vet Rec.* (1996) 139(21):512-515.
- Hill AF, Desbruslais M, Joiner S, Sidle KC, Gowland I, Collinge J, Doey LJ, Lantos P. The same prion strain causes vCJD and BSE, *Nat.* (1997) 389(6650):448-450.
- Padilla, D., Béringue, V., Espinosa, J. C., Andreoletti, O., Jaumain, E., Reine, F., Herzog, L., Gutiérrez, A., Pintado, B., Laude, H., & Torres, J. M. (2011). Sheep and goat BSE propagate more efficiently than cattle BSE in human PrP transgenic mice. *PLoS pathogens*, 7(3), e1001319.
- Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock RD, Jeffrey M, Dawson M, Bradley R. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle, *Vet. Rec.* (1987) 121: 419–420.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos goatBSE (FOOD-CT-2006-36353); AGL2012-40071 y Central Veterinary Institute of Wageningen UR (CVI). Los autores quieren agradecer la asistencia prestada por el personal técnico, investigadores y estudiantes de doctorado del Centro de Investigación en Encefalopatías y Enfermedades Transmisibles Emergentes.

STUDY OF THE INFECTION OF TISSUES AND FLUIDS OF RESISTANT GOATS, INTRACEREBRAL INOCULATION WITH SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY BOVINE OF CAPRINE AND BOVINE ORIGIN

ABSTRACT: Transmissible spongiform encephalopathies (TSE) are characterized by a long incubation period and neurodegenerative lesions that lead to the death of the individual. TSEs became more important after the association of BSE, in 1996, with the appearance of a variant of Creutzfeldt - Jakob disease (vCJD) in humans. This supposed a great crisis in Europe and, since that moment, the investigation in this area has been improving and trying to clarify the possible origin of the disease. Although, it has been shown that the goat species could also be affected by BSE in a natural way, which shows the importance of new studies to determine the risk to public health posed by products of goat infected with BSE. In this study the technique of bioassay in human transgenic mouse has been performed to assess the risk that supposed to food safety tissues of goat origin infected with BSE.

Keywords: Prion, BSE, goat, mice.



**CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA**

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2018-19-20

	CURSOS	FECHA	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	* MÁSTER EN MEJORA GENÉTICA VEGETAL	24 Sep. 18 – 12 Jun.19	Zaragoza	IAMZ/UdL
	LAS ENFERMEDADES DE LOS VEGETALES CAUSADAS POR <i>Xylella fastidiosa</i> : DETECCIÓN, IDENTIFICACIÓN, SEGUIMIENTO Y CONTROL	12-16 Nov. 18	Zaragoza	IAMZ/MAPA/ Proyectos UE XF-ACTORS, PoNTE y MSCA-RISE CURE-XF
	TÉCNICAS Y APLICACIONES DE BIG DATA EN EL SISTEMA AGROALIMENTARIO	17-21 Jun. 19	Zaragoza	IAMZ/ICARDA
	*MÁSTER EN OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	23 Sep. 19 – 29 Mayo 20	Córdoba	UCO/JA/CSIC/ IAMZ/COI
	HERRAMIENTAS ESTADÍSTICAS PARA EL ANÁLISIS DE DATOS GENÓMICOS Y FENÓMICOS	20-24 Ene. 20	Zaragoza	IAMZ/ANOVE?
	UTILIZACIÓN DE SENSORES EN AGRICULTURA DE PRECISIÓN	3-7 Feb. 20	Zaragoza	IAMZ/ICARDA
	INNOVACIÓN TECNOLÓGICA PARA LA PRODUCCIÓN INTENSIVA EN INVERNADEROS	9-13 Mar. 20	Almería	IAMZ/Fundación CAJAMAR/ ICARDA?
	EVALUACIÓN Y MITIGACIÓN DE LAS EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO EN AGRICULTURA: CONCEPTOS, MÉTODOS Y HERRAMIENTAS DE SIMULACIÓN	30 Mar. – 3 Abr. 20	Zaragoza	IAMZ/GRA/Red REMEDIA/ Iniciativa 4 por 1000/FAO
	REUTILIZACIÓN DE AGUA EN AGRICULTURA	11-15 Mayo 20	Zaragoza	IAMZ/IAMB/ICARDA /Diálogo 5+5 Agua/ FAO?/MAPA?/AÉCID?

(* **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: 18-19; 20-21; 22-23
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 19-20; 21-22, 23-24
- NUTRICIÓN ANIMAL: 19-20; 21-22; 23-24
- MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN: 18-19; 20-21; 22-23
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 19-20; 21-22; 23-24
- ACUICULTURA: 18-19; 20-21; 22-23
- GESTIÓN PESQUERA SOSTENIBLE: 19-20; 21-22; 23-24

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 2019. El plazo de inscripción para los Másteres en Nutrición animal, Marketing agroalimentario y Gestión pesquera sostenible finaliza el 4 de mayo de 2019. El plazo de inscripción para los Másteres en Mejora genética vegetal, Mejora genética animal y biotecnología de la reproducción y Acuicultura finaliza el 4 de mayo de 2020.

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.

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
PRODUCCIÓN ANIMAL	*MÁSTER EN MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN	1 Oct. 18 – 28 Jun. 19	Valencia/Barcelona	UPV/UAB/ IAMZ/IVIA/INIA
	GESTIÓN DE ENFERMEDADES EN LA INTERFAZ FAUNA-GANADERÍA	26-30 Nov. 18	Zaragoza	IAMZ/MAPA
	GANADERÍA Y CAMBIO CLIMÁTICO: EVALUACIÓN DE EMISIONES, OPCIONES DE MITIGACIÓN Y ESTRATEGIAS DE ADAPTACIÓN	11-15 Feb. 19	Zaragoza	IAMZ/FAO/GRA/ ICARDA/Red REMEDIA/ Iniciativa 4 por 1000
	RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS Y “UNA SALUD”: IMPLICACIONES PARA LOS SISTEMAS AGRARIOS, LA SEGURIDAD ALIMENTARIA Y EL MEDIO AMBIENTE	18-22 Mar. 19	Zaragoza	IAMZ/OIE/FAO
	GANADERÍA DE PRECISIÓN	1-5 Abr. 19	Zaragoza	IAMZ
	TÉCNICAS Y APLICACIONES DE BIG DATA EN EL SISTEMA AGROALIMENTARIO	17-21 Jun. 19	Zaragoza	IAMZ/ICARDA
	*MÁSTER EN NUTRICIÓN ANIMAL	30 Sep. 19 – 5 Jun. 20	Zaragoza	IAMZ/UZ/FEDNA/UPM
MEDIO AMBIENTE	GANADERÍA Y CAMBIO CLIMÁTICO: EVALUACIÓN DE EMISIONES, OPCIONES DE MITIGACIÓN Y ESTRATEGIAS DE ADAPTACIÓN	11-15 Feb. 19	Zaragoza	IAMZ/FAO/GRA/ ICARDA/Red REMEDIA/ Iniciativa 4 por 1000
	INNOVACIÓN SOCIAL EN ZONAS RURALES	18-22 Nov. 19	Zaragoza	IAMZ/Proyecto UE SIMRA
	EVALUACIÓN Y MITIGACIÓN DE LAS EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO EN AGRICULTURA: CONCEPTOS, MÉTODOS Y HERRAMIENTAS DE SIMULACIÓN	30 Mar. – 3 Abr. 20	Zaragoza	IAMZ/GRA/Red REMEDIA/ Iniciativa 4 por 1000/FAO?
	REUTILIZACIÓN DE AGUA EN AGRICULTURA	11-15 Mayo 20	Zaragoza	IAMZ/IAMB/ICARDA/ Diálogo 5+5 Agua/ FAO?/MAPA?/AECID?
CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MARKETING DE ALIMENTOS	REDUCCIÓN Y GESTIÓN DE LA PÉRDIDA Y DESPERDICIO DE ALIMENTOS	21-25 Ene. 19	Zaragoza	IAMZ/Proyecto UE REFRESH/ICARDA
	RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS Y “UNA SALUD”: IMPLICACIONES PARA LOS SISTEMAS AGRARIOS, LA SEGURIDAD ALIMENTARIA Y EL MEDIO AMBIENTE	18-22 Mar. 19	Zaragoza	IAMZ/OIE/FAO
	ANÁLISIS DE LA CADENA DE VALOR DE PRODUCTOS DEL MAR	13-17 Mayo 19	Zaragoza	IAMZ/FAO
	TÉCNICAS Y APLICACIONES DE BIG DATA EN EL SISTEMA AGROALIMENTARIO	17-21 Jun. 19	Zaragoza	IAMZ/ICARDA
	*MÁSTER EN MARKETING AGROALIMENTARIO	30 Sep. 19 – 5 Jun. 20	Zaragoza	IAMZ
PESCA Y ACUICULTURA	*MÁSTER EN ACUICULTURA	3 Oct. 18 – 14 Jun. 19	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/IAMZ
	APLICACIÓN DE LA EPIDEMIOLOGÍA EN LA SANIDAD DE ANIMALES ACUÁTICOS	25 Feb./1 Mar. 19	Zaragoza	IAMZ/Proyecto MedAID
	ANÁLISIS DE LA CADENA DE VALOR DE PRODUCTOS DEL MAR	13-17 Mayo 19	Zaragoza	IAMZ/FAO
	DIAGNÓSTICO Y PREVENCIÓN PARA EL CONTROL DE PARÁSITOS EN ACUICULTURA	21-25 Oct. 19	Zaragoza	IAMZ/Proyecto UE ParaFishControl
	*MÁSTER EN GESTIÓN PESQUERA SOSTENIBLE	7 Oct. 19 – 12 Jun. 20	Alicante	UA/IAMZ/MAPA/ FAO-CGPM
	EVALUACIÓN DE LA SOSTENIBILIDAD Y ACEPTACIÓN SOCIAL DE LA PRODUCCIÓN ACUÍCOLA	24-28 Feb. 20	Zaragoza	IAMZ/Proyecto UE MedAID
	HERRAMIENTAS INTELIGENTES DE TRAZABILIDAD Y ETIQUETADO PARA UNA PRODUCCIÓN SOSTENIBLE DE PRODUCTOS DEL MAR	8-12 Jun. 20	Zaragoza	IAMZ/Proyecto UE SEA-TRACES/FAO

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



AIDA

Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

www.aida-itea.org

COLABORADORES



Instituto Universitario de Investigación Agroalimentaria de Zaragoza



Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón



CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



Universidad Zaragoza

